

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD-LYON I
U.F.R. D'ODONTOLOGIE

Année 2015

THESE N° 2015 LYO 1D 020

T H E S E
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le 7 juillet 2015

par

LELONG Yannick

Né le 15 décembre 1988, à Saint-Martin-D'hères (38)

Revascularisation endodontique : le point en 2015.

JURY

Madame le Professeur SEUX Dominique

Monsieur le Docteur COMTE Bruno

Madame le Docteur RICHARD Béatrice

Monsieur le Docteur MESSAOUDI Yassine

Président

Assesseur

Assesseur

Assesseur

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD-LYON I
U.F.R. D'ODONTOLOGIE

Année 2015

THESE N° 2015 LYO 1D 020

T H E S E
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le 7 juillet 2015

par

LELONG Yannick

Né le 15 décembre 1988, à Saint-Martin-D'hères (38)

Revascularisation endodontique : le point en 2015.

JURY

Madame le Professeur SEUX Dominique

Monsieur le Docteur COMTE Bruno

Madame le Docteur RICHARD Béatrice

Monsieur le Docteur MESSAOUDI Yassine

Président

Assesseur

Assesseur

Assesseur

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Président de l'Université	M. le Professeur F-N. GILLY
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. le Professeur H. BEN HADID
Vice-Président du Conseil Scientifique et de la Commission de Recherche	M. le Professeur P-G. GILLET
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire et de la Commission de la Formation et de la Vie Universitaire	M. le Professeur P. LALLE
Directeur Général des Services	M. A. HELLEU

SECTEUR SANTE

Comité de Coordination des Etudes Médicales	Président : M. le Professeur F-N. GILLY
Faculté de Médecine Lyon Est	Directeur : M. le Professeur. J. ETIENNE
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon-Sud Charles Mérieux	Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON
Faculté d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directrice : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation	Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme la Professeure A.M. SCHOTT

SECTEUR SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Faculté des Sciences et Technologies Conférences	Directeur : M. F. DE MARCHI, Maître de
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives	Directeur : M. Y. VANPOULLE, Professeur Agrégé
Institut Universitaire de Technologie Lyon 1	Directeur : M. le Professeur C. VITON
Ecole Polytechnique Universitaire de l'Université Lyon 1	Directeur : M. P. FOURNIER
Institut de Science Financière et d'Assurances Conférences	Directeur : M. N. LEBOISNE, Maître de
Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education (ESPE)	Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE
Observatoire de Lyon Recherche CNRS	Directeur : M. B. GUIDERDONI, Directeur de
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique	Directeur : M. G. PIGNAULT

FACULTE D'ODONTOLOGIE DE LYON

Doyen : M. Denis BOURGEOIS, Professeur des Universités
Vice-Doyen : Mme Dominique SEUX, Professeure des Universités
Vice-Doyen : M. Stéphane VIENNOT, Maître de Conférences
Vice-Doyen Etudiant : Mlle DARNE Juliette

SOUS-SECTION 56-01:

Professeur des Universités :
Maître de Conférences :

PEDODONTIE

M. Jean-Jacques MORRIER
M. Jean-Pierre DUPREZ

SOUS-SECTION 56-02 :

Maîtres de Conférences :

ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE

Mme Sarah GEBEILE-CHAUTY,
Mme Claire PERNIER,

SOUS-SECTION 56-03 :

Professeur des Universités
Professeur des Universités Associé :
Maître de Conférences

PREVENTION - EPIDEMIOLOGIE ECONOMIE DE LA SANTE - ODONTOLOGIE LEGALE

M. Denis BOURGEOIS
M. Juan Carlos LLODRA CALVO
M. Bruno COMTE

SOUS-SECTION 57-01 :

Maîtres de Conférences :
Maître de conférences associé

PARODONTOLOGIE

Mme Kerstin GRITSCH, M. Philippe RODIER,
NIHTILA Annamari

SOUS-SECTION 57-02 :

Maître de Conférences :

CHIRURGIE BUCCALE - PATHOLOGIE ET THERAPEUTIQUE ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION

Mme Anne-Gaëlle CHAUX-BODARD, M. Thomas FORTIN,
M. Jean-Pierre FUSARI

SOUS-SECTION 57-03 :

Professeur des Universités :
Maîtres de Conférences :

SCIENCES BIOLOGIQUES

M. J. Christophe FARGES
Mme Odile BARSOTTI, Mme Béatrice RICHARD,
Mme Béatrice THIVICHON-PRINCE, M. François VIRARD

SOUS-SECTION 58-01 :

Professeur des Universités :
Maîtres de Conférences :

ODONTOLOGIE CONSERVATRICE - ENDODONTIE

M. Pierre FARGE, M. Jean-Christophe MAURIN, Mme Dominique SEUX
Mme Marion LUCCHINI, M. Thierry SELLI, M. Cyril VILLAT

SOUS-SECTION 58-02 :

Professeurs des Universités :
Maîtres de Conférences :

PROTHESE

M. Guillaume MALQUARTI, Mme Catherine MILLET
M. Christophe JEANNIN, M. Renaud NOHARET, M. Gilbert VIGUIE,
M. Stéphane VIENNOT, M. Bernard VINCENT

SOUS-SECTION 58-03 :

Professeur des Universités :
Maîtres de Conférences :
Maître de Conférences Associé :

SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES OCCLUSODONTIQUES, BIOMATERIAUX, BIOPHYSIQUE, RADIOLOGIE

Mme Brigitte GROSGOGEAT, M. Olivier ROBIN
M. Patrick EXBRAYAT, Mme Sophie VEYRE-GOULET
AYARI Hanène

SECTION 87 :

SCIENCES BIOLOGIQUES FONDAMENTALES ET CLINIQUES

Mme Florence CARROUEL

A notre présidente de jury,

Madame le professeur SEUX Dominique

Professeure des Universités à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Lyon I

Habilitée à Diriger des Recherches

Responsable de la sous-section Odontologie Conservatrice - Endodontie

Vice-Doyen à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Votre présidence de notre jury de thèse nous honore,

Nous vous remercions pour votre précieux soutien au cours des années passées au centre de soins. Nous garderons en mémoire votre disponibilité et votre engagement auprès des étudiants.

Veuillez recevoir à travers ce travail l'expression de notre sincère gratitude et de notre profond respect.

A notre juge

Monsieur le docteur COMTE Bruno

Maître de Conférences à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Lyon I

Responsable de la sous-section Prévention

Nous sommes très heureux de vous compter parmi les membres de ce jury.

Nous avons eu l'immense plaisir de travailler à vos côtés tout au long de notre cursus. Nous vous remercions pour la qualité de votre enseignement alliant rigueur et sympathie.

Veillez trouver ici le témoignage de notre grande admiration et profonde estime.

A notre directrice de thèse

Madame le docteur RICHARD Béatrice

Maître de Conférences à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Bordeaux 2

Nous vous sommes très reconnaissants d'avoir accepté de diriger cette thèse.

*Nous avons apprécié la confiance que vous nous avez accordée tout au long de ce travail.
Votre calme et performance ont été d'un précieux soutien.*

*Nous vous remercions également pour l'enseignement que vous nous avez apporté lors des
vacations cliniques.*

*Veillez recevoir par cette thèse l'expression de notre respect et de notre profonde
admiration.*

A notre juge

Monsieur le Docteur MESSAOUDI Yassine

Assistant hospitalo-universitaire au CSERD de Lyon

Ancien Interne en Odontologie

Docteur en Chirurgie Dentaire

Spécialiste qualifié en ODF

Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans notre jury.

Cette thèse témoigne de notre reconnaissance et de notre considération.

A toute ma famille, merci pour votre soutien durant toutes mes années d'études. C'est grâce à vous que je suis ici aujourd'hui.

A mes parents, merci pour votre patience, pour votre soutien, pour tout l'amour que vous m'avez donné, pour toutes ces valeurs que vous m'avez transmis et qui font de moi ce que je suis.

A mon grand frère Cédric, merci d'avoir toujours été là pour me soutenir et pour tous ces moments partagés ensemble. Et encore un grand merci d'avoir traversé le monde pour me retrouver en Nouvelle-Calédonie le jour de mes 25 ans.

A mes Grands-parents, merci pour votre amour, votre soutien depuis toujours. Merci pour tout ce temps que vous nous avez consacré et toutes ces valeurs transmises.

A Ségolène, merci d'être à mes côtés au quotidien pour me soutenir et merci pour tous ces moments passés et à venir, j'espère qu'ils seront nombreux...

A la famille de Ségolène, merci de m'avoir accueilli dans votre famille et merci pour tous ces moments passés ensemble.

A mes amis d'enfance Doud, Denis, Remi, Jerem, Sandy... merci pour tous ces bons moments qu'on passe ensemble quand on se voit que ce soit au ski ou ailleurs !

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	3
1 La pulpe dentaire	5
1.1 Composition de la pulpe dentaire.....	5
1.1.1 Les cellules pulpaires.....	5
1.1.2 Les tissus vasculaires.....	6
1.1.3 Innervation.....	7
1.1.4 Matrice extracellulaire	7
1.2 Les rôles de la pulpe	8
2 L'ingénierie tissulaire dentaire	9
2.1 les cellules souches	9
2.1.1 Différents types de cellules souches.....	9
2.1.1.1 Les cellules souches pulpaires (DPSC)	10
2.1.1.2 Les cellules souches pulpaires des dents déciduales (SHED)	10
2.1.1.3 Les cellules souches de la papille apicale (SCAP).....	11
2.1.1.4 Les cellules souches du ligament parodontal (DPLSC)	11
2.1.2 Immuno-localisation des cellules souches	11
2.2 Les matrices supports.....	12
2.3 Signaux cellulaires et facteurs de croissance.....	13
3 Revascularisation endodontique.....	16
3.1 Indications de la revascularisation	17
3.2 Principe et mécanisme de revascularisation	17
3.2.1 Principe.....	17
3.2.2 Mécanisme	18
3.3 Protocoles de revascularisation	19
3.3.1 Assainissement canalaire	19
3.3.2 Induction du saignement apical.....	22
3.3.3 Les contrôles.....	23
3.4 Etude de la technique de revascularisation	23
3.4.1 Suite aux traitements de revascularisation, quels tissus retrouvons-nous ?	24
3.4.2 Pourquoi retrouve-t-on des structures parodontales dans l'espace canalaire ?	25
3.5 Amélioration de la revascularisation.....	26
3.5.1 Amélioration par ajout de PRP (Plateled Rich Plasma)	26
3.5.1.1 Protocole	26
3.5.1.2 Rôle du PRP	26

3.5.2	Amélioration de la revascularisation par ajout de PRF (Platelet Rich Fibrin).....	27
4	Régénération de la pulpe dentaire ad-integrum par ingénierie tissulaire	29
4.1	Concept	29
4.2	Les différentes techniques envisagées	30
4.3	Tissus formés	31
	CONCLUSION	34
	BIBLIOGRAPHIE	35

INTRODUCTION

Le maintien de la fonction pulpaire est indispensable pour l'homéostasie dentaire; la perte de la pulpe peut être suivie à moyen ou à long terme de la perte de la dent. A fortiori, la perte de la vitalité pulpaire d'une dent permanente immature va entraîner l'arrêt du développement de celle-ci :

- Les parois canalaire sont alors fines
- L'apex est ouvert

Le traitement endodontique sur dent immature pose deux problèmes, il est difficile d'obtenir une obturation étanche du fait de l'ouverture de l'apex, et il existe un risque de fracture du fait de la faible épaisseur des parois canalaire.

Les traitements actuels des dents immatures à pulpe nécrosée sont soit la chirurgie apicale avec étanchéité rétrograde au CVI, soit la formation d'une barrière apicale avec de l'hydroxyde de calcium ou du MTA ; les deux étant suivis d'une obturation canalaire classique. Le parenchyme pulpaire est alors éliminé avec les agents infectieux et leurs toxines, le canal est désinfecté grâce à des agents chimiques et une mise en forme mécanique puis obturé de façon étanche par un matériau biocompatible, la gutta-percha.

Depuis les années 2000, les connaissances sur les cellules souches se développent et leurs applications dans la régénération tissulaire ont fortement évolué, et le domaine odontologique n'y échappe pas. Ainsi, de nouvelles perspectives de traitement pour les dents immatures nécrosées ont vu le jour grâce au concept de « revascularisation endodontique ». Le but de ce traitement est de reformer une pulpe dans un espace canalaire désinfecté pour permettre aux dents immatures à la fois de terminer leur croissance radiculaire et de retrouver l'ensemble des fonctions pulpaires.

À l'heure actuelle, il existe deux types d'approches pour la revascularisation :

- la première est en cours d'introduction dans la pratique clinique et consiste à induire la migration des cellules souches locales dans le canal dentaire via un saignement péri apical et la formation d'un caillot intra-canal ; dans cette technique, l'auto guérison est mise en avant.
- la deuxième est encore du domaine de la recherche et consiste à introduire dans le canal, préalablement désinfecté une matrice supportensemencée de cellules souches préalablement mises en culture en laboratoire, et de facteurs de croissance guidant la différenciation

cellulaire. De nombreuses techniques et protocoles sont à l'essai à l'heure actuelle ; ces recherches permettraient de recréer une véritable pulpe dentaire.

1. LA PULPE DENTAIRE

La pulpe dentaire a la particularité d'être presque totalement entourée par la dentine, et donc confinée dans un espace quasiment clos. A l'extrémité de la racine subsiste un orifice, le foramen apical, par lequel arrivent les éléments qui assurent la vascularisation et l'innervation de ce tissu.

1.1 Composition de la pulpe dentaire

La pulpe dentaire est composée à la fois par des éléments cellulaires mais aussi nerveux, vasculaires et matriciels.

1.1.1 Les cellules pulpaires (1) (2) (3) (4) (5)

- Les odontoblastes : ce sont des cellules hautement différenciées, situées en périphérie de la pulpe contre la dentine et organisées en palissade. Ce sont des cellules allongées avec un prolongement cytoplasmique intra-tubulaire (fibre de Tomes), un noyau basal et certaines organelles. Ces cellules sont reliées entre elles, formant ainsi une barrière de protection. Les odontoblastes ont une activité sécrétrice importante : elles sécrètent les précurseurs de la trame organique de la dentine; cette activité est importante au cours de la dentinogénèse primaire puis diminue au cours du temps, les cellules revenant alors à un état quiescent avec un nombre réduit d'organites intracellulaires. Les odontoblastes participent aussi à la proprioception et à la nociception.

- Les cellules de Höhl : Issues de la dernière mitose des pré-odontoblastes, ces cellules sont considérées comme un réservoir potentiel de cellules capables d'engager un processus cicatriciel.

- Les fibroblastes : ces cellules du parenchyme pulpaire sont responsables de la synthèse et du renouvellement de la matrice extra-cellulaire. Les fibroblastes peuvent aussi synthétiser des cytokines en réponse à divers stimuli ; par exemple, après une agression, ils sont impliqués dans la cicatrisation des lésions pulpaires avec la sécrétion de facteurs pro-angiogéniques. Avec la sénescence pulpaire, les fibroblastes sont progressivement transformés en des fibrocytes ayant une activité métabolique réduite.

- Les cellules immunitaires: la présence de ces cellules varie en fonction des agressions et donc de l'inflammation pulpaire. Dans une pulpe saine non enflammée, on ne retrouve que des cellules dendritiques, des mastocytes, des macrophages et des lymphocytes T. Les cellules phagocytaires permettent une réponse rapide en cas d'agression bactérienne. Les cellules dendritiques vont, quant à elles, capturer l'antigène, migrer en direction des ganglions lymphatiques afin de le présenter aux LT pour les activer. Ces cellules interagissent également avec les fibres nerveuses et les vaisseaux pulpaire permettant d'induire une réaction neuro-immunologique en cas d'agression (première réaction inflammatoire de la pulpe).

- Les cellules souches: ce sont des cellules indifférenciées capable de s'autorenouveler, et de donner naissance à de nombreuses lignées cellulaires. Elles ont pour rôle le renouvellement naturel des cellules pulpaire ou leur réparation en cas de lésion.

1.1.2 Les tissus vasculaires (1) (5) (6)

La pulpe dentaire est un tissu richement vascularisé, environ 15% du volume pulpaire. Les capillaires, provenant de la vascularisation alvéolaire inférieure et supérieure, pénètrent dans la pulpe par le(s) foramen(s) apicaux puis remontent au niveau de la zone centrale du canal radiculaire en direction de la chambre pulpaire où ils se ramifient progressivement pour former un fin réseau sous-odontoblastique permettant l'apport de nutriment nécessaire aux odontoblastes. D'autres vaisseaux peuvent aussi rejoindre la pulpe par l'intermédiaire des canaux accessoires et secondaires. Il existe de nombreuses anastomoses entre les capillaires et les veinules permettant en cas d'agression et donc d'inflammation d'isoler la zone altérée. On observe des sphincters dans les capillaires qui permettent de contrôler l'irrigation par territoire.

Le retour veineux est assuré par les veinules qui suivent le chemin inverse des capillaires.

Le réseau lymphatique pulpaire, calqué sur le réseau vasculaire, est chargé de préserver l'équilibre des fluides pulpaire, de réguler l'inflammation et possède aussi une action anti-infectieuse. Il est drainé vers les ganglions sous-mentonnier et sous-maxillaire.

1.1.3 Innervation (1) (5) (6)

La pulpe dentaire est le tissu le plus innervé du corps humain (on compte environ 2000 à 2500 axones au niveau de l'apex pour une prémolaire adulte). Le système nerveux comporte une voie efférente autonome et une voie afférente sensitive.

Le système autonome provient du ganglion cervical supérieur, il contrôle la vascularisation pulpaire en jouant sur la vasomotricité des cellules musculaires lisses des artérioles permettent de faire varier le débit sanguin. On distingue le système para-sympathique et sympathique.

Le système nerveux sensitif est majoritaire, il est issu du nerf trijumeau dont les corps cellulaires sont au niveau du ganglion de Gasser. Ce sont majoritairement des fibres nerveuses amyéliniques de type C chimio et thermosensible qui permettent de détecter toute modification de l'environnement. Ces fibres sont donc responsables de la sensibilité dentino-pulpaire.

L'ensemble de ces fibres nerveuses pénètre dans le canal dentaire et en sort par l'orifice apical et suit le réseau vasculaire.

1.1.4 Matrice extracellulaire (2) (5)

La matrice extracellulaire pulpaire est synthétisée par les fibroblastes ; sa composition varie avec le temps car elle a tendance à se fibroser avec l'âge. Elle est constituée de :

- fibres de collagènes de type I et type III majoritairement, représentant 34% des protéines
- d'éléments non collagéniques (66%) avec en majorité des glycosaminoglycanes (50%) qui ont pour rôle la rétention d'eau dans la pulpe. Parmi ces glycosaminoglycanes on retrouve des chondroitines sulfate, des dermatanes sulfate, keratanes sulfate, heparanes sulfate et de l'acide hyaluronique.

Des glycoprotéines sont aussi présentes, fibronectine principalement, jouant un rôle dans la liaison des fibroblastes au réseau collagénique et dans le maintien de la morphologie des odontoblastes, dans leur différenciation terminale et dans les interactions cellulaires.

De l'élastine est présente au niveau de la paroi des vaisseaux, assurant ainsi leur élasticité.

- métallo-protéases responsables de la dégradation des protéines matricielles, qui participent au remodelage de la pulpe et aux phénomènes inflammatoires et cicatriciels.

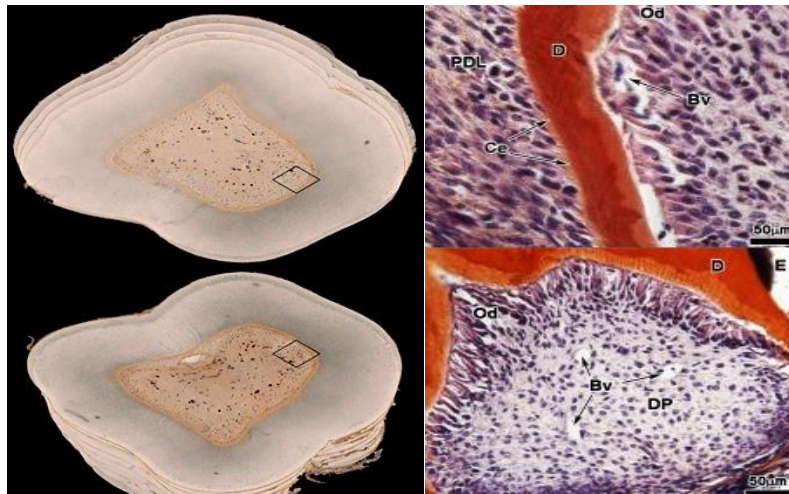


Figure 1 : coupe transversale de dent humaine (6)

Od : Odontoblaste ; PDL : ligament parodontal ; D : dentine ; DP : pulpe dentaire

1.2 Les rôles de la pulpe dentaire (3) (4) (5)

Les cellules présentes au niveau de la pulpe dentaire lui permettent de répondre à ses différentes fonctions :

- sensibles via les nocicepteurs alertant une agression
- nutritives via les capillaires sanguins
- et réparatrices par apposition de nouvelle dentine en cas d'agression bactérienne.

Ces fonctions de la pulpe dentaire permettent d'avoir une réponse adaptée face aux agressions que subit la dent tout au long de sa vie.

2 L'INGENIERIE TISSULAIRE DENTAIRE (7) (8) (9) (10) (11)

Les premiers essais de régénération tissulaire dans le domaine dentaire ont débuté vers 1960, mais ce n'est réellement qu'à partir de 2001, suite à la publication du premier cas clinique de régénération, que la communauté scientifique a fait évoluer ce domaine. Bien que toujours limitées, l'ingénierie tissulaire et la régénération commencent à trouver des applications cliniques ; les recherches s'orientent aujourd'hui vers la conception de matrices conductrices ainsi que sur la compréhension des signaux cellulaires permettant d'induire et de guider la régénération.

L'ingénierie tissulaire dentaire comprend ainsi trois principaux domaines de recherche, à savoir : les cellules souches, les matrices de support et les facteurs de croissance.

2.1 Les cellules souches

2.1.1 Différents types de cellules souches (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20)

Les cellules souches dentaires sont des cellules multipotentes ayant la capacité de donner naissance à au moins trois lignées cellulaires distinctes : ostéo/odontogènes, adipogènes et neurogènes. En fonction des besoins, elles pourraient donc se différencier soit en odontoblastes, soit en fibroblastes.

Bien que des cellules souches aient été identifiées dans la plupart des tissus buccaux, les cellules souches principalement impliquées dans les travaux de régénération comprennent : les cellules souches pulpaires (DPSC), les cellules souches de dents temporaires exfoliées (SHED), les cellules souches de la papille apicale (SCAP) et les cellules souches du ligament parodontal (PDLSC).

2.1.1.1 Les cellules souches pulpaire (DPSCs)

Les cellules souches pulpaire ont été mises en évidence par Gronthos en 2000 à partir de la pulpe camérale et canalaire d'une 3^{ème} molaire. Elles ont été isolées et nommées DPSCs (Dental Pulp Stem Cells).

Les cellules souches pulpaire ont un phénotype proche des cellules souches issues de la moelle osseuse, ce sont de grandes cellules, avec un grand noyau central et un cytoplasme volumineux. De plus, les DPSCs ont un taux de prolifération 30% supérieur aux cellules souches de moelle osseuse et un meilleur potentiel de croissance.

Les DPSCs peuvent être reprogrammées dans de multiples lignées cellulaires telles que : odontoblastes, ostéoblastes, chondrocytes, myocytes, neurocytes, adipocytes, cellules de la cornée.

Les DPSCs expriment certains marqueurs qui permettent de les identifier et de les localiser comme CD44, CD146, 3G5 et integrine $\beta 1$.

2.1.1.2 Les cellules souches des dents déciduales (SHED)

Un deuxième type de cellules souches, nommées SHED (Stem-cell from Human Exfoliated Deciduous teeth), peut être isolé à partir de dents déciduales. Ces dents pourraient représenter une excellente source de prélèvement afin de réaliser une banque de cellules souches.

Les SHED comme les DPSCs expriment la sialophosphoprotéine dentinaire (DSPP).

Ces cellules ont la capacité d'induire la formation d'os, de dentine et de se différencier en d'autres dérivés de cellules mésenchymateuses non dentaires in vitro. Elles affichent des taux de prolifération plus élevés que les DPSCs.

2.1.1.3 Les cellules souches de la papille apicale (SCAP)

Un autre type de cellules souches mésenchymateuses provenant de la papille apicale des dents permanentes immatures a été isolé ; ces cellules sont appelées SCAPs (Stem Cell of the Apical Papilla). Cette population cellulaire est différente des DPSCs.

La papille apicale est un tissu présent au niveau de l'apex de la racine en développement et peut être facilement détaché. Les cellules qui en proviennent présentent une capacité de doubler leur population, un taux de prolifération, une activité des télomérases et une capacité de migration des cellules supérieures aux DPSCs. Ce potentiel de prolifération élevé des SCAPs rend cette population de cellules appropriée à la régénération tissulaire dentaire et préférentiellement pour former les racines.

Ces cellules possèdent des marqueurs spécifiques STRO-1 et CD24.

2.1.1.4 Les cellules souches du ligament parodontal (PDLSC)

Le ligament parodontal contient une population spécifique de cellules souches, appelé PDLSC (PerioDontal Ligament Stem Cell) : ce sont des cellules souches mésenchymateuses à l'origine de sa formation. Cette population est capable de se différencier en de multiples lignées de cellules mésenchymateuses (cémentoblastes, adipocytes, fibroblastes).

Les cellules souches du ligament parodontal expriment les marqueurs de surface caractéristiques des cellules souches mésenchymateuses (STRO-1 /CD146/CD44). Leur potentiel de différenciation est semblable à celui des cellules souches stromales de la moelle osseuse et des DPSCs.

2.1.2 Immuno-localisation des cellules souches (17) (19) (21) (22)

Les marqueurs de ces cellules souches permettent de les différencier mais aussi de les localiser grâce à des anticorps spécifiques :

- DPSCs : En utilisant les marqueurs STRO-1, CD146 et l'antigène associé aux péricytes 3G5, les DPSCs ont été localisées dans la région péri-vasculaire et péri-neurale de la pulpe.

- SHEDs : les marqueurs STRO-1-et CD146 permettent de localiser les SHED dans les zones péri-vasculaires de la pulpe des dents déciduales.
- SCAPs : les marqueurs STRO-1 et CD24 permettent de localiser les SCAP dans la zone péri-vasculaire au niveau de la région apicale.
- PDLSC : les marqueurs STRO-1 /CD146/CD44 permettent de localiser ces cellules au niveau du ligament parodontal.

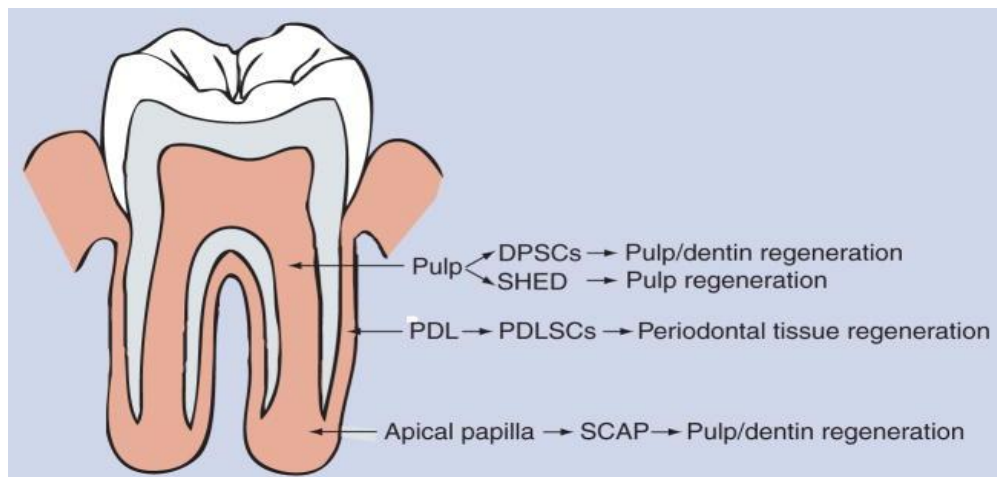


Figure 2 : Localisation des cellules souches (22)

D'autres cellules souches d'origine non dentaire telles que des cellules souches mésenchymateuses et adipeuses se sont également avérées être en mesure de régénérer un tissu pulpaire. Ces sources cellulaires pourraient représenter une alternative quand les cellules souches dentaires ne sont pas disponibles.

2.2 Les matrices supports (10) (11) (21) (22) (23) (24) (25) (26)

L'idée de l'utilisation de matriceensemencée de cellules qui servirait de support à la régénération a émergé vers les années 1970 avec les travaux d'un chirurgien orthopédique (W.T. Green). Puis ce n'est qu'au milieu des années 80 que des matrices ayant des propriétés physiques et chimiques manipulables ont été créées artificiellement en laboratoire.

Ces matrices ont pour but de créer un micro-environnement en trois dimensions avec des propriétés physicochimiques et biologiques favorables à l'adhésion, la migration, la croissance et la

différenciation cellulaire. Ce sont des polymères biocompatibles et biodégradables. Ces matrices doivent contenir des facteurs de croissance pour aider à la prolifération et/ou différenciation des cellules souches. De plus, elles doivent favoriser le transport des nutriments, de l'oxygène et des déchets. Elles doivent avoir une porosité élevée et une taille de pores suffisante pour permettre l'ensemencement des cellules et la diffusion dans l'ensemble de la structure à la fois des cellules et des substances nutritives.

Il existe deux groupes essentiels de matériaux pour les matrices:

- les matrices biologiques ou naturelles, qui peuvent contenir du collagène, de l'acide hyaluronique, du chitosane ou de la chitine
- et les matrices artificielles ou synthétiques, qui peuvent contenir de l'acide polylactique, de l'acide polyglycolique, du phosphate tricalcique, de l'hydroxyapatite et divers gel de fibrines.

2.3 Signaux cellulaires et facteurs de croissances (10) (13) (17) (19) (23) (25) (27) (28) (29)

La différenciation des cellules souches en une lignée cellulaire spécifique est déterminée principalement par les composants du micro-environnement local ou niche, tels que des facteurs de croissance, des récepteurs, des molécules de signalisation, des facteurs de transcription et des protéines de la matrice extracellulaire.

D'autre part, la séquestration de facteurs de croissances pro-angiogéniques dans la matrice dentinaire est susceptible d'améliorer localement l'angiogenèse au cours de la guérison et peut contribuer indirectement au recrutement de cellules souches pour la régénération pulpaire.

Plusieurs facteurs de croissance jouent un rôle important dans la régénération endodontique : PGF (placental growth factor), TGF β (transforming growth factor β), BMP (bone morphogenetic protein), VEGF (vascular endothelial growth factor), FGF (fibroblast growth factor), IGF (insulin-like growth factor), et NGF (nerve growth factor). La figure 2 résume les effets de facteurs de croissance utilisables en endodontie régénératrice.

Platelet-derived Growth Factor (PDGF)	Prolifération cellulaire Synthèse de la matrice dentinaire Différenciation odontoblastique Dentinogénèse
Transforming Growth Factor- β (TGF β)	Prolifération cellulaire Synthèse de la matrice extracellulaire Différenciation odontoblastique Dentinogénèse Chimiotactisme
Bone Morphogenic Proteins (BMPS)	Différenciation odontoblastique Dentinogénèse
Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	Différenciation odontoblastique Prolifération cellulaire
Fibroblast Growth Factor (FGF)	Prolifération cellulaire Dentinogénèse Chimiotactisme
Insulin-like Growth Factor (IGFS)	Différenciation odontoblastique Prolifération cellulaire
Nerve Growth Factor (NGFS)	Différenciation odontoblastique

Figure 3 : action de facteurs de croissance utilisables en endodontie régénératrice (9)

Cependant, le manque de contrôle sur la libération de ces molécules peut être problématique ; en effet, la signalisation résultant de concentrations différentes des mêmes molécules peut montrer un spectre d'effets allant de la stimulation de la régénération à la mort cellulaire.

3 REVASCULARISATION ENDODONTIQUE

Les techniques d'endodontie régénérative sont des procédures biologiques mises en oeuvre pour remplacer les cellules endommagées et les structures infectées avec des tissus vivants et viables dans le but de rétablir des fonctions physiologiques.

La régénération du tissu pulpaire ad-integrum s'avère une tâche difficile ; il y a plusieurs causes à cela :

- La localisation anatomique de la pulpe qui se retrouve enfermée dans la dentine avec pour seul orifice de communication et donc de source pour l'angiogenèse le foramen apical.
- La microstructure complexe de la pulpe et ses différents types cellulaires avec des couches différentes et une innervation/vascularisation spécifique.
- La difficulté à former une dentine périphérique à la structure tubulaire bien alignée et organisée.

D'un point de vue pratique, la revascularisation consiste en l'induction intentionnelle d'une hémorragie dans le péri-apex suivi de la formation d'un caillot sanguin intra-canalair, qui agit comme une matrice. Le protocole comprend trois étapes-clés:

- la désinfection de l'espace canalair,
- provoquer une hémorragie pour former un caillot de sang dans l'espace canalair ; c'est-à-dire former un guide/matrice naturel qui permet la colonisation cellulaire,
- une obturation coronaire étanche.

3.1 Indication de la revascularisation (7) (8) (14) (17) (27) (30) (31) (32)

Pour optimiser la revascularisation pulpaire, quatre paramètres sont indispensables :

- Le diamètre apical ; la plupart des auteurs s'accorde pour dire qu'un diamètre apical minimal compris entre 0,7 mm et 1,1mm est nécessaire pour obtenir une revascularisation appropriée.
- Des parois radiculaires fines et donc un espace canalaire large.
- Des patients jeunes avec un âge compris entre 8 et 13 ans assurant d'une part l'immaturité de la dent (apex ouvert et parois radiculaire fine) et d'autre part la présence d'une forte population de cellules souches. Ces populations de cellules souches s'amenuisent avec l'âge, compromettant alors la régénération pulpaire et la guérison.
- Une dent indemne d'infection et d'inflammation : plus l'infection est faible et plus le taux de réussite augmente ; de plus la présence d'une inflammation compromet le recrutement de cellules progénitrices et leur différenciation au cours de la régénération.

3.2 Principe et mécanisme de revascularisation

3.2.1 Principe

La revascularisation est généralement réalisée en 2 temps : la désinfection canalaire dans un premier temps puis l'induction d'un saignement péri-apical permettant la formation d'un caillot intra canalaire. Ce caillot servira de guide et sera colonisé par diverses cellules dont des cellules souches permettant la formation d'un tissu capable d'achever le processus d'édification radiculaire ainsi que d'épaissir les parois radiculaire rendant, à terme, la dent plus résistante.

3.2.2 Mécanisme (9) (11) (14) (27) (31) (33) (34) (35) (36) (37)

Pour permettre une revascularisation, il faut induire la migration des cellules souches adjacentes ou éloignées afin de remplir l'espace vide intra-canalair.

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant l'origine des cellules souches qui formeront les nouveaux tissus ; quatre origines principales sont retenues :

- **Des cellules souches provenant du caillot sanguin**

Le caillot sanguin fournit un guide pour l'adhésion des cellules souches, apporte des facteurs de croissance indispensables au processus de cicatrisation, de croissance et de différenciation des cellules souches. De plus, il fournit également des cytokines qui peuvent contribuer au recrutement et à la migration de ces cellules. Ce sang systémique apporté par la procédure de revascularisation contient une quantité significative de cellules souches mésenchymateuses indifférenciées, par conséquent, au moins quelques-unes des cellules souches recrutées ont été introduites dans le canal au moment du saignement canalair.

- **Des cellules souches de la pulpe dentaire** qui auraient survécu à la nécrose pulpaire et à la désinfection
- **Des cellules souches de la papille apicale** : ces cellules sont capables de survivre même dans des conditions infectieuses extrêmement hostiles ; la papille apicale est très faiblement vascularisée, ce qui pourrait expliquer cette capacité. Lors de l'induction du saignement, une lime est amenée au-delà de l'apex de la dent et va léser la papille apicale, et donc induire la mobilisation des cellules souches qui se trouvent ainsi apportées par le flux sanguin dans le canal.
- **Des cellules souches du ligament parodontal** : ces cellules sont susceptibles de proliférer et former des tissus minéralisés dans la région apicale.

3.3 Protocole de revascularisation(16) (19) (32) (35) (38)

Après confirmation du diagnostic de nécrose et après s'être assuré que le patient remplit bien les critères d'inclusion, le consentement éclairé des parents et du jeune patient est recueilli. Le protocole de revascularisation à proprement parler se déroule alors en 3 étapes:

- La première étape consiste à éliminer l'ensemble des produits canaux (bactéries, toxines et résidus pulpaire) puis à introduire un antiseptique dans le canal qui sera laissé en place durant 3 à 4 semaines afin d'obtenir un assainissement et une aseptie intra-canal.
- La deuxième étape consiste à induire un saignement apical et la formation d'un caillot sanguin intra-canal qui servira de guide à la revascularisation.
- La troisième étape consiste en un contrôle à 4 semaines et à la mise en place d'une obturation définitive.

3.3.1 Assainissement canalaire(7) (8) (9) (10) (11) (16) (38) (39)

Le premier temps opératoire varie selon les auteurs. En effet, la désinfection canalaire peut être obtenue soit :

-par utilisation d'hypochlorite de sodium puis d'une pâte tri-antibiotique dite pâte de HOSHINO.

-par utilisation d'hypochlorite de sodium puis d'hydroxyde de calcium.

L'hypochlorite de sodium est toujours utilisé comme produit initial de désinfection. En effet, cette molécule est actuellement reconnue comme la solution de choix pour la désinfection canalaire, grâce à ses propriétés solvantes et désinfectantes. Elle présente cependant un inconvénient majeur qui est la présence de chlore qui est et qui reste extrêmement toxique pour les cellules impliquées dans le processus de régénération. Des études ont montré que la dentine ayant été en contact avec cette solution reste contaminée pendant plusieurs semaines.

Même si la toxicité de l'hypochlorite de sodium reste indéniable, il semble néanmoins que son utilisation à faible concentration (1,5 à 2.5 %) permettrait une excellente désinfection tout en limitant la contamination de surface du tissu dentinaire et son relargage de produits cytotoxiques. (9) (39)

Par la suite, l'antiseptique laissé en intra-canalair est au choix du praticien, chacun présentant des avantages et des inconvénients.

La pâte tri-antibiotique, composée de minocycline, ciprofloxacine et métronidazole présente quatre inconvénients (11) (16) (39) :

- Elle provoque une coloration de la dent due à la minocycline. Cependant, il a été récemment démontré que la présence de minocycline n'apporte rien de plus sur la qualité de la désinfection du canal et a donc été supprimée de la composition.
- L'utilisation topique d'antibiotique n'est pas recommandée par l'AFSAPS car elle peut induire une résistance bactérienne
- Il peut exister un risque d'allergie à l'un des antibiotiques
- Des études récentes ont montré que la pâte tri-antibiotique affecte la survie des SCAP (11)

D'autre part, l'hydroxyde de calcium a aussi ses inconvénients (7) (19) :

- L'hydroxyde de calcium peut induire la formation d'une couche calcifiée en cas de contact avec le tissu vital résiduel
- Ce contact peut également endommager la gaine épithéliale de Hertwig, inhibant sa capacité à stimuler les SCAP dans la différenciation odontoblastique.

La première séance se déroule comme suit (7) (8) (9) (10) (16) (19) (32) (38) (40) (41):

- mise en place de la digue et ouverture de la chambre pulpaire afin d'avoir accès au canal dentaire ;
- nettoyage du canal avec une solution d'hypochlorite, de 1,5 à 2,5% suivant les auteurs afin d'éliminer parfaitement les micro-organismes et les tissus nécrotiques. Un volume important et un temps d'action suffisant sont nécessaires. Cependant, aucune instrumentation mécanique n'est utilisée pour être le plus conservateur possible des parois canalaire. Une activation par ultra-son de l'hypochlorite est possible ;
- séchage canalaire avec des pointes de papier stériles ;
- mise en place par un instrument rotatif type lentulo de la pâte antibiotique ou d'hydroxyde de calcium ;
- fermeture étanche de la dent pendant 3 à 4 semaines par mise en place d'un coton stérile puis d'un matériau d'obturation temporaire type IRM®.



Figure 4 : mise en place de la pâte antibiotique (38)

3.3.2 Induction d'un saignement apical (7) (8) (10) (11) (16) (19) (32) (38) (40) (41)

Trois à quatre semaines après le premier rendez-vous, si la dent est devenue asymptomatique, la revascularisation proprement dite est réalisée :

- anesthésie sans vasoconstricteur afin de favoriser le saignement recherché, un saignement insuffisant ayant été signalé en particulier lorsque des anesthésiques locaux contenant de l'épinéphrine ont été utilisées ;
- mise en place de la digue,
- réouverture de la dent avec accès au canal,
- rinçage au sérum physiologique pour éliminer toute la pâte antibiotique ou l'hydroxyde de calcium
- passage de la lime au-delà de la longueur canalaire, le canal étant délibérément sur-instrumenté pour induire un traumatisme péri-apical et un saignement intra-canaire
- une éponge collagène ou un coton stérile est placée sur celui-ci jusqu'à formation du caillot (5 à 7 min).
- fermeture étanche par un matériau bioactif (MTA)

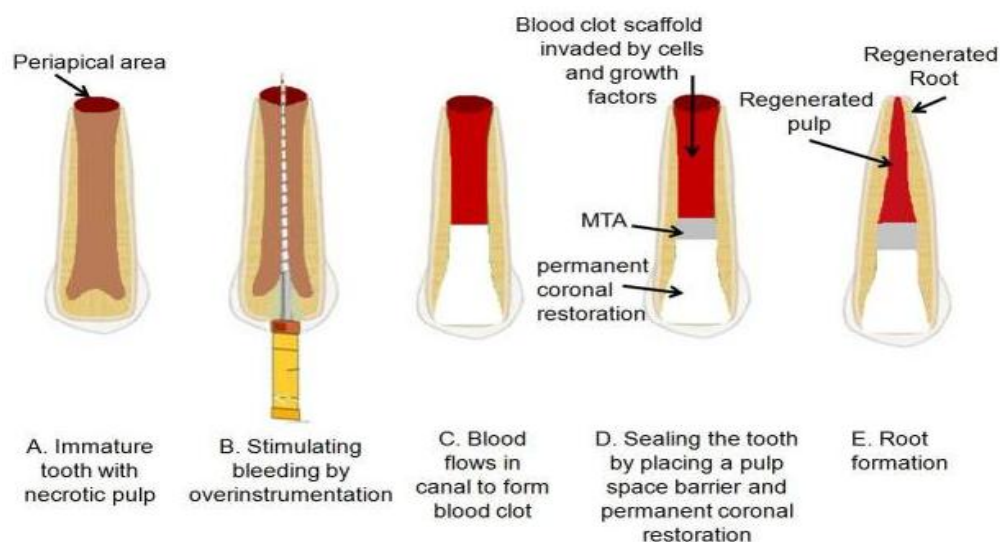


Figure 5 : schéma de la procédure de revascularisation (10)

A : dent immature à pulpe nécrosée ; B : saignement apical par sur-instrumentation ; C : caillot sanguin intra canalaire ; D : mise en place du MTA et de la reconstitution coronaire permanente ; E : épaissement canalaire et fermeture apical

3.3.3 Les contrôles (16) (19) (32) (37) (38) (43) (40)

La première séance de contrôle se fait à 1 mois post-opératoire puis à 3 mois, 6 mois, 12 mois, 15 mois et 2 ans. Un examen clinique et radiologique est alors réalisé et on doit rechercher :

- Cliniquement : une absence de douleur à la percussion et à la palpation,
- Radiologiquement : une diminution de la taille de la lésion apicale. Une reprise de l'apexification avec une augmentation de la longueur radiculaire et un épaissement des parois avec diminution du diamètre apicale. Ces phénomènes ne sont visibles radiologiquement qu'à partir du 6^{ème} mois.

3.4 Analyse de la technique de revascularisation

Le tissu formé n'est pas toujours identique d'un cas à un autre, il a été décrit quatre résultats possibles des procédures de revascularisation (7) (14) :

- 1: la formation de dentine, de tissu pulpaire et la fermeture du canal
- 2: la croissance interne de ciment et de ligament parodontal
- 3: la croissance interne de ciment, de ligament parodontal et d'os
- 4: la croissance interne d'os

Ils suggèrent que ces scénarios dépendent des populations de cellules qui envahissent l'espace pulpaire.

3.4.1 Suite aux traitements de revascularisation, quels tissus retrouvons-nous? (7) (14) (27) (35) (43) (42)

De nombreux auteurs ont décrit chez l'animal la nature histologique des tissus intra-canaux formés après revascularisation de dents immatures nécrosées. Ils ont observé que les tissus formés dans les canaux étaient semblables à des tissus parodontaux, comme du ciment, de l'os ou du tissu conjonctif (ligament). Mais qu'en est-il chez l'homme ?

Suite à l'extraction, dans le cadre d'un traitement orthodontique, de dents ayant subi une procédure de revascularisation ; l'étude cytologique montre deux principaux types de tissus, un tissu conjonctif fibreux au sein de l'espace canalaire et du tissu minéralisé sur les parois. Les auteurs s'accordent pour dire que :

- Le tissu conjonctif est principalement caractérisé par des fibroblastes et des fibres de collagène. Or, de grandes cellules ressemblant à des fibroblastes ont été retrouvées. Des faisceaux de collagène dense ont été observés à l'intérieur de ce tissu, associés à des vaisseaux sanguins. De plus, une concentration modérée de cellules inflammatoires (principalement des cellules plasmiques) sont présentes dans le tissu conjonctif apical.
- Le tissu calcifié nouvellement formé sur les parois canaux, est à la fois du tissu cémentoïde cellulaire et acellulaire et l'on retrouve vers la région apicale du tissu osseux repartie en îlots. Les faisceaux de collagène s'insèrent perpendiculairement dans le tissu cémentaire. On retrouve les cellules responsables de la minéralisation : les cémentoblastes et les ostéoblastes. Dans la plupart des cas, la formation de tissu minéralisé est très irrégulière. En effet, dans certaines zones, le tissu minéralisé semble obturer l'espace canalaire, alors que dans d'autres l'espace canalaire est occupé par du tissu conjonctif fibreux.

Ainsi, les procédures de revascularisation ont permis le développement de tissus parodontaux à l'intérieur du canal (os, ligament parodontal, ciment), ce qui a contribué à épaissir les parois canaux ainsi qu'à augmenter sa longueur. Il s'agit donc d'une cicatrisation et non d'une régénération.

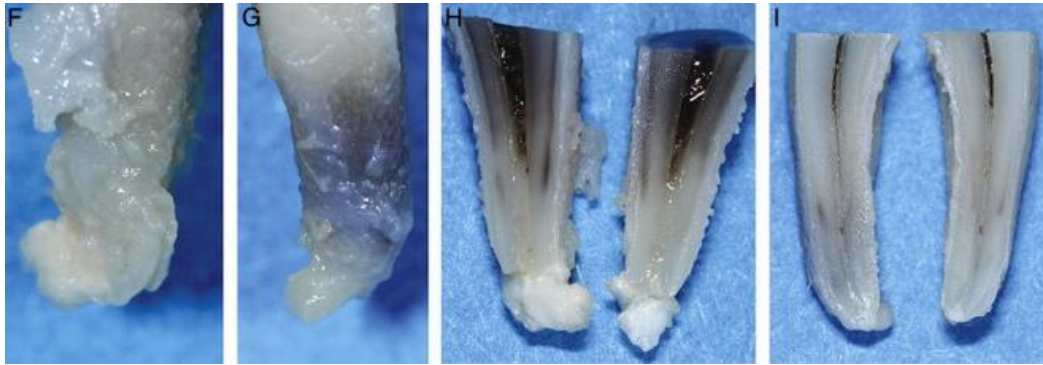


Figure 6 : coupe d'une dent ayant bénéficié d'une procédure de revascularisation (7)

F et G : photographie de la face médiale et distale d'une racine ayant bénéficié d'une procédure de revascularisation ;

H et I : photographie de la racine médiale et distale ayant bénéficié d'une procédure de revascularisation.

Seules deux études décrivent une régénération d'un tissu semblable à la pulpe naturelle sur une dent permanente immature ayant bénéficié d'une procédure de revascularisation suite à une pulpite irréversible. Ceci pourrait s'expliquer par la survie à la fois de la papille apicale et de la gaine épithéliale de Hertwig. (44) (45)

3.4.2 Pourquoi retrouve-t-on des structures parodontales dans l'espace canalaire (7) (14) (27) (35) (42) (43)

Les cellules cémentoblastes-like ainsi que les cellules fibroblastiques ont probablement été différenciées à partir de cellules souches provenant du ligament parodontal ou d'un autre tissu adjacent et ont produit par la suite un tissu cémentoïde sur les parois canalaire. On ne sait pas si les cellules souches entrent dans le canal immédiatement après le saignement péri-apical ou après la formation d'un caillot sanguin (celui-ci contenant de nombreux facteurs de croissance, des cytokines, la matrice extracellulaire provisoire, la fibronectine et les fibrines, qui sont capables d'attirer des cellules souches)

Ce sont les cellules souches mésenchymateuses d'origine pulpaire qui ont le plus grand potentiel de se différencier en cellules odontoblastes-like et donc de régénérer la pulpe. Cependant, les cellules souches mésenchymateuses proviennent des tissus péri-apicaux adjacents et peuvent migrer dans l'espace pulpaire en grand nombre du fait de sa proximité et participer à la revascularisation tissulaire. Cela peut expliquer pourquoi les procédures de revitalisation ont tendance à générer des tissus parodontaux dans l'espace canalaire et non pas de la pulpe et de la dentine.

3.5 Amélioration de la revascularisation

3.5.1 Amélioration par ajout de PRP (7)

Le PRP (platelet rich plasma) est un concentré en plaquettes autologues riche en facteurs de croissance qui a été proposé comme un additif potentiel ou une matrice de substitution pour améliorer le résultat de cette procédure de revascularisation.

3.5.1.1 Protocole

La première étape reste inchangée ; cependant, lors de la deuxième étape, un prélèvement sanguin est réalisé afin de préparer le PRP :

- un volume de sang est prélevé sur le patient par ponction veineuse, au niveau du pli du coude, recueilli dans un tube en verre stérile de 10 ml, revêtu d'un anticoagulant (citrate de dextrose acide). Le sang est alors centrifugé (2400 tours/minutes pendant 10 min) pour séparer les PRP et le plasma pauvre en plaquettes (PPP) puis PRP et PPP sont de nouveau centrifugés (3600 tours par minute pendant 15 min).
- après induction du saignement apical, le PRP fraîchement préparé est introduit dans le tiers médian du canal. Puis s'ensuit la fermeture étanche du canal.

3.5.1.2 rôle du PRP

L'utilisation de PRP permet d'améliorer le processus de revascularisation ; en effet, il s'agit d'un concentré plaquettaire contenant différents facteurs de croissance tels que le facteur de croissance plaquettaire, le TGF β (transforming growth factors β), IGF (insulin like growth factor), VEGF (vascular endothelial growth factor), EGF (epidermal growth factor) et le facteur de croissance de cellules épithéliales. Ces facteurs de croissance sont libérés par dégranulation des plaquettes, soit par addition de thrombine, de calcium, soit par agitation.

La matrice de PRP contribue ainsi :

- à stabiliser le caillot qui existe déjà
- à améliorer l'angiogenèse.

Il permet aussi la libération prolongée de facteurs de croissance, qui jouent un rôle important dans le recrutement et la prolifération des cellules souches.

Ainsi, dans le protocole PRP, le caillot sanguin induit par saignement a servi de matrice et le PRP comme un additif.

Cependant, l'utilisation du PRP présente des inconvénients :

- la nécessité de prélever du sang chez les patients jeunes : le chirurgien-dentiste n'est pas habilité à le faire
- l'exigence d'équipements et de réactifs pour préparer le PRP.
- La difficulté de manipulation

De plus, l'utilisation de PRP n'est pas autorisée en France.

3.5.2 Amélioration de la revascularisation par ajout de PRF (Platelet Rich Fibrin) (46)

Le PRF est un concentré plaquettaire obtenu après prélèvement de sang recueilli dans des tubes à essai sans anticoagulant puis centrifugé instantanément pendant 2 minutes à 2700 tours/min. Il contient de nombreux facteurs de croissance tel que le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), le facteur de croissance transformant $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), facteur de croissance de l'insuline (IGF). Il permet la migration, la fixation, la prolifération et la différenciation cellulaire. Le PRF permet à la fois d'améliorer la guérison en accélérant le processus de cicatrisation et d'empêcher l'invagination précoce des cellules non souhaitées, et donc agit comme une barrière entre cellules désirées et non désirées.

Comme le PRP, le PRF peut être considéré comme une matrice appropriée pour la revascularisation endodontique:

- il améliore la cicatrisation
- il stabilise le caillot
- c'est une membrane biodégradable
- il contient de nombreux facteurs de croissance qui améliorent la différenciation et la migration cellulaire
- il permet une sélection cellulaire.

D'autre part, contrairement au PRP, le PRF est déjà utilisé en France au sein des cabinets dentaires.

4 REGENERATION DE LA PULPE DENTAIRE AD-INTEGRUM PAR INGENIERIE TISSULAIRE

A l'heure actuelle, les premiers résultats de régénération endodontique se basent sur des études in vitro et in vivo chez l'animal.

Afin d'obtenir une régénération ad-integrum de la pulpe dentaire, il faut passer par le biais de l'ingénierie tissulaire. Comme vu précédemment (Cf partie 2), l'ingénierie tissulaire repose sur trois éléments : une matrice, des cellules souches capable de se différencier en cellules pulpaires et des facteurs de croissances / signaux cellulaires capables d'induire la migration, la différenciation et l'organisation 3D de la pulpe.

Ainsi, ce type de protocole nécessite le prélèvement et la mise en culture de cellules souches en laboratoire, cellules qui seront implantées dans un deuxième temps dans le canal radiculaire. La régénération basée sur des cellules souches pulpaires a montré des résultats prometteurs et des études précliniques ont été effectuées sur des animaux immuno-déficients.

4.1 Concept (14) (47) (48)

Différentes procédures cliniques sont envisagées et reposent sur la mise en place, dans le canal pulpaire préalablement désinfecté, d'une matrice biodégradable, des facteurs de croissance (éventuellement des plaquettes et de la dentine), des molécules antiseptiques et des cellules souches capable de régénérer la pulpe (DPSC, SHED, SCAP ou PDLSC). Les cellules transplantées, préalablement prélevées sur l'hôte (autologue) ou sur un donneur (allogénique) sont cultivées en laboratoire afin d'en augmenter les effectifs.

4.2 Les différentes techniques envisagées (10) (11)

Implantation d'une pulpe :

La pulpe de remplacement est transplantée dans le canal radiculaire préalablement nettoyé et en forme. La source de tissu pulpaire peut être soit une lignée purifiée de cellules souches pulpaires exempte d'agents pathogènes, soit créée à partir de cellules cultivées au laboratoire. Les cellules souches pulpaires doivent être organisées sur une structure tridimensionnelle qui peut soutenir l'organisation cellulaire et la vascularisation. Ceci peut être réalisé en les cultivant sur des membranes nano-fibreuses ou sur des feuillets de protéines de matrice extracellulaire tels que le collagène I ou la fibronectine.

Cette technique a l'avantage qu'il est facile de cultiver des cellules sur des filtres au laboratoire. Celles-ci sont beaucoup plus stables que des cellules libres administrées par injection dans un système radiculaire vide.

En revanche cette méthode exige des procédures particulières pour assurer une bonne adhérence des cellules à la paroi du canal radiculaire. D'autres inconvénients sont l'absence de vascularisation et la difficulté de manipulation de ces filtres.

Implantation d'une matrice :

Une matrice à base de polymère et poreuse peut êtreensemencée avec des cellules souches pulpaires et implantée dans le canal radiculaire vide afin de créer un tissu pulpaire. Cette matrice doit contenir des facteurs de croissance pour aider à la prolifération et la différenciation de cellules souches. Mais celle-ci doit aussi contenir des éléments nutritifs pour favoriser la survie et la croissance des cellules, des antibiotiques pour arrêter la croissance de micro-organismes dans le canal. Elle devrait être biodégradable afin d'éviter une ré-intervention.

Les progrès récents ont conduit à l'élaboration de matrices synthétiques de nano-fibres de polymère qui augmentent l'adhésion cellulaire, la différenciation et la formation de tissu en mimant une matrice extracellulaire. Ces matrices ont la capacité de former des constructions de tissu 3D cliniquement pertinentes. Les trois principales techniques de fabrications utilisées pour créer ces matrices sont l'auto-assemblage moléculaire (qui génère des nano-fibres de petit diamètre sur l'extrémité inférieure de la matrice extracellulaire), l'électrofilage (qui génère des nano-fibres de grand diamètre sur

l'extrémité supérieure de la matrice extracellulaire) et la séparation de phase induite thermiquement (qui permet la conception de structures à macropores).

Matrice injectable :

Dans cette technique, les cellules souches sont mises en place dans une matrice tridimensionnelle souple telle que du gel colloïdal. Ces hydrogels sont des matrices injectables qui peuvent être mise en place avec une seringue. L'ingénierie tissulaire cherche à les rendre polymérisables de manière à pouvoir former des structures rigides une fois mises en place dans le canal pulpaire. Le caractère hydrophile de ces gels facilite la diffusion de l'oxygène et des nutriments dans le gel, les rendant appropriés pour l'ingénierie tissulaire.

Impression cellulaire 3D

Cette technique est semblable à l'impression 3D, elle met en place des couches de divers types cellulaires de façon précise dans un gel afin de recréer une pulpe dentaire.

4.3 Tissus formés (12) (14) (15) (22) (17) (48)

L'expérimentation suivante permet d'observer le type de tissu formé par régénération pulpaire. Des fragments de canaux de dents humaines vidés de leur contenu et élargis, puis remplis par des matricesensemencées de cellules souches humaines prélevées au niveau de papille apicale (SCAP) ou des cellules souches de la pulpe dentaire (DPSCs) sont transplantées chez des souris immunodéprimées.

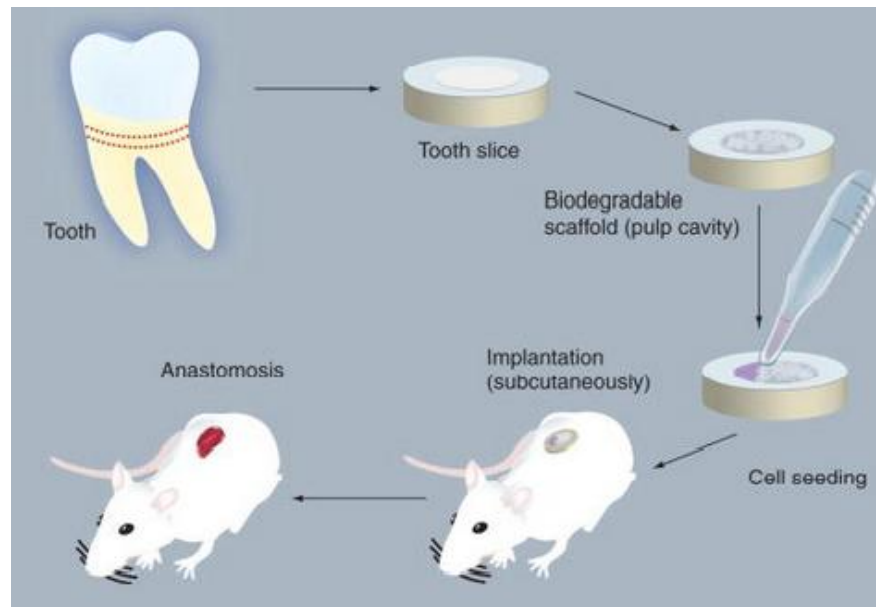


Figure 8 : schéma de l'implantation d'un fragment de racine humaine chez la souris (22)

Il a été observé:

- Une nouvelle couche de tissu dentinaire.
- La synthèse de novo de tissu vascularisé

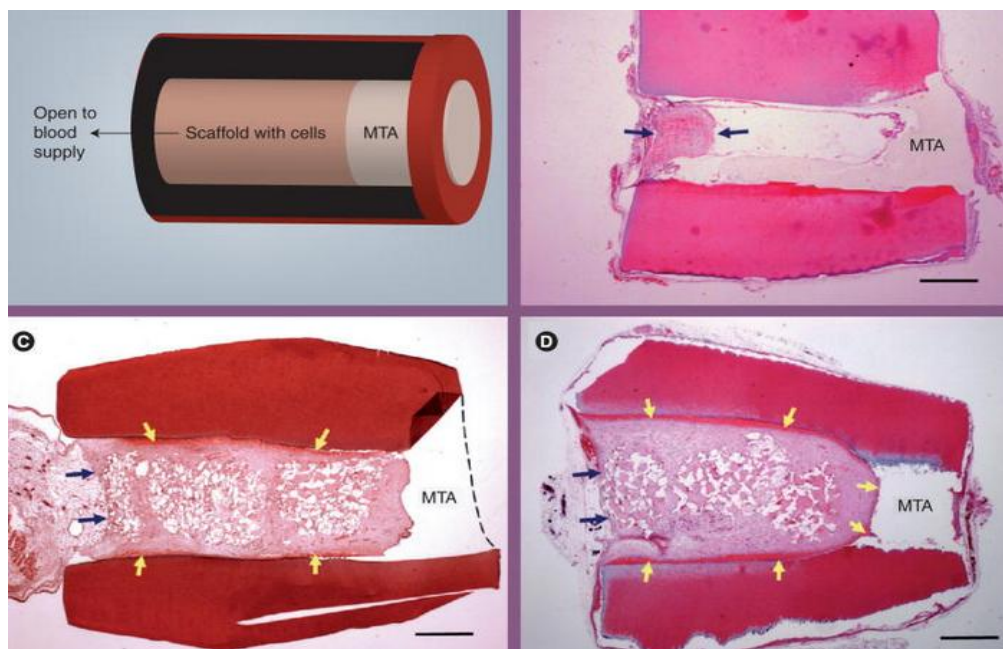


Figure 9 : étude cytologique d'une régénération in vivo de dent humaine chez la souris (22)

Tissus dentinaires : De nouveaux odontoblastes se développent contre le mur dentinaire existant. Cependant, leur organisation et leur position ne sont pas exactement semblables à la pulpe naturelle. La dentine nouvellement formée se dépose de façon homogène mais ne ressemble pas à l'original, mais plutôt à de la dentine tertiaire ou de réparation. La dentine tertiaire formée par les odontoblastes est plus fragile que la dentine primaire au cours de la cicatrisation naturelle de la pulpe ; par conséquent, il est possible que la dentine nouvellement formée à partir des approches d'ingénierie cellulaires le soit également.

Tissus vasculaires et nerveux : La vascularisation et la matrice extracellulaire de la pulpe régénérée semble similaires à celles de la pulpe naturelle. La nouvelle pulpe a été colonisée par des fibres nerveuses nouvellement régénérées ; cependant, la dentine nouvellement synthétisée ne possède pas de tubules bien organisés, et même si les fibres sensibles A- δ régénérées atteignent la jonction pulpo-dentinaire, il se peut que la sensibilité soit moindre que la dent naturelle.

Ces nouvelles méthodes d'ingénierie tissulaire pourront ouvrir de nouvelles voies pour la régénération pulpaire ou dans bien d'autres domaines. Ces techniques ont pour but de régénérer ou de remplacer des tissus ou des organes lésés. Celles-ci sont encore au stade de l'expérimentation ; donc coûteuses et sans recul clinique suffisant pour permettre une utilisation clinique à ce jour.

CONCLUSION

La méthode de revascularisation par induction d'un saignement dans l'espace canalaire présente de nombreux avantages : c'est une approche simple, peu coûteuse, et elle évite le risque de rejet immunitaire puisqu'elle utilise les propres cellules souches du patient. De plus, dans la plupart des cas, il a été montré une augmentation de la longueur des racines et un épaissement de la dentine ainsi qu'une réduction du volume de l'espace pulpaire radiographiquement. Cliniquement, la plupart des dents étaient exemptes de tout symptôme.

Cependant, elle présente des inconvénients qui la rendent encore peu utilisée : la formation d'un caillot de sang intra-canaire peut s'avérer difficile, la concentration et la composition des cellules piégées dans le caillot restent imprévisibles, la procédure d'induction d'un saignement avec une lime au-delà de la papille apicale peut endommager la gaine épithéliale d'Hertwig qui joue un rôle crucial dans le développement et la forme des racines.

D'autre part, les techniques de régénération endodontique sont prometteuses et innovantes dans le traitement des dents immatures et pourraient changer beaucoup de concepts dans ce domaine. En effet, elles proposent de régénérer une pulpe qui terminera la croissance radiculaire, avec une technique thérapeutique très peu invasive. Malgré le développement impressionnant que connaissent les recherches sur l'endodontie régénérative, de nombreux problèmes restent à régler :

- isoler, dupliquer et différencier les cellules souches est une tâche difficile.
- des matrices vascularisées appropriées sont nécessaires, elles doivent être biodégradables et avoir la même vitesse de dégradation que la vitesse de formation de la nouvelle pulpe.
- une meilleure compréhension et un meilleur contrôle des facteurs de croissance
- réduire le nombre de séances cliniques.

Chacune des techniques de régénération a ses avantages et ses inconvénients, et certaines sont encore hypothétiques, ou à un stade précoce de développement. Cependant, ces stratégies d'endodontie régénératrice apportent l'espoir de préserver des dents dont l'intégrité structurale est compromise.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- Tomaszewska JM, Miskowiak B, Matthews-Brzozowska T, Wierzbicki P. Characteristics of dental pulp in human upper first premolar teeth based on immunohistochemical and morphometric examinations. *Folia HistochemCytobiol.* 2013;51(2):149-55
- 2- Teti G., Salvatore V., Ruggeri A., Manzoli L., Gesi M., et al. In Vitro Reporative Dentin: a Biochemical and Morphological Study. *Eur J Histochem.* 2013 Sep 27; 57(3): e23
- 3- KhatibiShahidi M, Krivanek J, Kaukua N, Ernfors P, Hladik L, et al. Three-dimensional Imaging Reveals New Compartments and Structural Adaptations in Odontoblasts. *J Dent Res.* Epub 2015 Apr 2.
- 4- Gaudin A, Renard E, Hill M, Bouchet-Delbos L, Bienvenu-Louvet G, et al. Phenotypic Analysis of Immunocompetent Cells in Healthy Human Dental Pulp. *J Endod.* 2015; 41(5):621-7
- 5- Hîncu M, Horea M, Petra U , Mehedinpi R. Morphological and immunohistochemical aspects of the dental pulp in different functional phases. *Oralhealth* 2007 ; 4(4): 77-69
- 6- Steiniger BS, Bubel S, Böckler W, Lampp K, Seiler A, Jablonski B, Guthe M, Stachniss V. Immunostaining of pulpal nerve fibre bundle/arteriole associations in ground serial sections of whole human teeth embedded in technovit® 9100. *Cells Tissues Organs.* 2013;198(1):57-65
- 7- Jadhav GR, Shah N, Logani A. Comparative outcome of revascularization in bilateral, non-vital, immature maxillary anterior teeth supplemented with or without platelet rich plasma: A case series. *J Conserv Dent.* 2013;16(6):568-72
- 8- McCabe P. Revascularization of an immature tooth with apical periodontitis using a single visit protocol: a case report. *Int Endod J.* 2014 ; 48(5):484-97

- 9- Alrahabi MK, Ali MM. Root canal revascularization: The beginning of a new era in endodontics. *Saudi Med J.* 2014;35(5):429-34
- 10- Bansal R, Jain A, Mittal S, Kumar T, Kaur D. Regenerative endodontics: a road less travelled. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(10):20-4
- 11- Albuquerque MT, Valera MC, Nakashima M, Nör JE, Bottino MC. Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics. *J Dent Res.* 2014;93(12):1222-31
- 12- George T.-J. Huang, Takayoshi Y, Lonnie D, Farida D, 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):605-15
- 13- Tran HL, Doan VN. Human dental pulp stem cells cultured onto dentin derived scaffold can regenerate dentin-like tissue in vivo. *Cell Tissue Bank.* Epub 2015 Feb 21.
- 14- Huang GT, Al-Habib M, Gauthier P. Challenges of stem cell-based pulp dentin regeneration: a clinical perspective. *Endod Topics.* 2013; 1:28(1):51-56
- 15- Rosa V, Zhang Z, Grande RH, Nör JE. Dental pulp tissue engineering in full-length human root canals. *J Dent Res.* 2013; 92(11):970-975
- 16- Ramta B, Aditya J, Sunandan M. Current overview on challenges in regenerative endodontics. *J Conserv Dent.* 2015 ; 18(1): 1–6.
- 17- Sloan AJ, Smith AJ. Stem cells and the dental pulp: potential roles in dentine regeneration and repair. *Oral Dis.* 2007;13(2):151-7
- 18- Estrela C, Alencar AH, Kitten GT, Vencio EF, Gava E. Mesenchymal stem cells in the dental tissues: perspectives for tissue regeneration. *Braz Dent J.* 2011;22(2):91-8
- 19- Caruso S, Sgolastra F, Gatto R. Dental pulp regeneration in paediatric dentistry: the role of stem cells. *Eur J Paediatr Dent.* 2014;15(2):90-4

- 20- Taşlı PN, Yalvaç ME, Sofiev N, Sahin F. Effect of f68, f127, and p85 pluronic block copolymers on odontogenic differentiation of human tooth germ stem cells. *J Endod.* 2013 Oct; 39(10):1265-71.
- 21- Sloan AJ, Waddington RJ. Dental pulp stem cells: what, where, how?. *Int J Paediatr Dent.* 2009 Jan; 19(1):61-70
- 22- Huang GT. Pulp and dentin tissue engineering and regeneration: current progress. *Regen Med.* 2009; 4(5):697-707
- 23- Lin LM, Shimizu E, Gibbs JL, Loghin S, Ricucci D. Histologic and histobacteriologic observations of failed revascularization/revitalization therapy: a case report. *J Endod.* 2014; 40(2):291-5
- 24- Horst OV, Chavez MG, Jheon AH, Desai T, Klein OD. Stem Cell and Biomaterials Research in Dental Tissue Engineering and Regeneration. *Dent Clin North Am.* Jul 2012; 56(3): 495–520
- 25- Iohara K, Murakami M, Takeuchi N, Osako Y, Ito M et al. A novel combinatorial therapy with pulp stem cells and granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration. *Stem Cells Transl Med.* 2013 ; 2(7):521-33.
- 26- Bottino MC, Yassen GH, Platt JA, Labban N, Windsor LJ, et al. A novel three-dimensional scaffold for regenerative endodontics: materials and biological characterizations. *J Tissue Eng Regen Med.* Epub 2013 Mar 8.
- 27- Lin LM, Ricucci D, Huang GT. Regeneration of the dentine–pulp complex with revitalization/revascularization therapy: challenges and hopes. *Int Endod J.* 2014 Aug; 47(8):713-24

- 28- Saghiri MA, Asatourian A, Sorenson CM, Sheibani N. Role of angiogenesis in endodontics: contributions of stem cells and proangiogenic and antiangiogenic factors to dental pulp regeneration. J Endod.Epub 2015 Jan 31
- 29- Galler KM, D'Souza RN, Federlin M, Cavender AC, Hartgerink JD, et al. Dentin conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. J Endod. 2011;37(11):1536-41
- 30- Thomson A, Kahler B. Regenerative endodontics biologically based treatment for immature permanent teeth: review. Aust Dent J. 2010;55(4):446-52
- 31- Shin SY, Albert JS, Mortman RE. One step pulp revascularization treatment of an immature permanent tooth with chronic apical abscess: a case report. Int Endod J. 2009 ; 42(12):1118-26.
- 32- Forghani M, Parisay I, Maghousoudlou A. Apexogenesis and revascularization treatment procedures for two traumatized immature permanent maxillary incisors: a case report. Restor Dent Endod. 2013 ; 38(3) :178-81.
- 33- Schmalz G, Smith J. Pulp Development, Repair, and Regeneration: Challenges of the Transition from Traditional Dentistry to Biologically Based Therapies. J Endod. 2014; 40(4 Suppl):S2-5
- 34- Laureys WG, Cuvelier CA, Dermout LR, De Pauw GA. The critical apical diameter to obtain regeneration of the pulp tissue after tooth transplantation, replantation, or regenerative endodontic treatment. J Endod. 2013;39(6):759-63
- 35- Wigler R, Kaufman AY, Lin S, Steinbock N, Hazan-Molina H, et al ;Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. J Endod. 2013 ; 39(3):319-26.
- 36- Huang GT, Sonoyama W, Liu Y, Liu H, Wang S, et al. The hidden treasure in apical papilla: the potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. J Endod 2008;34(6):645-51

- 37- Messer H.H. efficacy of revascularization to induce apexification/apexogenesis in infected, nonvital, immature teeth: a pilot clinical study. J Endod. 2008 ; 34(8):919-25
- 38- Becerra P, Ricucci D, Loghin S, Gibbs JL, LinLM. Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/revitalization. J Endod. 2014 ; 40(1):133-9.
- 39- RuparelNB ,Teixeira FB, Ferraz CCR, Diogenes A. Direct Effect of Intracanal Medicaments on Survival of stem Cells of the Apical Papilla. J Endod. 2012;38(10):1372-5
- 40- Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol ?.J Endod. 2004;30(4):196-200
- 41- Shimizu E, Jong G, Partridge N, Rosenberg PA, Lin L M. Histologic observation of a human immature permanent tooth with irreversible pulpitis after revascularization/regeneration procedure. J Endod. 2012;38(9):1293-97
- 42- Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang G T-J. Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. J Endod. 2010;36(1):56-63
- 43- Garcia-Godoy F, Murray PE. Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. Dent Traumatol. 2012;28(1):33-41
- 44- Shimizu E, Jong G, Partridge N, Rosenberg PA, Lin LM. Histologic observation of a human immature permanent tooth with irreversible pulpitis after revascularization/regeneration procedure. J Endod. 2012; 38: 1293-1297
- 45- Torabinejad M, Faras H. A clinical and histological report of a tooth with an open apex treated with regenerative endodontics using platelet-rich plasma. J Endod. 2012; 38: 864-868
- 46- Kavita H, Krishna S. Platelet rich fibrin - a novel acumen into regenerative endodontic therapy. Restor Dent Endod. 2014; 39(1): 1–6.

- 47- Shiehzadeh V, Aghmasheh F, Shiehzadeh F, Joulae M, Kosarieh E, et al. Healing of large periapical lesions following delivery of dental stem cells with an injectable scaffold: new method and three cases reports. Indian J Dent Res. 2014 ;25(2):248-53.
- 48- Huang GT, Garcia-Godoy F. Missing Concepts in De Novo Pulp Regeneration. J Dent Res. 2014 ; 93(8):717-724.

LELONG (Yannick) – Revascularisation endodontique : le point en 2015

(Thèse : Chir. Dent. : Lyon : 2015.020)

N°2015 LYO 1D 020

La croissance de l'organe dentaire immature et sa pérennité ne sont possibles qu'avec la vitalité pulpaire ; en particulier, si la vitalité pulpaire des dents permanentes immatures est compromise, leur développement est arrêté ce qui les fragilise.

Bien que les traitements actuels aient montré leur efficacité, ceux-ci ne parviennent pas à restaurer une pulpe saine.

De nouvelles approches biologiques visant à restaurer la vitalité et les fonctions pulpaires grâce à des cellules souches ont vu le jour, dans le but de permettre aux dents immatures de terminer leur croissance et d'améliorer leur pronostic.

Deux techniques sont présentées dans ce travail : la revascularisation endodontique, qui consiste à induire la migration de cellules souches locales dans le canal dentaire via un saignement péri-apical et la formation d'un caillot intra-canal, et commence à être utilisée en clinique ; la régénération de la pulpe dentaire ad-integrum, qui fait appel à l'ingénierie tissulaire et consiste à introduire dans le canal dentaire préalablement désinfecté une matrice supportensemencée de cellules souches cultivées en laboratoire, et de facteurs de croissance guidant la différenciation, reste encore du domaine de la recherche.

Rubrique de classement : **Pédodontie**

Mots clés :

- Revascularisation pulpaire
- Cellules souches
- Ingénierie tissulaire

Mots clés en anglais :

- Dental pulp revascularization
- Stem cells
- Tissue engineering

Jury : **Président :** Madame le Professeur Dominique SEUX
Assesseeurs : Monsieur le Docteur Bruno COMTE
Madame le Docteur Béatrice RICHARD
Monsieur le Docteur Yassine MESSAOUDI

Adresse de l'auteur : Yannick LELONG
6 avenue Louis Noiray
38700 Corenc