



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

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 2019

THESE N° 2019 LYO 1D033

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

Présentée et soutenue publiquement le : Vendredi 14 Juin 2019

par

BEN GRID Hedy

Date et lieu de naissance

Né le 9 septembre 1993, à Vénissieux (69)

**Caractérisation de verres borosilicatés expérimentaux :
Cytocompatibilité des particules élaborées par fusion/trempe.**

JURY

Monsieur le professeur Jean-Jacques MORRIER

Président

Monsieur le professeur Jean-Christophe MAURIN

Assesseur

Monsieur le docteur Cyril VILLAT

Assesseur

Madame le docteur Nina ATTIK

Assesseur

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Président de l'Université Président du Conseil Académique HADID	M. le Professeur F. FLEURY M. le Professeur H. BEN
Vice-Président du Conseil d'Administration Vice-Président de la Commission Recherche du Conseil Académique	M. le Professeur D. REVEL M. F. VALLEE
Vice-Président de la Commission Formation Vie Universitaire CHEVALIER du Conseil Académique	M. le Professeur P.

SECTEUR SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est	Directeur : M. le Professeur G. RODE
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon-Sud Charles Mérieux	Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON
Faculté d'Odontologie	Directrice : Mme. la Professeure D. SEUX
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques VINCIGUERRA	Directrice : Mme la Professeure C.
Institut des Sciences et Techniques de la Conférences Réadaptation	Directeur : M. X. PERROT, Maître de
Département de Formation et Centre de SCHOTT Recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme la Professeure A.M.

SECTEUR SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Faculté des Sciences et Technologies Conférences	Directeur : M. F. DE MARCHI, Maître de
UFR des Sciences et Techniques des Agrégé	Directeur : M. Y. VANPOULLE, Professeur
Activités Physiques et Sportives	
Institut Universitaire de Technologie Lyon 1	Directeur : M. le Professeur C. VITON
Ecole Polytechnique Universitaire de l'Université Lyon 1	Directeur : M. E. PERRIN
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	Directrice : Mme la Professeure I. DANIEL
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique	Directeur : M. G. PIGNAULT

FACULTE D'ODONTOLOGIE DE LYON

Doyenne : Mme Dominique SEUX, Professeure des Universités

Vices-Doyens : M. Jean-Christophe MAURIN, Professeur des Universités
Mme Béatrice THIVICHON-PRINCE, Maître de Conférences

SOUS-SECTION 56-01 : **ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE ET ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE**

Professeur des Universités : M. Jean-Jacques MORRIER
Maître de Conférences : M. Jean-Pierre DUPREZ, Mme Sarah GEBEILE-CHAUTY,
Mme Claire PERNIER,
Maître de Conférences Associée Mme Christine KHOURY

SOUS-SECTION 56-02 : **PREVENTION - EPIDEMIOLOGIE
ECONOMIE DE LA SANTE - ODONTOLOGIE LEGALE**

Professeur des Universités M. Denis BOURGEOIS
Maître de Conférences M. Bruno COMTE
Maître de Conférences Associé M. Laurent LAFOREST

SOUS-SECTION 57-01 : **CHIRURGIE ORALE – PARODONTOLOGIE – BIOLOGIE ORALE**

Professeur des Universités : M. J. Christophe FARGES
Maîtres de Conférences : Mme Anne-Gaëlle CHAUX-BODARD, M. Thomas FORTIN,
Mme Kerstin GRITSCH, M. Arnaud LAFON
Mme Béatrice THIVICHON-PRINCE, M. François VIRARD

SOUS-SECTION 58-01 : **DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESE, FONCTION-DYSFONCTION, IMAGERIE, BIOMATERIAUX**

Professeurs des Universités : M. Pierre FARGE, Mme Brigitte GROSGOGEAT,
M. Jean-Christophe MAURIN, Mme Catherine MILLET, M. Olivier ROBIN, Mme Dominique SEUX,
Maîtres de Conférences : M. Maxime DUCRET, M. Patrick EXBRAYAT, M. Christophe JEANNIN,
M. Renaud NOHARET, M. Thierry SELLI, Mme Sophie VEYRE-GOULET, M. Stéphane VIENNOT, M. Gilbert VIGUIE,
M. Cyril VILLAT,
Maîtres de Conférences Associés M. Hazem ABOUELLEIL,

SECTION 87 : **SCIENCES BIOLOGIQUES FONDAMENTALES ET CLINIQUES**
Maître de Conférences Mme Florence CARROUEL

Remerciements

A NOTRE PRESIDENTE DE JURY,

Monsieur le Professeur MORRIER Jean-Jacques

Professeur des Universités à l'UFR d'Odontologie de Lyon, Praticien-Hospitalier, Docteur en Chirurgie Dentaire, Maître en Biologie Humaine, Docteur de l'Université Lyon I, Habilité à Diriger des Recherches, Responsable de la sous-section Odontologie Pédiatrique.

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en présidant le jury de notre thèse. Vous avez accepté, avec toute la gentillesse qui vous caractérise, de juger ce travail et nous vous en sommes extrêmement reconnaissants. Nous sommes fiers d'avoir appris à soigner ces petits poussins grâce à vous. Veuillez recevoir, par ce travail, l'expression de notre haute estime.

A NOTRE DIRECTEUR,

Madame le docteur ATTIK Nina

Ancien Maître de Conférences Associée à l'UFR d'Odontologie de Lyon, Docteur de l'Université Henri Poincaré de Nancy, Doctorat européen en Toxicologie, Chargée d'Enseignement, Chercheur CNRS.

Merci à vous d'avoir accepté de diriger nos travaux. Merci pour tout ce temps que vous nous avez consacré, cette rigueur que vous avez su nous imposer, votre disponibilité, vos conseils, votre soutien en toute circonstance, votre grand investissement dans notre projet et surtout cette gentillesse à notre égard.

A NOTRE JUGE,

Monsieur le Professeur MAURIN Jean-Christophe

Professeur des Universités à l'UFR d'Odontologie de Lyon, Praticien-Hospitalier, Docteur en Chirurgie Dentaire, Maîtrise en Sciences Biologiques et Médicales, Diplôme d'Etudes Approfondies, Docteur de l'Université Claude Bernard Lyon 1, Habilité à Diriger des Recherches, Responsable de la sous-section Odontologie Conservatrice – Endodontie, Vice-Doyen à l'UFR d'Odontologie de Lyon.

Nous sommes très heureux de vous voir siéger parmi les membres de ce jury. Merci pour ces années passées au centre de soins à nous guider. Nous n'oublierons jamais cette 5^{ème} année si formatrice et agréable sous votre enseignement, ainsi que votre bonne humeur que vous savez si bien partager. Merci pour le soutien que vous n'avez eu de cesse de m'apporter.

A NOTRE JUGE,

Monsieur le docteur VILLAT Cyril

Maître de Conférences à l'UFR d'Odontologie de Lyon, Praticien-Hospitalier, Docteur en Chirurgie Dentaire, Ancien Interne en Odontologie, Docteur de l'Ecole Centrale Paris.

Nous sommes fiers de vous compter parmi les membres de ce jury. Vous avec qui l'aventure a commencé il y maintenant 6 ans, vous n'avez eu de cesse de vous investir à Nous transmettre vos connaissances et ce dans la plus grande pédagogie.

A ma Mère,

Merci maman pour ton amour et ton soutien qui sont tous deux inconditionnels. Nous l'avons rêvé, aujourd'hui cela se concrétise.

A ma sœur Sarah,

Merci pour ton soutien et tes conseils qui m'ont toujours guidés.

A mes amis,

Benjamin, Clément, Geo-geo, Marie, David, Seb, avec qui j'ai tellement de bons souvenirs.

Caractérisation de verres
borosilicatés expérimentaux :
Cytocompatibilité des particules
élaborées par fusion/trempe.

Table des matières

I) Introduction

PARTIE 1

I.	Présentation générale – Revue de littérature	13
1)	Description des tissus dentaires sains.....	13
1.1)	La pulpe	14
1.2)	La dentine	14
1.3)	L'émail	15
1.4)	Le ciment	15
2)	Impact de la carie sur les tissus dentaires	15
2.1)	Processus carieux	15
2.2)	Tissus dentaire résiduel	16
2.3)	Déminéralison/Reminéralisation	17
II)	Les verres bioactifs et les restaurations dentaires	19
1)	Historique,mécanique et composition des bioverres	19
1.1)	Composition des bioverres	20
1.2)	Les réactions moléculaires mises en jeu	21
1.3)	Objectifs de la recherche sur les bioverres	23
2)	Interface restauration dentaire / tissus dentaire	25
2.1)	Objets du matériau de restauration	25
2.2)	Les causes d'échecs	26
3)	Application des bioverres au restaurations dentaires : Les ciments verres ionomères	27
3.1)	Description du matériau	28
3.2)	Applications cliniques/thérapeutiques	30
3.2.1)	Prise en charge des lésions cervicales non carieuses chez les personnes âgées.....	30
3.2.2)	Restauration en odontologie pédiatrique	30
3.2.2.1)	Le traitement des dents temporaires.....	30
3.2.2.2)	Comblement de sillons des dents définitives	31
III)	Les Verres Borosilicates	33
1)	Synthèse des borosilicates	34
2)	Caractéristiques physico-chimiques des borosilicates	34

PARTIE 2

I)	Evaluation in vitro de la biocompatibilité des verres Borosilicates PSBS8 et PSBS16	36
	1) cellules	36
	2) Matériels	37
	3) Méthodes	37
	3.1) préparation des dilutions des bioverres	37
	3.2) Evaluation de la prolifération cellulaire par bleu d'Alamar	37
	3.3) Etude de la Morphologie cellulaire par microscopie optique et épi-fluorescence	38
II)	Evaluation des caractéristiques mécaniques des verres Borosilicates PSBS8 et PSBS16	40
	1) Teste de flexion	40
	2) Test de la dureté de Vickers	41
	3) Morphologie par microscopie électronique à balayage (MEB)	42
	4) Etude statistique	42
III)	Résultats	42
	1) Cytocompatibilité des verres borosilicatés	42
	1.1) Prolifération et Activité métabolique des cellules par Alamar blue	42
	1.2) Adhésion cellulaire par microscopie optique	44
	1.3) Morphologie cellulaire par microscopie à épi-fluorescence	44
	2) Résultats des test mécaniques	46
	2.1) Test de micro-dureté de Vickers	46
	2.2) Résistance à la Flexion	46
	2.3) Analyse au Microscope électronique à Balayage	47
IV)	Discussion	48
	Conclusion & perspectives	49
	Bibliographie	51

Liste des figures

Figure 1 : www.medecine-et-sante.com

Figure 2 : Thèse Traitement des lésions carieuses profondes par un curetage partiel : Illustration par un cas clinique de l'étude Deep Caries Treatment (DECAT) soutenue en 2017 par Helene Deuet

Figure 3 : Lindfors NC, Koski I, Heikkila JT, Mattila K, Aho AJ. A prospective randomized 14-year follow-up study of bioactive glass and autogenous bone as bone graft substitutes in benign bone tumors. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010. July;94(1):157–164.

Figure 4 : Mécanisme de bioactivité de bioactives glasses (*Source* : Malhotra N, Kundabala M, Shashirashmi A. Strategies to overcome polymerization shrinkage-- materials and techniques. A review. *Dent Update* 2010;37:115–8, 120–2, 124–5.)

Figure 5 : Baino F, Hamzehlou S, Kargozar S. Bioactive Glasses: Where Are We and Where Are We Going? *J Funct Biomater*. 2018 Mar 19;9(1). pii: E25.

Figure 6 : *Clinical case, Prof. Pierre colon*

Figure 7 : http://www.dentaleco.com/Product/Catalog/Verres_ionomeres

Figure 8 : Biomatériaux cliniques vol2 numero 2 octobre 2017

Figure 9 : JPIO odontologie pédiatrique clinique p.79

Figure 10 : Evolution de la dissolution de PSBS8 et PSBS 16 en fonction du temps

Figure 11 : Cellules pulpaire issus d'une culture primaire de souris (OCCM.30) observée au Microscope Optique. (Iconographie : LMI -UMR CNRS 5615)

Figure 12 : Évaluation de l'activité métabolique des fibroblastes gingivaux par Alamar Blue®

Figure 13 : Observation au microscope optique des cellules pulpaires mise en contact avec éluats des verres bioactifs étudiés après 24h.

Figure 14 : Observation par imagerie à épi-fluorescence des cellules pulpaires mises en contacts avec éluats des verres bioactifs étudiés après 24h

Figure 15 : Comparaison de la microdureté de Vicker entre deux échantillons de PSBS et FUJI IX

Figure 16 : Valeurs de résistance à la flexion des verres bioactifs étudiés après 1 et 7 jours de maturation.

Figure 17 : Observations au MEB de la surface des verres borosilicatés expérimentaux et du ciment verre ionomère FUJI-IX

Liste des tableaux

Tableau 1 : Tableau des différentes applications des bio-verres au thérapeutiques médicales

Tableau 2 : Matériels utilisés pour la méthodologie de culture cellulaire

Tableau 3 : Pourcentage de viabilité cellulaire en fonction du type, de temps de contact et de la concentration des borosilicates (* <0.05).

Liste des abréviations

CVI : Ciment Verre Ionomère

CVIMAR : Ciment Verre Ionomère Modifié par Adjonction de Résine

MEB : Microscopie Electronique à Balayage

ICDAS : International Caries Detection and Assessment System

HV : Vickers

N : Newton

Nm : Nanometre

AL2O3 : Alumine

SiO2 : Dioxyde de Silicium

K2O : Oxyde de potassium

CaO : Oxyde de calcium

P2O5 : Pentoxyde de Phosphore

Na2O : Oxyde de Sodium

B2O3 : Trioxyde de Bore

HA : Hydroxy Apatite

Fe2O3 : Oxyde de Fer

ISO : Organisation Internationale de Normalisation

INTRODUCTION

La préservation de la vitalité des tissus dentaires est aujourd'hui un axe capital autour duquel s'articulent deux approches thérapeutiques majeures :

- La dentisterie minimalement invasive qui concerne les procédures opératoires traitant les lésions dentaires à un stade de développement précoce avec un minimum de perte tissulaire [1].
- La reminéralisation des tissus dentaires (lésion carieuse ou érosive) permettant une approche non-invasive. L'émail est le premier tissu concerné par cette deuxième approche, mais la reminéralisation de la dentine permet de traiter un certain nombre de sensibilités, mais aussi de pratiquer l'éviction partielle des tissus cariés de plus en plus étayée par les travaux récemment publiés [2][3].

Les chirurgiens-dentistes sont confrontés quotidiennement aux lésions carieuses et érosives. La détection puis la reminéralisation de ces lésions à un stade initial doit faire partie de toute approche médicale actuelle. Même s'il est vrai que la prévalence de la carie dentaire a connu une nette diminution dans les pays industrialisés au cours des dernières décennies, il apparaît que l'indice carieux est toujours élevé chez les enfants et les adultes [4]. Le nouvel indice ICDAS (*International Caries Detection and Assessment System*) qui prend en compte les stades initiaux de déminéralisation, et non plus seulement les lésions cavitaires, présente un intérêt majeur dans la prévention précoce des lésions carieuses et le développement des thérapeutiques de reminéralisation [5][6]. Concernant l'érosion, la prévalence ne cesse d'augmenter dans les pays industrialisés du fait des modifications des habitudes alimentaires. D'après l'étude de *Muller-Bolla et Al.* L'érosion dentaire touche 39% de la population étudiée (adolescents de la région des Alpes-Maritimes – Indice Basic Erosive Wear Examination) [7]. La technique d'élimination des tissus carieux qui présente la meilleure efficacité est celle qui combine une efficacité optimale et un potentiel invasif minimum.

Alors comment faire en sorte de restaurer les dents mais également de les rendre plus résistantes aux attaques bactériennes et chimiques toute en préservant la vitalité des tissus environnants et par conséquent éviter les échecs de restauration et les restaurations secondaires ?

Après de nombreuses années, la recherche a permis de mettre au point des restaurations dentaires dites bio-actives, capables d'interagir avec les tissus environnants, et même de

reminéraliser les tissus déminéralisés de la dent notamment grâce aux verres bio-actif. C'est ces biomatériaux qui vont nous intéresser dans cette étude.

Dans ce contexte, nous avons souhaité évaluer *in vitro* le comportement biologique et mécanique de verres bio-actifs borosilicatés expérimentaux. Une partie de ces bioverres a été intégrée dans un verre ionomère commercial à différents taux de particules expérimentaux. Afin d'évaluer l'apport de particules borosilicatés expérimentaux. L'objectif clinique est de pouvoir reminéraliser la dentine lors de notre procédure de collage afin de:

- Préserver la vitalité pulpaire en permettant de reminéraliser la dentine infectée ou affectée lors des techniques d'éviction carieuse partielle.
- Prévenir l'apparition de lésions carieuses secondaires à l'interface dentine/restauration.
- Lutter contre la dégradation de matériaux de restauration et par conséquent augmenter leur longévité.

La première partie cette thèse rappellera, la structure, la composition des tissus dentaires sains ainsi que le processus carieux, nous étudierons les objectifs des matériaux d'obturations, les causes d'échecs des restaurations, et nous soulignerons également comment les verres bioactifs améliorent les restaurations dentaires. Nous décririons les avantages et inconvénients de ce matériau, ses applications thérapeutiques, mais également ses limites.

Dans un deuxième temps, nous aborderons certains de verres bioactifs novateurs dans le domaine du Biomédicale, les verres Borosilicates. Nous étudierons la particularité de ces verres bioactifs, selon une étude expérimentale afin d'analyser les résultats *in vitro*.

I. Présentation générale – Revue de littérature

Cette revue de littérature sera dans un premier temps consacrée à la composition des tissus dentaires sains, du processus carieux. Dans un second temps, nous aborderons les matériaux de restauration, les causes d'échecs des restaurations et l'intérêt des bioverres dans les restaurations dentaires. Pour finir, nous décrirons les verres bio-actifs actuellement utilisés et les caractéristiques des verres borosilicatés utilisés dans cette étude.

1) Description des tissus dentaires sains

Les dents sont constituées de quatre tissus [8] : un tissu organique pur, la pulpe ainsi que trois tissus minéralisés l'email, le cément et la dentine. La dent entretient un lien étroit avec son parodonte, lui-même constitué par l'os alvéolaire, le ligament parodontal et de la gencive. (Figure1)

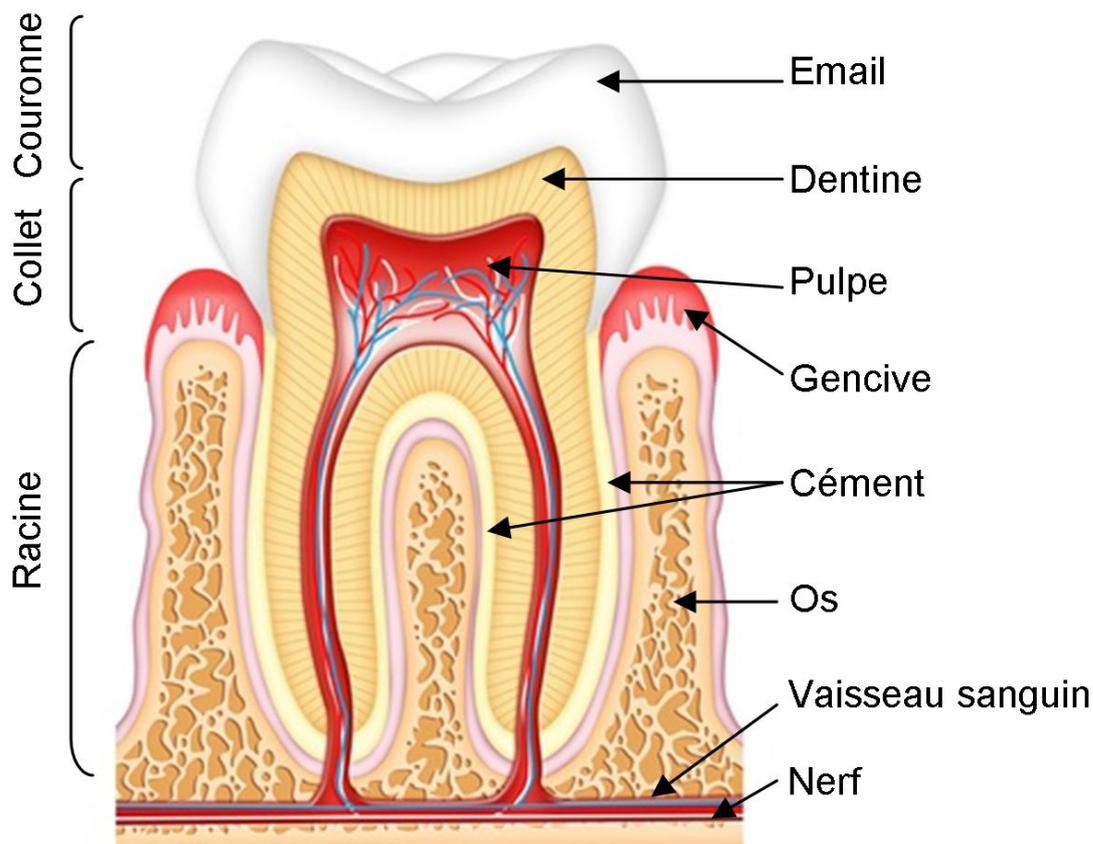


Figure 1. *Shémas des différents tissus de la dent et du parodonte* [8]

1.1) La pulpe :

- il s'agit de la structure profonde de la dent, elle est composée de deux parties, la pulpe camérale (partie coronaire/dans la couronne de la dent) et la pulpe radulaire.

La pulpe est un tissu vivant constituée de vaisseaux sanguins qui apportent tous les éléments nécessaires à la formation de la dent et alimente les odontoblastes qui synthétisent la dentine, de nerfs qui permettent la proprioception et de vaisseaux lymphatiques.

On y retrouve une matrice extracellulaire avec des fibroblastes, des lipides, des métalloprotéases, des odontoblastes et des cellules souches.

Principales cellules :

-les fibroblastes : ils vont fabriquer la matrice extracellulaire, et sont capables de se différencier en odontoblastes.

-les odontoblastes se sont les bâtisseurs de la dentine, ils vont synthétiser la matrice organique de la dentine et réguler ça minéralisation

1.2) L'émail :

-Tissu le plus minéralisé du corps humain, il est constitué à 97 % de sels minéraux (cristaux d'hydroxyapatite) pour seulement 3 % de phase organique. Ce tissu extrêmement solide est le premier rempart face aux attaques extérieures que peut subir la dent. C'est la phase minérale qui lui donne ces caractéristiques et cette solidité. C'est un processus complexe d'échanges ioniques avec variation de pH (alternance de cycles acide/basique/neutre) réguler par les améloblastes et est limiter dans le temps car les améloblastes disparaissent ensuite de façon définitive. C'est-à-dire qu'une fois la couronne dentaire formée le corps humain n'est plus capable de recréer de l'émail.

1.3) La dentine :

Deuxième tissu le plus minéralisé, la dentine est composée de 70 % d'une phase minérale (cristaux d'hydroxyapatite) et de 30 % de molécules organiques (essentiellement du collagène). La structure de la dentine est poreuse : des canaux parcourent la dentine et transmettent des informations aux nerfs, notamment en cas de choc thermique ou d'attaque acide .

La matrice de la dentine est secrétée par les odontoblastes, ce sont ces mêmes odontoblastes qui régulent la minéralisation de cette matrice.

1.4) Le ciment : Avec un plus fort degré de minéralisation que la dentine mais plus faible que celui de l'email, le ciment possède deux grands rôles majeurs. Le premier est un rôle de protection pour les racines, et le deuxième est un rôle de maintien de la dent dans son alvéole et cela grâce aux fibres du ligament parodontal qui viennent s'insérer dans le ciment à la surface des racines pour rejoindre l'os alvéolaire. Le ciment n'est ni vascularisé, ni innervé et il se caractérise par le fait qu'il y est une apposition progressive de ciment au tour des racines tout au long de la vie.

2) Impact de la carie sur la dent

2.1) Le processus pathogénique

La carie est une maladie infectieuse d'origine bactérienne qui détruit progressivement la dent par déminéralisation de ses tissus durs. Elle évolue toujours de l'extérieur vers l'intérieur de la dent en formant une cavité.

Il existe un équilibre dans la flore bactérienne buccale qui est constituée de plus de 500 espèces bactériennes différentes.

Dans certaines conditions les mécanismes pour maintenir l'homéostasie dans cette flore sont débordés, par un excès d'attaques acides, une alimentation trop riche en sucres, un manque d'hygiène [9]. De par ce déséquilibre certaines bactéries cariogènes vont proliférer jusque devenir prédominantes notamment *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* et *Actinomyces*. Il est prouvé aujourd'hui que la fréquence d'apport en hydrates de carbone fermentescible est en grande partie responsable de ce déséquilibre. [10]

Dans leur métabolisme, les bactéries se nourrissent et relarguent des acides organiques. Ce sont ces acides qui vont attaquer les cristaux d'hydroxyapatite qui constituent la phase minérale de la dent, en commençant par l'émail puis la dentine, cela expose peu à peu le tissu pulpaire de la dent à la cavité buccale ce qui explique les douleurs faces au froid et chaud.

2.2) Tissus dentaires résiduels

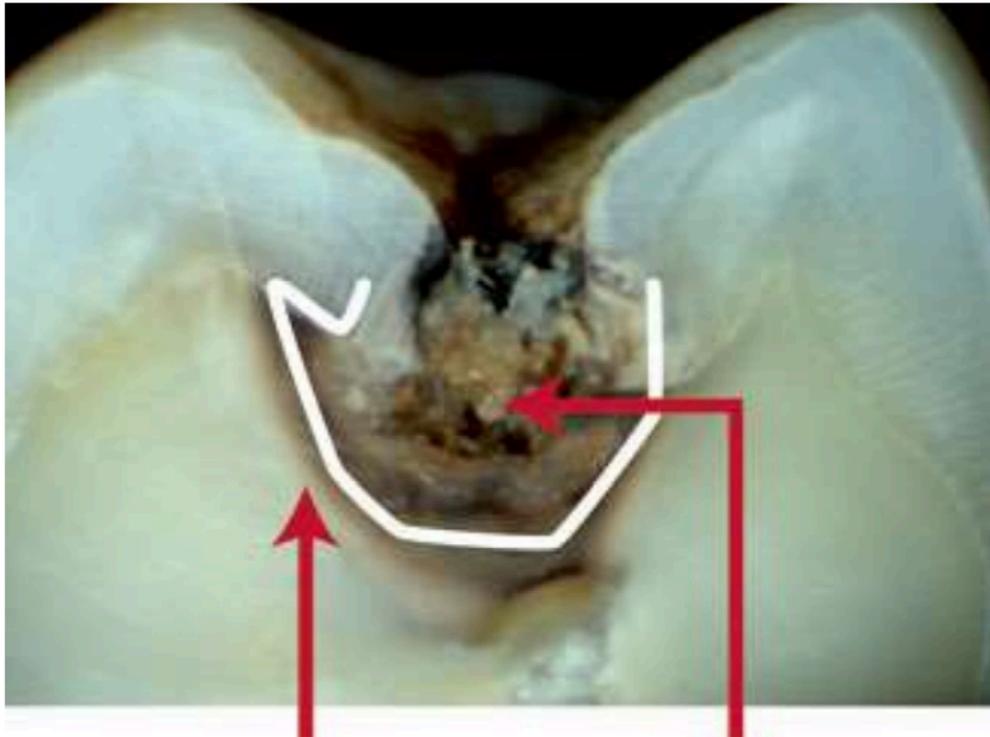
Les odontoblastes primaires qui sont à l'origine de la formation de la dentine maintiennent leur capacité à créer de la dentine temps que la dent est vitale. Si ces cellules sont détruites, des cellules précurseur mésenchymateuses présentes dans la pulpe sont capables de se différencier en de nouveaux odontoblastes.

Lorsque la dentine subit une attaque ces cellules affluent dans la zone sous odontoblastique. Elles sont capables de synthétiser une nouvelle dentine mais dont la structure moléculaire varie de la dentine originelle dite primaire.

Suite à une carie, il existe différentes formes de dentine sous plusieurs formes : la dentine infectée par les bactéries cariogènes, celle-ci sera retirée au moment du curetage dentinaire, et la dentine affectée qui elle pourra être conservée.

Cette dentine affectée est moins minéralisée que la dentine saine.

Une fois la dentine infectée éliminée par un praticien, la dentine affectée et ses tubules qui communiquent avec la pulpe se retrouvent exposés à la cavité orale. Le risque de sensibilité et de reprise carieuse est alors très élevé. Il est alors nécessaire de restaurer la dent afin de protéger ce tissu sensibilisé.



Dentine Affectée

Dentine infectée

Figure 2. Illustration par photo d'une dent cariée en coupe transversale de la dentine affectée et la dentine infectée [11]

2.3) Demineralisation et remineralisation

La déminéralisation se définit comme l'action d'extraire certains éléments minéraux constitutifs (Calcium – Phosphate) des tissus minéralisés par dissolution acide. La déminéralisation dentinaire peut être d'origine carieuse ou érosive [12].

Le processus de déminéralisation dentinaire est similaire au processus intervenant au niveau amélaire, mais il est plus complexe du fait de l'hétérogénéité de structure de la dentine. En effet, d'une part, les cristaux d'hydroxyapatite dentinaires sont différents des cristaux amélaire car ils présentent une plus forte proportion de carbonates et les cristaux résultant sont plus petits et plus vulnérables aux attaques acides [13]. D'autre part, l'hétérogénéité de composition de la dentine et la présence de nombreux tubules (augmentation de la surface de contact des cristaux) facilitent la dégradation en milieu acide.

La reminéralisation est l'enrichissement en sels minéraux d'un minéral, d'une solution ou d'un tissu minéralisé ayant auparavant subi une déminéralisation [1][12]. Lorsque le pH retrouve des valeurs neutres (proche de 7), les ions calcium et phosphate initialement dissous peuvent précipiter à nouveau pour recréer des cristaux phospho-calcique [14].

Des échanges ioniques permanents peuvent se produire entre l'environnement buccal et les cristaux d'hydroxyapatite. Par exemple, les ions magnésium et sodium peuvent se substituer aux ions calcium, les ions fluorures et chlorure aux hydroxyles, et les ions carbonates aux hydroxyles ou aux phosphates. La substitution en fluor diminue la solubilité des cristaux, au contraire celles en carbonates l'augmente [15]. Ce modèle de variabilité ionique (substitution, échange et adsorption des ions) reflète l'environnement immédiat du cristal et est utilisé cliniquement pour modifier la structure des cristaux, par exemple en les exposant à un environnement riche en fluor [15].

Pour la reminéralisation des tissus dentaires, il faut considérer la trame minérale, la trame collagénique et l'eau qui favorise le transport ionique. La reminéralisation amélaire, du fait de la structure quasi uniquement minérale de l'émail, est plus simple à appréhender que la reminéralisation dentinaire. La reminéralisation dentinaire est spécifique car elle peut être due à deux processus :

Des échanges ioniques ou une modification du pH : matériaux à base de fluor, d'agents non-fluorés, d'agents avec une composante calcique.

- Une réactivation des odontoblastes et la formation de dentine tertiaire : hydroxyde de calcium, ciments à base de silicates de calcium.

Les différentes techniques permettant la reminéralisation dentaire sont

- **Reminéralisation par le fluor / bioverres** : Des systèmes adhésifs contenant des particules de fluor sont désormais disponibles. Les particules de fluor devraient permettre de reminéraliser la matrice de collagène. Cependant, leurs effets sont encore controversés [16]. Les verres bioactifs ont été proposés pour reminéraliser la matrice collagénique des tissus dentaires

- **Reminéralisation biomimétique** : Une des stratégies pour limiter la dégradation de la couche hybride est de remplacer l'eau piégée entre les fibres de collagène par de nouveaux minéraux [17]. La nanotechnologie a inspiré la minéralisation biomimétique en générant des ions calcium et phosphates à un pH élevé. Cette minéralisation biomimétique utilise des analogues polyanioniques pour imiter la double fonction de la matrice protéique dentinaire en renfermant et stabilisant les nanoprécurseurs amorphes afin qu'ils génèrent des grappes de prénucléations et créer un modèle afin de guider l'assemblage des cristaux d'apatites intrafibrillaires au sein des fibres de collagène [17].

II) Les verres bioactifs et les restaurations dentaires

1) Historique, composition et mécanismes d'action

Lorsque l'on parle de verre, on pense habituellement à un objet mais en réalité le verre possède de nombreuses applications. La société américaine d'essais de matériaux a défini en 1945 un verre, comme étant un produit de fusion inorganique qui s'est refroidi à l'état rigide sans cristallisation.[18]

Les verres bioactifs ont totalement modifié l'approche des biomatériaux, car au-delà de leur capacité à ne pas être nocifs pour l'organisme ou (bio inerte), ils sont capables d'induire une réponse biologique en libérant des ions par leur dégradation une fois introduit dans l'organisme. Depuis l'apparition des verres bioactifs, les nouveaux matériaux doivent non seulement être biocompatibles mais également bio actifs. Ce sont de véritables dispositifs médicaux utilisés à des fins thérapeutiques ou non, et appelés à interagir avec les systèmes biologiques ou destinés à apporter une réponse biologique après introduction dans l'organisme. ils trouvent aujourd'hui de nombreuses applications, répertoriées dans le tableau 1 et notamment en dentisterie.[18]

Tableau 1: Tableau des différentes applications des verres bio-actifs au thérapeutiques médicales [31]

Application	Matériaux
Orthopédie	Al ₂ O ₃ , ZrO ₂ stabilisé, Poudre de verres bioactif
Dépôt pour fixation bioactive	HA, Vitro céramiques bioactives
Comblement osseux	Phosphate tricalcique, sel de phosphate de calcium
Implants dentaires	Al ₂ O ₃ , HA, Verres bioactifs
Tendons et ligaments artificiels	Composite fibre de carbone/PLA
Oblitération d'une poche parodontale	HA, Composite HA-PLA, Phosphate tricalcique, sel de phosphate de calcium, Verres bioactifs
Augmentation de la crête alvéolaire	HA, Composite HA-os autologue, Verres bioactifs
Reconstruction maxillofaciale	Al ₂ O ₃ , HA, Composite PE-HA, Verres bioactifs
Chirurgie spinal	Vitro céramique bioactives, HA
Traitement thérapeutique de tumeurs	Verres aluminosilicate dopé aux terres rares
Valves artificielles du cœur	Dépôt pyrolitique de carbone
Otolaryngologie	Al ₂ O ₃ , HA, Verres bioactifs, Vitro céramique bioactives, Composite PE-HA

1.1) Composition des verres bioactifs

Les bio verres ont été découverts par le professeur Larry Hench en 1969. Il s'agit du premier matériau dit bio actif c'est-à-dire avec la capacité d'interagir avec l'environnement biologique une fois introduit dans l'organisme [18]. Les premiers verres bioactifs sont nommés 45S5 et contiennent 45% de SiO₂, 24,5% de CaO et de Na₂O, et 6% en masse de P₂O₅. Ce verre bioactif est commercialisé sous le nom de *Bioglass*, il permet la régénération osseuse.

Ce verre bioactif est encore la référence aujourd'hui avec le meilleur taux de bioactivité.

L'introduction d'éléments autres que les ions Ca et Na dans la matrice du verre provoque de larges modifications de l'indice de bioactivité. A titre d'exemple, Greenspan a montré que l'introduction de 3% d'Al₂O₃ supprimait la bioactivité du verre [19].

Des études concluantes démontrent que l'ajout de certains ions tel que Zn²⁺, Cu⁺, Ag⁺, Ce⁴⁺ et Sr²⁺ permettent d'augmenter l'activité antibactérienne des bio verres ce qui à terme pourrait permettre de diminuer l'utilisation des antibiotiques [20]

1.2) Les mécanismes d'action mis en jeux

Ce qui caractérise principalement le verre bio-actif, c'est sa capacité à créer de l'hydroxyapatite. Pour induire la formation d'hydroxyapatite, il se met en place un processus d'échanges ioniques notamment de calcium et de sodium qui sont libérés par les verres bioactifs suite à une hydrolyse causée par l'eau présente dans le milieu environnant le biomatériau, et hydrolyse également les silanols présent en surface des bio verres. La présence de ces ions associés sous cette nouvelle forme moléculaire va permettre la formation de cristaux d'hydroxyapatite[21], La figure 3 illustre de façon schématique les différentes étapes de la formation d'hydroxyapatite.

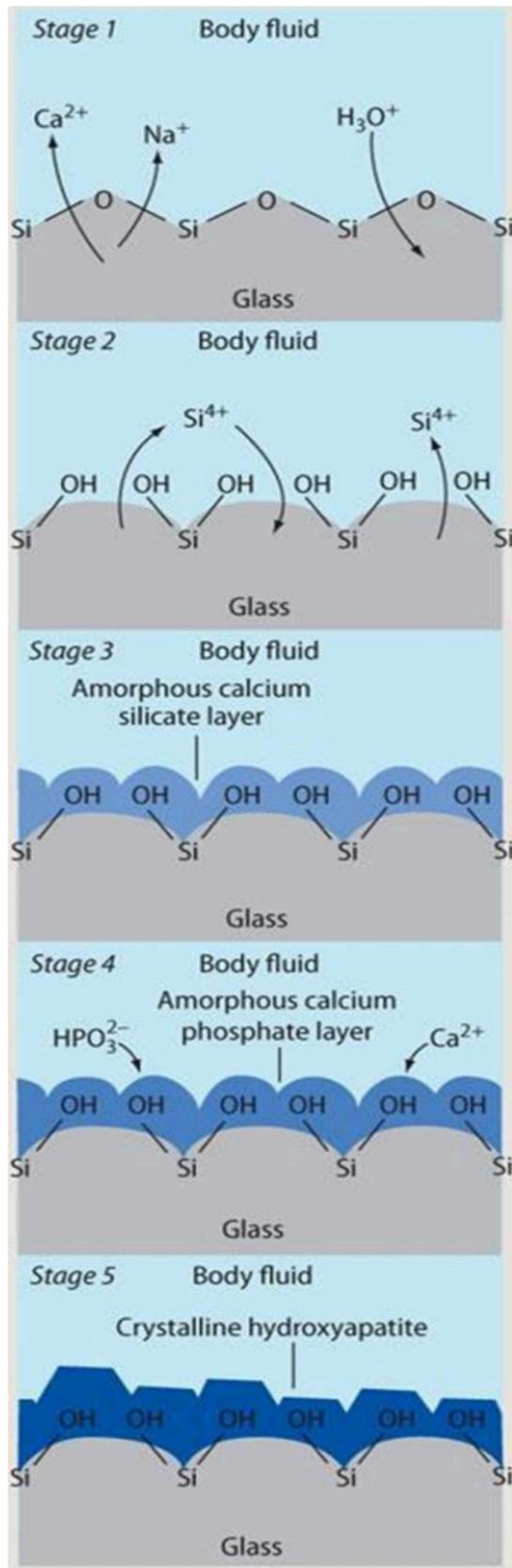


Figure 3 : Formation d'hydroxyapatite à la surface des bioverres schématisés en 5 étapes [22]

Ces cristaux d'hydroxyapatites nouvellement formés stimulent des facteurs de croissances, ce qui a pour conséquence d'attirer les cellules souches et de les guider vers une différenciation en odontoblastes . Ces néo odontoblastes vont alors s'activer et jouer leur rôle en sécrétant de la matrice dentinaire, c'est ce qui explique pourquoi les verres bioactifs ont une liaison extrêmement forte et intime avec l'os.[23]

Les réactions mises en jeu lors de l'introduction des verres bioactifs au contact de la dentine sont décrites dans la figure 4

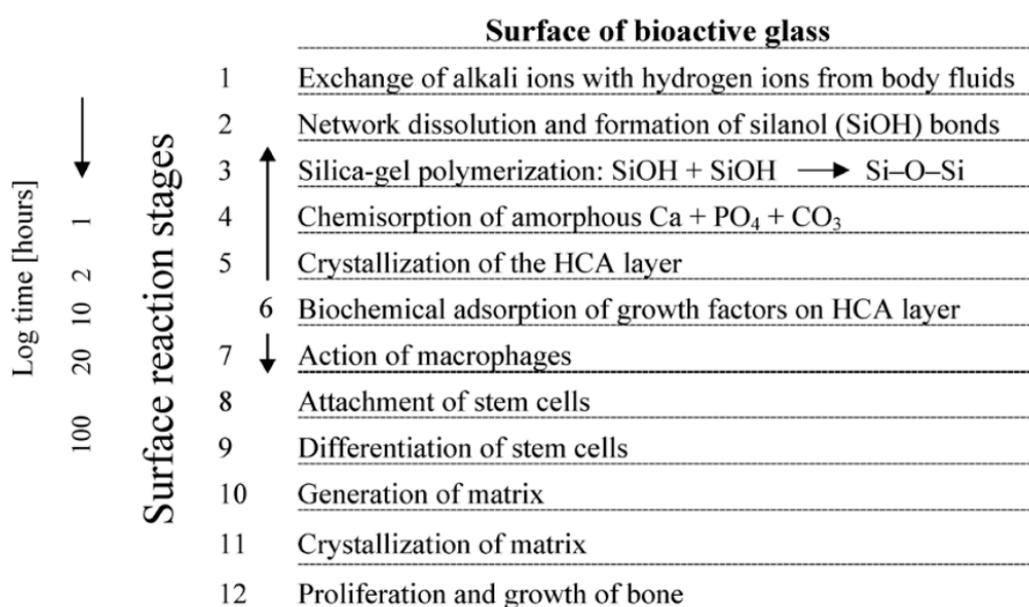


Figure 4 : Mécanisme de bioactivité de bioactive glasses [24]

Cette succession de réaction explique la formation de tissus minéralisés autour du matériau et explique également le lien très intime qui se crée entre le matériau et la dent.

1.3) Les objectifs de la recherche sur les bioverres

Les chercheurs travaillent encore aujourd'hui sur différentes techniques permettant d'améliorer les bio verres notamment en augmentant leurs capacités antibactériennes tout en maintenant leur pouvoir de régénération tissulaire.

Les verres bioactifs ont donc fait l'objet de nombreuses recherches depuis 1970 afin d'améliorer leurs propriétés biologiques et mécaniques.

Aujourd'hui encore la recherche sur les verres bioactifs n'est pas terminée car il existe de nombreuses voies à explorer, comme le montre la figure 5, que ce soit dans leur processus de fabrication, la taille des particules de verres, ou encore leurs compositions chimiques.

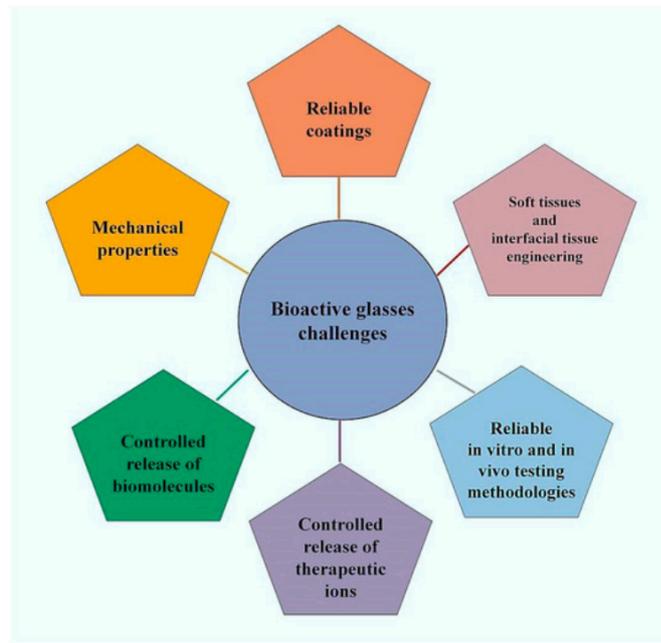


Figure 5. Objectifs future des bioverres appliqués à la médecine [25].

2) Interface restauration dentaire / tissus dentaires

2.1) Objectifs du matériau de restauration



Figure 6: Restaurations à l'amalgame et au composite [26]

Les objectifs des matériaux de restauration dentaire sont très nombreux . En effet, ces matériaux doivent permettre une reconstitution fonctionnelle de la dent suite à la perte de matière de façon pérenne comme le montre la figure 6.

Avant d'approfondir ce point, il semble nécessaire de rappeler le cahier des charges que doit respecter un matériau d'obturation dentaire afin que celui-ci puisse remplir ces objectifs. En effet, certaines propriétés sont capitales.

Tout d'abord les propriétés biologiques, le matériau doit être biocompatible, c'est-à-dire, ne pas entraîner d'agression du tissu pulpaire mais également des tissus environnant la dent. Viennent ensuite les propriétés mécaniques qui sont directement liées à la résistance des matériaux, (dureté, résistance à la traction, résistance à la compression, résistance à la flexion, résistance aux forces de cisaillements, résistance au fluage, résistance à l'abrasion). Elles doivent être le plus proche de celles des dents afin d'obtenir un matériau suffisamment résistant pour résister aux forces qui s'exercent sur les dents et ne pas être iatrogène pour les dents antagonistes. Enfin, les propriétés physiques, le coefficient de conductibilité thermique représente la capacité du matériau à transmettre les variations thermiques, idéalement, il doit également se rapprocher de celui des tissus dentaires calcifiés (1,5 et 2,2 Cal. cm-1. sec-1. °C-1), Il faudra également prendre en compte le coefficient de conductivité électrique qui est l'aptitude d'un matériau à transmettre un courant électrique, ainsi que le coefficient de dilatation thermique

Un matériau qui ne respecterait pas ces propriétés ne pourrait en aucun cas remplir ces objectifs

En outre, le matériau doit assurer la restauration de la fonction masticatoire de la dent en respectant l'occlusion et l'esthétisme. Il doit également permettre de restaurer la phonation : pour permettre la phonation, la langue doit prendre appui sur les dents notamment pour les dents antérieures.

Une caractéristique incontournable du matériau de restauration est la Biocompatibilité, permettant de préserver la vitalité pulpaire et les tissus environnants. De plus, il doit empêcher la récurrence carieuse, pour cela le matériau doit avoir une liaison intime avec le tissu dentaire afin d'empêcher la colonisation bactérienne de l'interface matériau/tissus dentaires, il doit si possible être bio-actif en libérant des ions tels que ions fluorés, de qui va renforcer la structure de l'émail et de la dentine face à une éventuelle attaque acide.

Le matériau doit être capable d'infiltrer totalement tout le substrat dentinaire déminéralisé afin de permettre à la fois une parfaite rétention, mais également un scellement total du tissu exposé.

2.2) Les causes d'échecs

On parle d'échec pour une restauration dentaire à partir du moment où une ré intervention par un praticien est nécessaire . Les principales causes sont :

a) La formation d'une lésion carieuse secondaire :

Il s'agit d'une lésion qui va se former à l'interface entre le matériau d'obturation et le tissu dentaire .Si une telle lésion secondaire se forme, c'est que des bactéries cariogènes ont été capable d'infiltrer cette interface. Cela peut être du

- A la contraction du matériau lors de la polymérisation du matériau . Celle-ci crée un hiatus qui permet une infiltration bactérienne.[27 ;28]
- Une accumulation d'humidité à l'interface matériau de restauration / tissu dentaire provoque une stimulation de la synthèse de métalloprotéases, ce qui engendre une dégradation du collagène présente dans la dentine, mais également une hydrolyse des polymères présents dans la résine.[29]
- La non-adaptation marginale du matériau d'obturation

b) La fracture du matériau d'obturation :

Certains matériaux sont sujets à des phénomènes d'imbibition hydrique secondaire (ciments verres ionomères, compomères) qui vont entraîner une augmentation de leur volume. A terme ce phénomène peut entraîner la fracture du matériau.

c) Les sensibilités post opératoires

3) Application des bioverres aux restaurations dentaires : Les ciments verres ionomères (CVI)



Figure 7 : CVI Fuji IX présenté sous forme de poudre/liquide et de capsules pré-dosées [30]

Les CVI ont vu le jour afin de pallier les problèmes que posaient les silicates et les résines, en particulier un coefficient de dilatation thermique trop élevé, de faibles propriétés mécaniques et une biocompatibilité assez faible [21].

C'est en 1972 que Wilson et Kent inventent le CVI en associant la poudre des silicates avec le liquide des ciments polycarboxylates de Zinc. La composition des CVI est aujourd'hui très différente de celle-ci.

Depuis 1988 - 89 nous assistons au développement de CVI modifiés par addition de résine (les CVIMAR), cette dernière famille de CVI est aujourd'hui la plus utilisée. Depuis quelques années, les CVI condensables (Fuji IX – GC, Ketac Molar – 3M-ESPE) ont fait leur apparition. Ils sont principalement utilisés en odontologie pédiatrique [21].

3.1) Description du matériau

3.1.1) Composition

Les CVI traditionnels sont composés d'une poudre et d'un liquide

La poudre : il s'agit d'un fluoro amino silicate de calcium ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2\text{-CaF}_2$)[33] obtenue par cuisson d'alumine et de silice avec un flux de fluorures de Ca et de sodium, d'aluminium et de phosphates à 1050 - 1350° C. Ensuite refroidi brutalement cela crée du verre, les fragments de verre sont broyés finement jusqu'à obtenir une poudre de granulométrie qui peut aller au maximum jusqu'à 30-40 μm . La taille de la granulométrie aura un impact direct sur les propriétés du CVI, en effet, un CVI à faible granulométrie aura de moins bonnes propriétés Optique comme c'est le cas pour les CVI de scellements.[21]

Le liquide : est une solution aqueuse d'acide polyalkénoïque ($M_n = 10000$ à 30000) qui est un copolymère d'acide acrylique et d'acide itaconique auquel s'ajoutent, suivant les produits, d'autres acides comme l'acide maléique ou l'acide tricarboxylique pour adapter la viscosité

Lors du mélange du ciment, le verre réagit avec l'acide polyacrylique en libérant des ions Ca^{++} (issus du CaF_2) et Al^{3+} (issus du Al_2O_3), qui se lient aux anions carboxyles des molécules de copolymère pour former des polyacrylates de Ca^{2+} et d' Al^{3+} . Il y a aussi libération d'acide silicique, qui entoure les particules de verre, d'un gel silicique.

Voici quelques exemples :

- Riva Self Cure (SDI)
- Fuji IX (GC)
- Fuji Triage (GC)
- Ionofil Plus (Voco)

Avantages :

Les verres ionomères :

- adhérent naturellement à l'émail et à la dentine,
- libèrent des ions fluorures au cours de leur processus de prise.

Inconvénients :

-Sensibilité face aux attaques[31]. L'utilisation de boissons gazeuses acides entraîne une dégradation de la couche superficielle du matériau de restauration, et une augmentation de l'adhérence bactérienne. Le CVI peut être considéré comme un environnement plus favorable à l'adhésion bactérienne. Cela est particulièrement vrai si des substances acides ont déjà détérioré la surface. [31]

Lors de son utilisation on peut appliquer un verni protecteur.

-Propriétés mécaniques faibles : de nombreuses recherches sont en cours afin d'améliorer ses propriétés mécanique, et donc de réduire le risque de fracture du matériau mais également sa sensibilité hydrique notamment au cours de la réaction de prise.[31]

Les ciments verre-ionomères possèdent donc certaines propriétés exceptionnelles qui les rendent très utiles comme matériaux de restauration. Cependant, il existe des limites (notamment fragilité, mauvaise fracture, la ténacité et la sensibilité à l'humidité dans les premiers stades de la mise en place) qui réduisent considérablement les applications de ce matériau.

3.2) Applications cliniques/thérapeutiques

Les CVI sont principalement utilisés en dentisterie restauratrice comme matériaux temporaire chez l'adulte, matériau de restauration des dents temporaires, mais également pour la restauration des pertes de substances cervicales et en prothèse dans le cadre de l'assemblage définitif des éléments périphériques [33]

3.2.1) Prise en charge des lésions cervicales carieuses chez les personnes âgées.

Les études montrent, qu'en général, les ciments ionomères de verres modifiés par une résine (CVIMAR) semblent être préférés, mais dans certaines circonstances, l'utilisation du produit conventionnel est plus appropriée, mais ces données sont controversées [32].



Figure 8 : restauration au CVI d'une lésion cervicale [33]

3.2.2) Restauration en odontologie pédiatrique

3.2.2.1) Le traitement des dents temporaires

Le point essentiel qui pousse les chirurgiens dentistes à utiliser le CVI en dentisterie pédiatrique est sa facilité d'utilisation. En effet, contrairement aux résines composites, l'utilisation du CVI ne nécessite pas l'absence d'humidité et donc la pause d'un champ opératoire. On l'utilisera le CVI notamment dans le cas de caries précoces chez le jeune enfant

3.2.2.2) Comblement de sillons des dents définitives

Les mesures d'hygiène bucco dentaire recommandées ne sont pas toujours respectée chez les enfants, avec une alimentation riche en sucre et le grignotage des caries peuvent très rapidement se former ; c'est pourquoi, il est préférable de combler les sillons des dents définitives chez l'enfant en prophylaxie, afin de diminuer les zones de rétentions bactériennes (fonds de sillon) et aider les dents à résister aux attaques acides .[34]

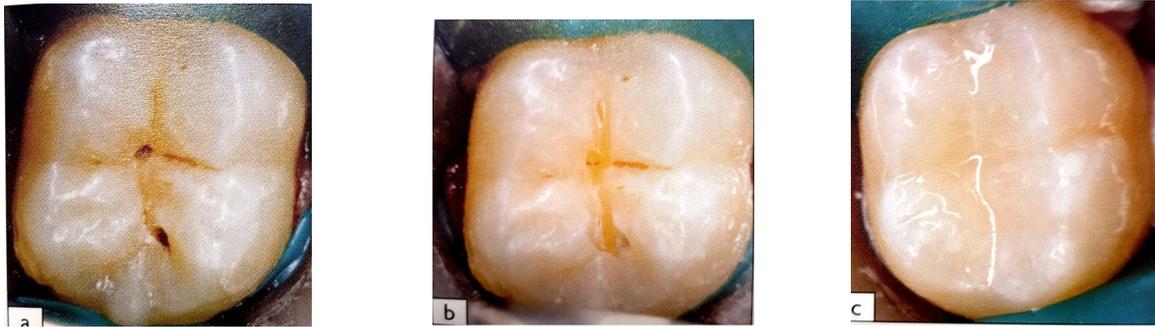


Figure 9 : Comblements des sillons d'une dent définitive chez un enfant Amélioration des propriétés (physico-chimiques, mécaniques et biologiques) [34].

4) Amélioration des propriétés (physico-chimiques, mécaniques et biologiques)

Les ciments verres ionomères font l'objet de recherches en raison de leurs propriétés mécaniques relativement faibles, malgré leurs nombreux avantages tels que la libération de fluorure et la liaison directe aux tissus minéralisés. Des recherches récentes visent à améliorer la bio-activité et également à améliorer les propriétés mécaniques à long terme. [35]

Dans une étude plus récente, Kim et al. (Kim D. 2014) ont développé un ciment verre ionomère sans aluminium dopé au magnésium et au strontium. Ces deux ions agissent comme

modificateurs de réseau et améliorer la bioactivité. Le strontium en particulier augmente les propriétés mécaniques et le taux de prolifération cellulaire osseuse.

Les chercheurs se sont également intéressés aux particules de verres qui composent le CVI. Il a été démontré, que la diminution de la tailles des particules de verres augmente la surface de contact entre les composants du liquide et de la poudre lors de la réaction de prise, ce qui a pour effet d'augmenter la résistance à la traction et à la flexion du ciment.

De plus, l'absence de Na^+ dans ces bioverres peut être bénéfique pour la résistance à la compression des CVI [36].

L'incorporation d'hydrates de doxycycline, fournit un meilleur effet anti-biofilm sans compromettre la libération de fluorure et la micro-dureté de surface de CVIMAR. Cette combinaison a également amélioré l'effet anti-microbiologique à court terme in vivo du CVIMAR après l'élimination partielle des caries. [37]

C'est en 2004 que les premiers essais ont été réalisés afin d'associer des verres bio actifs aux CVI, des poudres de verres bio-actifs de différentes compositions notamment 45S5 ont été mélangées à la poudre de CVI..

Les verres bioactifs forment, contrairement aux matériaux d'implantation utilisés antérieurement, une liaison stable avec les tissus, en particulier les os. [35]. L'incorporation des verres bio-actifs dans le CVI augmente leur bio-activité, mais diminuent les propriétés mécaniques . L'hypothèse selon laquelle Al_3^+ augmente les propriétés mécaniques est confirmée, mais cela se fait au détriment de la bio-activité des CVIs.[35]

De toutes ces études ressort le même résultat : Charger un CVI en verres bio-actifs n'augmente pas les propriété mécaniques du CVI , si la proportion de verre bio-actif dépasse les 12% cela compromet la résistance mécanique du CVI mais cela augmente considérablement leur bio-activité.

III) Les verres Borosilicates

Le verre silicate 45S5 du professeur Hench reste de nos jours le verre bioactif avec la meilleure biocompatibilité. Néanmoins, certaines de ces caractéristiques physico-chimique peuvent encore être améliorées.

Un des problèmes du verre bio-actif 45S5 que l'on cherche à résoudre, est son temps de dissolution après introduction dans l'organisme. En effet une étude a montré que l'on trouve des traces du verres bio-actifs 14 ans après son introduction dans l'organisme lors d'une intervention chirurgicale [38].

Différentes recherches ont été menées afin d'obtenir un verre dont la dissolution serait prévisible.

Il s'agit d'un matériau prometteur qui a été largement étudié en biomédical avec pour applications la réparation des tissus mous et la réparation osseuse.

1) Synthèse des borosilicates

La méthode classique de synthèse des verres est la fusion à haute température (technique *Melt-quenching*). Un mélange d'oxydes, avec SiO₂/P₂O₅ comme formateurs de réseau et CaO/Na₂O comme modificateurs de réseau, est fondu à des températures comprises entre 1000 et 1400°C. Dans le cadre du projet européen BIODENSOL, un projet collaboratif de recherche (Laboratoire Lyon 1 UMR CNRS 5615 – Multimatériaux et interface / Industrie LUCIDEON – Stoke on Trent - UK) une thèse de recherche conduite par Federico Lizzi a permis l'élaboration d'une nouvelle composition de verres bioactifs (Thèse soutenue le 02 mai 2018) [39]. L'objectif a été d'élaborer des verres borosilicatés à séparation de phase pour applications dentaires et d'étudier leur microstructure et leur dissolution en milieu acide. Le nouveau système de verre proposé par le projet BIODENSOL est un borosilicate avec une forte tendance à la séparation de phases. Il est composé de: SiO₂-K₂O-B₂O₃-CaO-Al₂O₃. Il est significatif qu'avant un traitement thermique les verres soient optiquement clairs, mais deviennent opalescents à différents degrés suite à un traitement thermique dépendant du% en poids des éléments de la composition.

2) Caractéristiques Physico-chimiques des borosilicates

La libération d'ions du verre a une influence principalement sur la réaction de prise du ciment, mais également sur le temps de travail. À la fin du durcissement, le matériau continuera à lessiver les ions mais, à un rythme beaucoup plus faible.

La libération d'ions dans une solution acide fournit une indication de ce qui peut se produire dans le ciment verre ionomère lors de la réaction de prise.

Les verres à base de borate et de borosilicate à base de 45S5 ont une capacité plus faible à soutenir la viabilité cellulaire et la prolifération cellulaires est généralement inférieure à celle des verres au silicate correspondants, à la fois en culture directe et en milieux conditionnés par des ions [40].

Cependant d'après la littérature, lorsqu'ils sont mis en solution les verres borosilicates sont sujet à de fortes modifications structurales de leur réseau de par l'infiltration de protons qui se substituent à un ion alcalin ; le verre devient alors, bien plus sensible à la corrosion, ce qui explique sa vitesse de dissolution qui est plus grande que celle documentée dans la littérature. Cette propriété a un réel intérêt d'un point de vue biomédical, car plus le temps de dissolution du verre est faible et plus rapide est la formation des cristaux d'hydroxyapatite, or ce sont ces cristaux qui vont permettre la régénération tissulaire .

Une autre caractéristique très intéressante des verres borosilicates, est leur capacité à se transformer entièrement en hydroxyapatite. En effet, une étude a montré que les particules de verre au borate à base de 45S5 sont presque entièrement converties en hydroxyapatites en moins de quatre jours, une fois introduit dans une solution de fluide corporel simulé , alors que seule une conversion partielle d'environ 50% des particules de verre de silicate 45S5 était détectée même après 70 jours d'incubation. [41]

Il est connu et accepté que la couche d'hydroxyapatite formée entre le tissu dur et le biomatériau facilite la fixation d'ostéoblastes/odontoblastes et améliore la liaison entre les deux surfaces.

En raison de sa nature amphotère, Al_2O_3 peut réagir avec les bases et les acides. Selon le pH du milieu, il précipite sous forme d'aluminium hydroxyde ou aluminate alcalin lorsqu'il est libéré dans la solution. Or l'aluminium a un effet toxique sur les cellules neurologique et favorise l'apparition de maladies neurodégénératives notamment la maladie d'Alzheimer [42].

D'après une étude récente l'aluminium présent dans les matériaux de restauration dentaires à un réel impact sur la santé neuronale. [43] C'est pourquoi les chercheurs ont fait en sorte de supprimer l'aluminium de la composition de verres borosilicate.

D'après une étude récente [39], intégrant des verres bioactifs sans aluminium PSBS8 et avec aluminium PSBS16 nous savons que la perturbation du réseau de silice est maximisée pour le verre bioactif sans Al_2O_3 PSBS 8. Voir figure 10

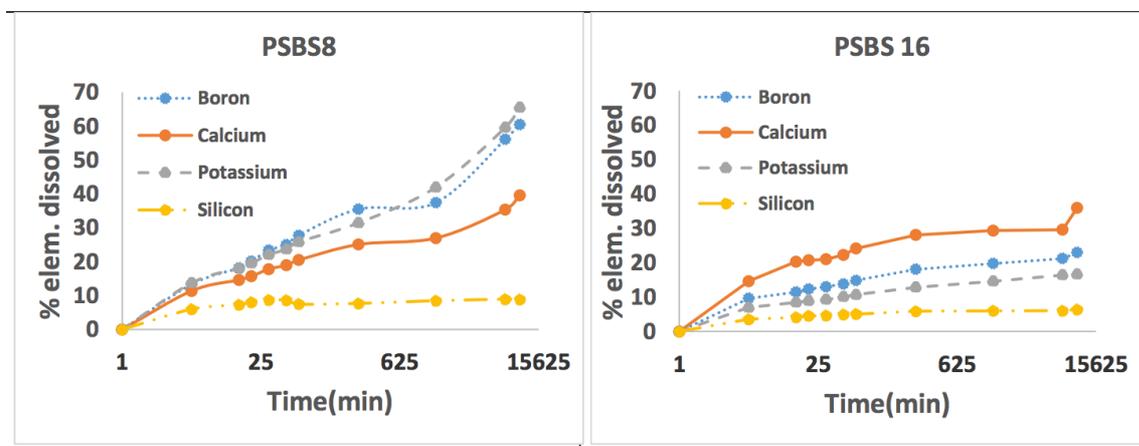


Figure 10 : Evolution de la dissolution de PSBS8 et PSBS 16 en fonction du temps [39]

II. Partie expérimentale

Cette partie est dédiée à l'étude *in vitro* de nouveaux verres borosilicatés développés dans le cadre du programme Européen BIODENSOL entre le Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces (UMR CNRS 5615) et l'Industrie anglaise LUCIDEON – Stoke on Trent - UK). Cette thèse d'exercice est la continuité des travaux de thèse de recherche de F. Lizzi (31).

Différents protocoles de recherche ont été réalisés dans le cadre de cette thèse d'exercice. Un des premiers protocoles a eu pour objectif d'évaluer la cytocompatibilité des verres borosilicatés le PSBS8 et le PSBS16.

Cette étude expérimentale a été effectuée au sein de l'équipe Biomatériaux du Laboratoire Multimatériaux et Interfaces (LMI – UMR CNRS 5615), Faculté d'odontologie de Lyon. Les images MEB ont été réalisées au Centre Technologique des Microstructures (CT μ) de l'Université Claude Bernard Lyon 1.

I. METHODOLOGIE DE CULTURE CELLULAIRE – CYTOCOMPATIBILITE

1. Cellules

Les cellules utilisées sont des cellules pulpaires issus d'une culture primaire de la pulpe dentaire de dents extraites (après consentement éclairé). Les explants sont placés dans un milieu de culture BME « *Basal Medium Eagle* » additionné d'acide ascorbique (50 μ g/ml), 10% de sérum de veau fœtal, 5 % de streptomycine/pénicilline, 1 % d'amphotéricine B et 1% de vitamine C (Tableau 2). Les cellules sont maintenues en culture à 37°C dans une atmosphère humidifiée contenant 5% de CO₂ pendant 6 à 7 semaines. Tous les 2-3 jours environ, le milieu des cellules est renouvelé afin de leur fournir de nouveaux nutriments (technique d'explants développée par le Pr JC. Maurin). Dans ces conditions, les cellules présentent alors une morphologie de type fibroblastique (Figure 11).

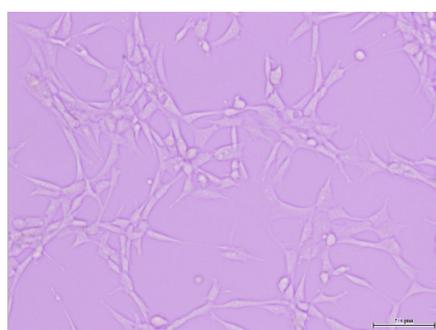


Figure 11 : Cellules pulpaires issues d'une culture primaire d'explants humains observées au Microscope Optique. (Iconographie : LMI -UMR CNRS 5615)

Les verres borosilicatés se présentent sous forme de poudre sont conservés avant l'expérience à 4°C. Les manipulations sont réalisées sous un PSM (hotte à flux laminaire) afin de travailler dans un environnement/atmosphère stérile et d'éviter les contaminations microbiennes des cultures et des échantillons.

2. Matériels utilisés

La liste du matériel utilisé pour la partie expérimentale est résumée dans le tableau 2.

Tableau 2: Matériels utilisés pour la méthodologie de culture cellulaire. (NA : Non Applicable)

MATERIELS	REFERENCE	SOCIETE	LOT
Sérum de veau fœtal	11560506 <i>Heat Inactivated FBS</i>	Thermo Fisher Scientific France	08Q077OK
Antibiotique	Pen-Strep 15140-122	Gibco Life Technologies	190859
Antifongique	Amphotéricine B	PAN-Biotech, Aidenbach, Allemagne	POO12-2751
Centrifugeuse	UNIVERSAL 320R	HETTICH, Bäch SZ, Suisse	
Verres bioactifs	ONaMBG (caractéristiques dans chapitre I.3.C)	LUCIDEON, Stoke-On-Trent, UK	
Compteur de cellules	Scepter™ Handheld Cell Counter	MILLIPORE, USA	Lot n°147695 Série n°A60064S9
Incubateur	Multi-gas incubator	MCO-5M-PE Panasonic	099150
Microscope Optique avec module à épifluorescence	Microscope CKX41, Caméra DP21	Olympus, France	NA
MEB	CTμ : FEI-Quanta™ 250	FEI, Hillsboro, USA	NA
Milieu de culture	PriGrow III	Abm® materials for life, Richmond, BC, Canada	TM003 – n°SRNBF6341
PBS (Phosphate Buffered Saline)	Gibco® by life technologies™ - pH=7,4	ThermoFisher Scientific, France	Lot n°1782156 Ref n°10010-015
Trypsine	Trypsine-EDTA 0,05%/0,02% dans du PBS	ThermoFisher Scientific, France	Lot n°1908839 Ref n°15090-046

3. Méthodes

3.1) Préparation des dilutions des bioverres

Après stérilisation des échantillons sous lumière Ultra Violet (254-360 nm) pendant 20 minutes, la dilution des (PSBS8 et PSBS16) est préparée dans le milieu de culture complet. Deux concentrations ont été testées : 500 µg/ml et 1000 µg/ml.

La cytocompatibilité a été évaluée après contact direct des verres bioactifs avec les cellules (particules + le milieu de culture directement en contact des cellules) ou après contact indirect (le milieu d'extraction des particules est mis en contact des cultures).

Le milieu d'extraction est obtenu après incubation (37°C) des poudres de verres bioactifs en contact d'un milieu de culture pendant 24 heures selon la Norme ISO 10993 [44].

Ces tests intègrent un contrôle négatif (puits contenant des cellules dans du milieu sans verres-bioactifs) et un contrôle de référence (puits contenant des cellules en présence des mêmes concentrations du ciment verre-ionomère Fuji IX commercialisé par la société GC).

Un triplicata de chaque concentration a été testé et l'expérimentation a été répétée trois fois.

3.3) Evaluation de la prolifération cellulaire par bleu d'Alamar

La prolifération des cellules est testée afin d'étudier l'effet des nouveaux verres borosilicatés sur des cellules représentatives de la cavité buccale. En effet, on observe si ces verres expérimentaux ont un effet négatif (inhibition de la croissance cellulaire, cytotoxicité) ou positif (favorise la prolifération) sur cellules pulpaires. Pour ce faire, le test du bleu d'Alamar. (Alamar blue) est utilisé avec comme colorant indicateur, la résazurine (appellation chimique: 7-hydroxy-10-oxidophenoxazin-10-ium-3-one). C'est un composé non fluorescent, de couleur bleue, soluble dans l'eau, non toxique et qui passe à travers la membrane des cellules. Il permet de mesurer la viabilité cellulaire en évaluant son activité métabolique. En effet, ce colorant est réduit au niveau mitochondriale en un composé de coloration rose-violacé: la résorufine. La fluorescence émise est proportionnelle à la quantité de la résorufine produite et par conséquent au nombre de cellules métaboliquement actives.

Le protocole suivi pour mesurer la cytotoxicité et la prolifération cellulaire à l'aide d'Alamar Blue[®] est le suivant :

- ∞ Une quantité d'Alamar Blue[®], égale à 10% du volume totale (du milieu de culture) dans le puits, est ajoutée de manière aseptique et mélangée par aspiration à l'aide d'une micropipette.
- ∞ Les cultures avec Alamar Blue[®] sont incubées pendant 5 heures.
- ∞ La cytotoxicité ou la prolifération sont mesurées en utilisant un lecteur de plaque Tecan (infinite M200 Pro, Tecan France) qui mesure à la fois l'absorbance et la fluorescence.
- ∞ Les cellules sont excitées à une longueur d'onde de 540 à 570 nm. L'émission de fluorescence est lue à 580-610nm. L'intensité de la fluorescence est mesurée : les données sont transmises par l'ordinateur et retranscrites sous forme d'intensité de fluorescence. Les mesures ont été réalisées à 1, 3 et 5 jours pour suivre l'évolution de la population cellulaire au cours du temps après contact direct et indirect des verres bioactifs étudiés. Les résultats sont exprimés en

pourcentage de viabilité par rapport à 100% de cellules contrôles. Un duplicata de chaque échantillon (pour les deux concentrations) a été testé et l'expérimentation a été répétée trois fois.

3.4) Morphologie cellulaire par microscopie optique et epi-fluorescente

La morphologie et l'étalement cellulaire en contact indirect des verres borosilicatés et du Fuji IX ont été étudiés par microscopie optique et par microscopie à épi-fluorescence. L'observation a été réalisée à la concentration de 500 µg/ml et le test intègre également un control négatif (cellules sans le milieu d'extraction des bioactifs).

Les cellules ont été disposées dans des plaques de culture de 24 puits à la concentration de 10^4 cellules par ml et par puit en présence ou en absence du milieu d'extraction des verres étudiés. Après 24h d'incubation, les cellules ont été fixées avec du Glutaraldéhyde dilué à 4% dans du PBS pendant 15 min.

La membrane des cellules a été perméabilisée avec 1% de Triton X-100 pendant 5 minutes à température ambiante. Après un lavage avec du PBS, le marqueur fluorescent, la Phalloidine Alexa fluor 488, a été ajoutée (0,5 µg / mL, dilution 1/100 dans PBS-BSA à 0,1%) dans les échantillons puis ils ont été incubés à 37°C pendant 30 min. Les échantillons ont ensuite été rincés avec du PBS à nouveau et cette fois, les noyaux ont été marqués en incubant les échantillons dans de l'Iodure de propidium (PI) à 37°C pendant 5 min. Enfin, les échantillons ont été lavés avec du PBS conservés à 4°C jusqu'à l'observation microscopique. Les observations en Microscopie Optique (sans marquage) et à microscopie épifluorescence ont été conduites à J1 et J3, pour évaluer le potentiel d'étalement et d'attachement cellulaire. La morphologie cellulaire des cellules traitées a été comparée à celle des cellules contrôles.

Le marquage Alexa 488-Phalloidin permet d'observer l'orientation des fibres et des filaments d'actine du cytosquelette cellulaire. Le PI, quant à lui, est utilisé comme coloration de contraste nucléaire pour déterminer l'état des noyaux. Un triplicata de chaque échantillon concentration à la concentration de 500µg/ml a été testé.

II. Caractérisation mécanique des verres borosilicates:

L'absence de cytotoxicité et la stimulation de la prolifération cellulaire lors du contact direct et indirect des particules de borosilicates expérimentales avec les cellules pulpaire, nous ont conduit à établir un protocole plus proche de la clinique en appliquant ces particules au contact du liquide du ciment verre- ionomère Fuji IX commercialisé par la société GC.

Les propriétés mécaniques des échantillons des biomatériaux testés (PSBS8, PSBS16 et Fuji IX) ont été évaluées selon un test de flexion et un test de dureté de Vickers. Afin d'obtenir des

échantillons solides et de se rapprocher des conditions cliniques, les poudres des biomatériaux expérimentaux ont été mélangées avec le liquide du CVI Fuji IX (avec une proportion d'une cuillère de poudres pour deux gouttes de liquide). Un duplicata de chaque échantillon a été testé et l'expérimentation a été répétée trois fois.

1. Test de flexion

Le test de flexion doit être réalisé selon les normes ISO 4049. La machine utilisée est une machine de test universelle (Servo Hydraulic – Adamel Lhomargy DY-34, MTS, Roissy-en-Brie, France). Elle permet de réaliser le test de flexion trois points, l'échantillon est placé sur les deux couteaux inférieurs espacés de 20 mm. Le couteau supérieur se trouve alors au-dessus de l'échantillon à mi-distance entre les deux couteaux inférieurs. Les échantillons ont été polis avant de les placer dans la machine, l'épaisseur correspond à la distance entre les deux parties les plus lisses de l'échantillon. En effet, la force doit être exercée sur une paroi lisse afin de ne pas biaiser les résultats. La largeur correspond à la distance entre les deux autres faces. Les deux doivent avoir une mesure proche de 2mm.

Une fois les mesures prises, l'échantillon est placé dans la machine. L'échantillon doit être bien centré par rapport au couteaux inférieurs afin que la force exercée par le couteau supérieur soit au centre. Une fois la machine activée, le couteau supérieur descend à une vitesse constante de 0.5mm/min. La force de départ est de 0 newton comme il n'y a aucune contrainte entre le matériau et la machine. Une fois que le couteau entre en contact avec l'échantillon de composite, une force de compression est exercée par la machine. La force augmente de plus en plus au fur et à mesure que l'échantillon fléchit jusqu'à la fracture de ce dernier.

Grâce à ce test, il est possible de calculer la résistance à la flexion (σ_f) ainsi que le module d'élasticité (E_f) de l'échantillon en utilisant les formules suivantes :

$$\sigma_f = \frac{3FmI}{2bh^2}$$

Où Fm correspond à la force maximale en Newton exercée par la machine avant la fracture du matériau, I est une constante et correspond à la distance entre les deux couteaux inférieurs (20mm), b correspond à la largeur et h à l'épaisseur/hauteur de l'échantillon.

$$E_f = \frac{SI^3}{4bh^3}$$

Où S correspond à l'assouplissement en N/m. $S = F/d$ où d est la déflexion correspondant à la charge F en un point de la partie droite de la courbe. Cette mesure sera calculée automatique par la machine.

Pour le test de flexion deux échantillons (chaque type de biomatériaux) avec les dimensions suivantes (2 mm d'épaisseur, 2 mm de largeur et 22 mm de longueur) ont été testés et l'expérimentation a été répétée trois fois.

2. Test de la dureté de Vickers

Ce test est réalisé grâce à un microduromètre, une machine où un indenteur est associé à un microscope optique. La technique d'édentation consiste à appliquer une pointe dure de diamant à la surface d'un matériau avec une force connue. Il faut ensuite mesurer directement ou indirectement l'aire de contact entre le matériau et la pointe. Autrement dit, on mesure le diamètre de l'indent laissé à la surface du matériau testé.

Dans le test de Vickers, la pointe dure est un indenteur de Vickers, un diamant pyramidal à base carrée et dont l'angle entre les faces est égal à 136° . La charge utilisée dans cette étude est de 100 grammes et elle exerce une force durant 10 secondes. Une fois le temps écoulé, on obtient une indentation pyramidale à base carrée que l'on peut observer grâce au microscope optique. Les diagonales de ce carré sont mesurées et sont incluse dans la formule suivante ce qui nous donne la dureté de Vickers de l'échantillon :

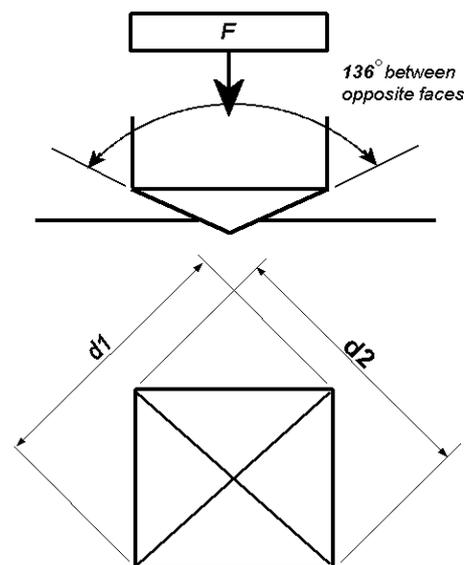
$$Hv = 1854,4 \times P \times d^{-2}$$

Où P correspond à la charge d'essai en grammes et d à la longueur moyenne des deux diagonales en millimètres, c'est-à-dire la somme des deux diagonales divisée par deux.

Ce test nous donne la dureté du matériau et

La propension de celui-ci à résister à l'usure. Plus la valeur de Hv augmente, plus le matériau est dur, au contraire, plus le diamètre de l'indent augmente, moins le matériau est dur.

Etant donné que la mesure des diagonales est assez subjective, il est important que ce soit la même personne qui réalise les tests, et ce dans un laps de temps assez court. En effet, les limites des indentations ne sont pas toujours très nettes donc la personne réalisant le test essaiera de garder les mêmes repères.



Pour le test de dureté de Vickers, aucun nouvel échantillon n'a été créé, en effet, nous avons récupéré les morceaux fracturés par le test de flexion pour tester la microdureté du matériau. Deux échantillons (de chaque type de biomatériau) ont été testés et l'expérimentation a été répétée trois fois.

3. Morphologie par Microscopie Electronique à Balayage (MEB) :

Les surfaces des biomatériaux testés ont été étudiées par analyse au MEB. Les échantillons solides ont été préparés dans des moules en téflon (2 mm de diamètre/ 2 mm d'épaisseur), Deux échantillons de chaque type de biomatériau ont été analysés. Avant l'analyse MEB, les échantillons sont collés sur des plots de cuivre à l'aide d'une laque conductrice, à base de graphite colloïde, puis métallisés sous vide au cuivre (10 µm). L'analyse MEB est effectuée à l'aide du système FEI-Quanta™ 250, avec une tension d'accélération de 5 kV et un grossissement X 500.

4. Etude statistique :

L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du test Analyse de la Variance « ANOVA » avec répétition (AR), qui permet de comparer les échantillons des biomatériaux expérimentaux avec les échantillons du Fuji IX (témoin de référence) et de comparer les biomatériaux expérimentaux entre eux. Ce test permet également de vérifier s'il y a une interaction entre le temps d'incubation et la cytotoxicité (test Alamar Blue®) et de comparer les résultats des biomatériaux testés avec le contrôle négatif (cellules sans biomatériau). Nous avons utilisé 0.05 comme seuil de signification pour tous les tests de la partie expérimentale (p-value est inférieure à 5%).

III. Résultat

1) Cytocompatibilité des verres borosilicatés

1.1) Prolifération et Activité métabolique des cellules par Alamar blue

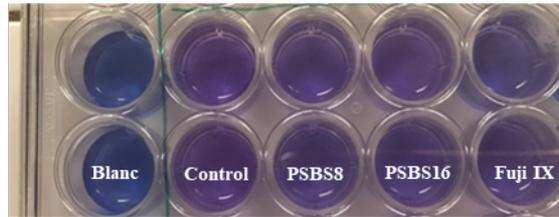


Figure 12 : Évaluation de l'activité métabolique des fibroblastes pulpaire par Alamar Blue[®]
(Iconographie : LMI -UMR CNRS 5615)

La Figure 12 illustre l'activité métabolique des cellules pulpaire en contact des biomatériaux testés : PSBS8, PSBS16 et Fuji IX.

Le tableau 3 résume les pourcentages de viabilité cellulaire au contact direct et indirect des échantillons testés, selon les conditions de l'expérimentation. Quel que soit le type de contact que les particules des verres bioactifs stimulent la prolifération cellulaire des cellules pulpaire de manière préférentielle et significative ; une augmentation du taux de viabilité est observée avec un effet taux dépendant et une plus grande stimulation en présence du nouveau verre borosilicaté (PSBS8). Une augmentation plus importante et significative ($p < 0.05$) de la prolifération des cellules pulpaire est observée quand les particules sont en contact direct des cellules pulpaire.

Tableau 3: Pourcentage de viabilité cellulaire en fonction du type, de temps de contact (après 1, 3 et 5 jours) et de la concentration des borosilicates (n= 9, * valeurs significatives à p<0.05).

Particules de verres bioactifs	Incubation (jours)/Concentration					
	Contact indirect					
	500 µg/mL			1000 µg/mL		
	1	3	5	1	3	5
	% de viabilité					
Cellules contrôles	100±5	100±9	100±3	100±12	100±6	100±4
PSBS ₈	103±9	167±11*	192±7*	115±6*	149±4*	170±7*
PSBS ₁₆	108±9	162±11*	151±1*	105±1*	139±11*	146±12*
Fuji ix	99±3	119±5	124±4*	104±8	131±3*	137±5*
	Contact direct					
Cellules contrôles	100±8	100±6	100±7	100±4	100±11	100±6
PSBS ₈	115±11	152±12*	189±3*	128±11*	182±12*	229±3*
PSBS ₁₆	109±3	145±5*	179±7*	117±8*	175±5	216±7*
Fuji ix	101±9	117±12*	155±21*	114±6	167±12*	185±21*

1.2) Adhésion cellulaire par microscopie optique :

Nous avons observé au microscope optique une stimulation de la prolifération cellulaire, après trois jours de mise en contact indirect entre les cellules pulpaire et les éluats des verres bioactifs en comparaison aux cellules contrôles (Figure 13). Les cellules s'étalent et adhèrent en présence des trois verres bioactifs étudiés et particulièrement en présence du verre borosilicaté PSBS8

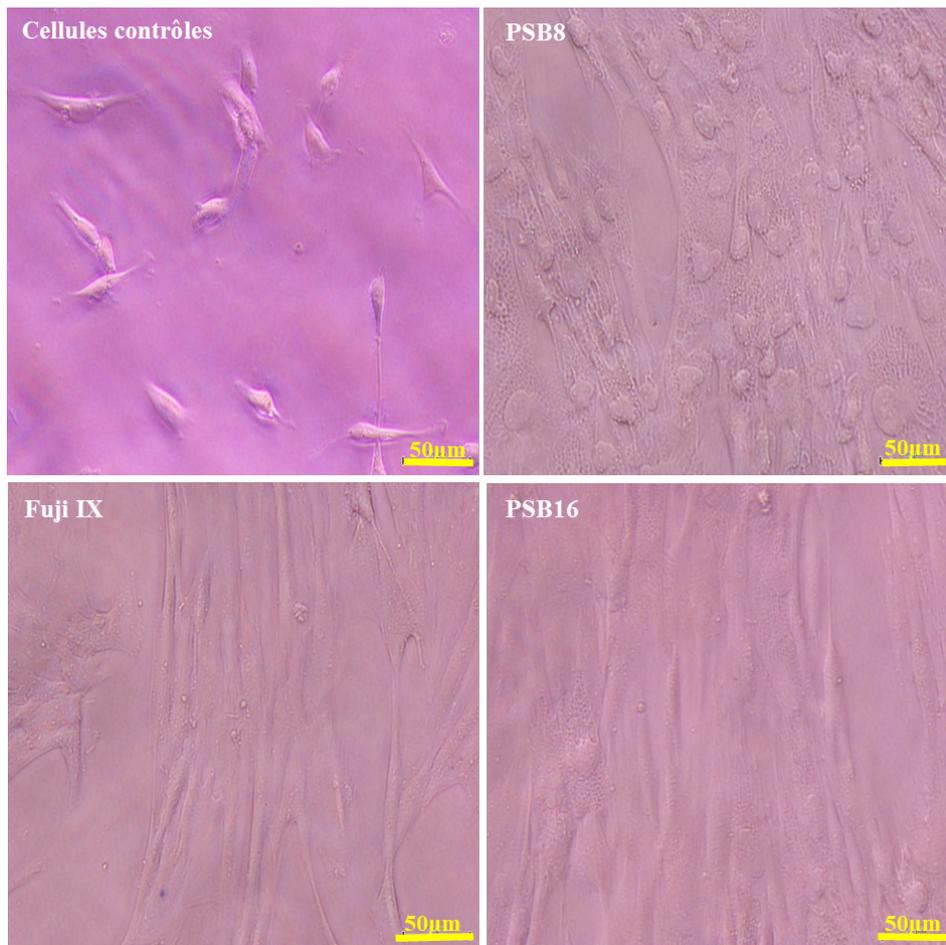


Figure 13 : Observation au microscope optique des cellules pulpairees mises en contacts avec éluats des verres bioactifs étudiés après 24h (objectif à grossissement X20).

1.3) Morphologie cellulaire par microscopie à épi-fluorescence

On constate sur la figure 14, une nette prolifération des fibroblastes pulpairees en présence du PSBS8, et du PSBS 16 qui est supérieure à la prolifération de ces cellules au contact du Fuji IX. Cette prolifération est aussi supérieure à celle des cellules contrôles. En contact direct des verres borosilicatés, Les cellules présentent une bonne morphologie fibroblastique, elles adhèrent et s'étalent bien sur le support de culture avec un cytosquelette cylindrique (marquage vert homogène) et des noyaux non-apoptotiques (marquage rouge). En effet la densité cellulaire constaté au contact de PSBS8 (résultats qualitatif) confirme les résultats de l'activité métabolique (résultat quantitatif) et démontre que ce matériau possède une cytocompatibilité supérieure à celle du Fuji IX et à celle de l'autre verre expérimental PSBS16

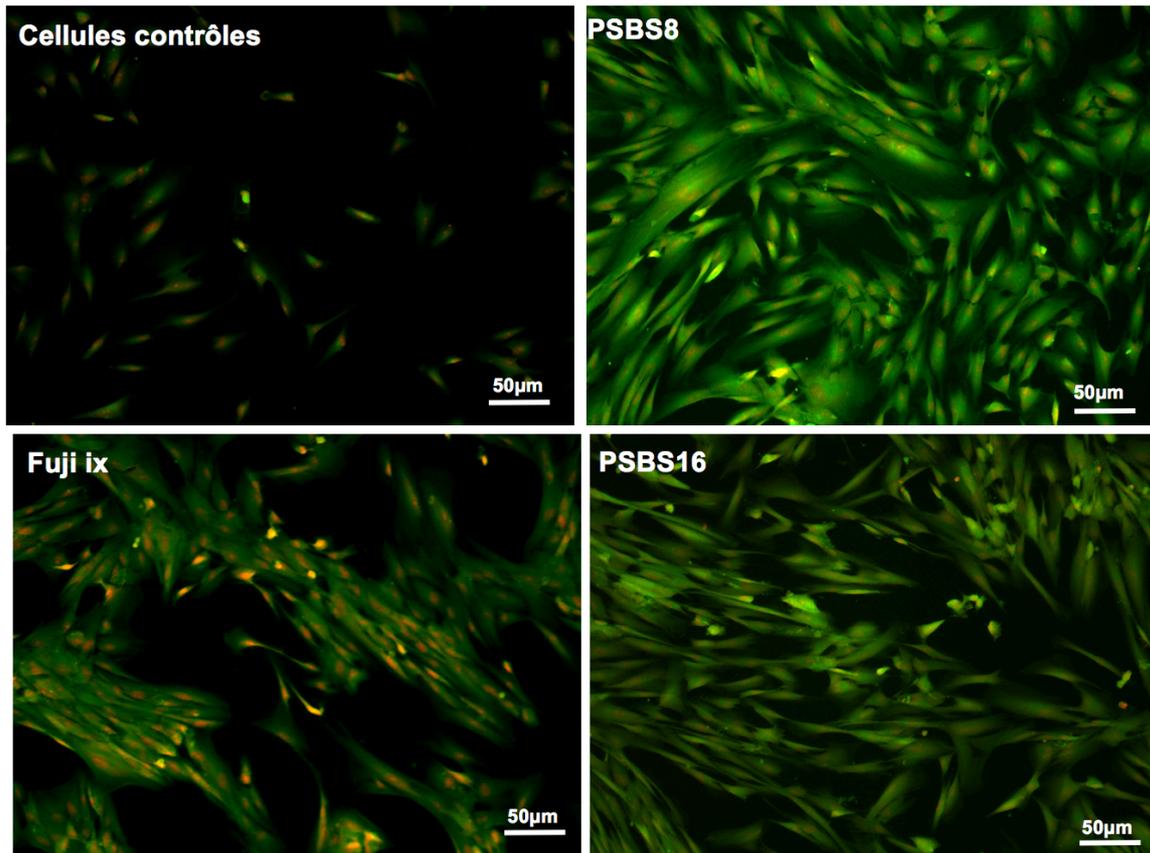


Figure 14 : Observation par imagerie à épi-fluorescence des cellules pulpairees mises en contacts avec éluats des verres bioactifs étudiés après 24h

2) Résultats des propriétés mécaniques

2.1) Microdureté de Vickers

Ces résultats proviennent des travaux de F. Lizzi (31). Lors de cette étude les verres bioactifs PSBS8 et PSBS16 ont été testés en comparaison du FUJI IX après différents temps de prise (8, 14, 21, 28, 42 et 152 jours) selon le protocole détaillé précédemment.

La dureté du FUJI IX est nettement supérieure à celle des verres bio-actifs testés. La dureté du PSBS8 croit proportionnellement à celle du du Fuji IX avec une augmentation progressive au cours du temps contrairement à celle du PSBS16 qui est resté relativement constante tout au long de l'étude (Figure 15).

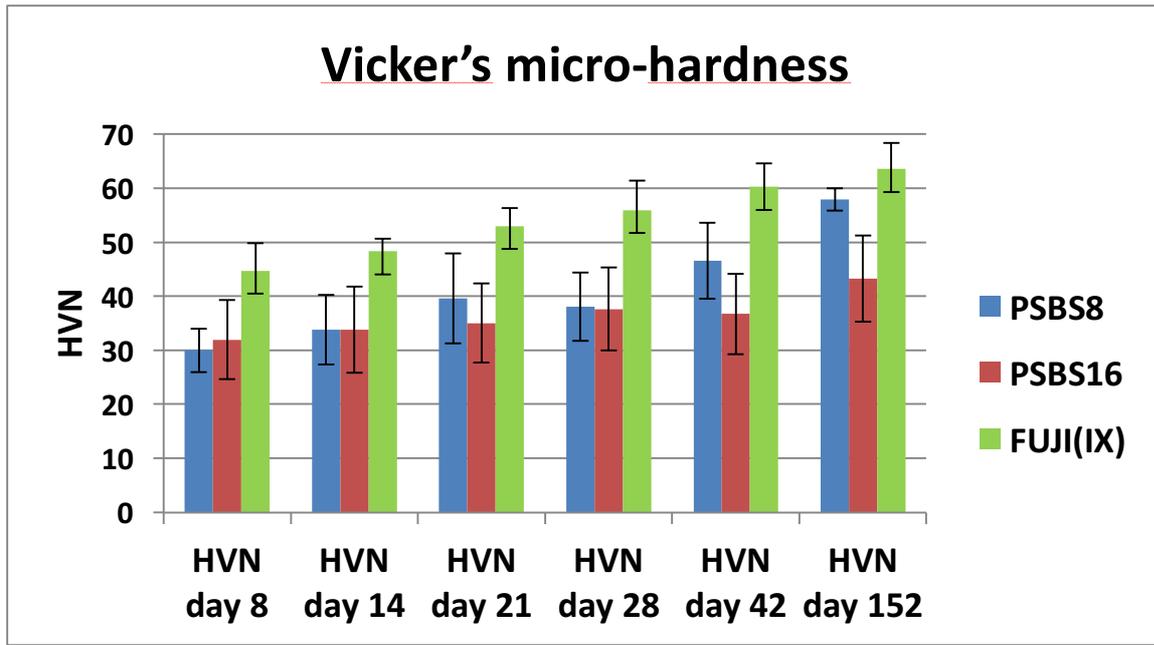


Figure 15 : Comparaison de la microdureté de Vickers entre deux échantillons de PSBS et du FUJI IX (31). (HVN pour Nanoindentation Vickers hardness values)

2.2) Résistance à la flexion

Le verre PSBS16 présente des valeurs faibles alors que le verre PSBS8 présente des valeurs similaires de résistance à la flexion au ciment verre-ionnomere commercialisé qui était utilisé comme témoin à la fois après 1 et 7 jours. Alors qu'après 7 jours de prise, les valeurs de flexion du PSBS8 augmentent de manière significative par rapport au PSBS16 et au FUJI IX ($p < 0.05$, figure 16).

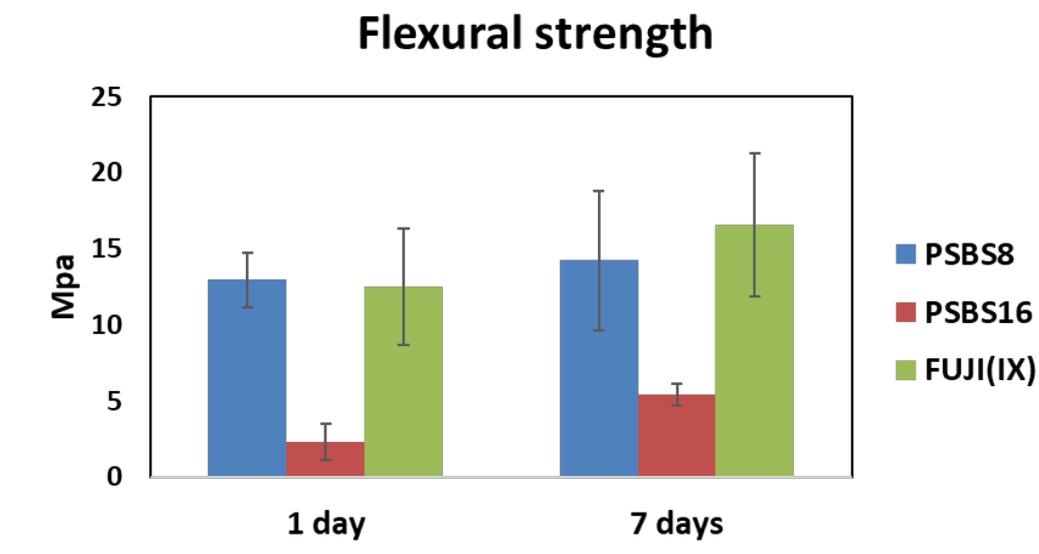


Figure 16 : Valeurs de résistance à la flexion des verres bioactifs étudiés après 1 et 7 jours de prise.

2.3) Résultats - analyse au MEB

Les observations au MEB du PSBS8 et du PSBS16 (particules de verres bioactifs expérimentaux avec le liquide du FUJI-IX) montrent que

Les particules des verres expérimentaux ont bien été mélangés avec l'acide polyacrylique et que la surface des matériaux est homogène 24h après la réaction de prise (Figure 17).

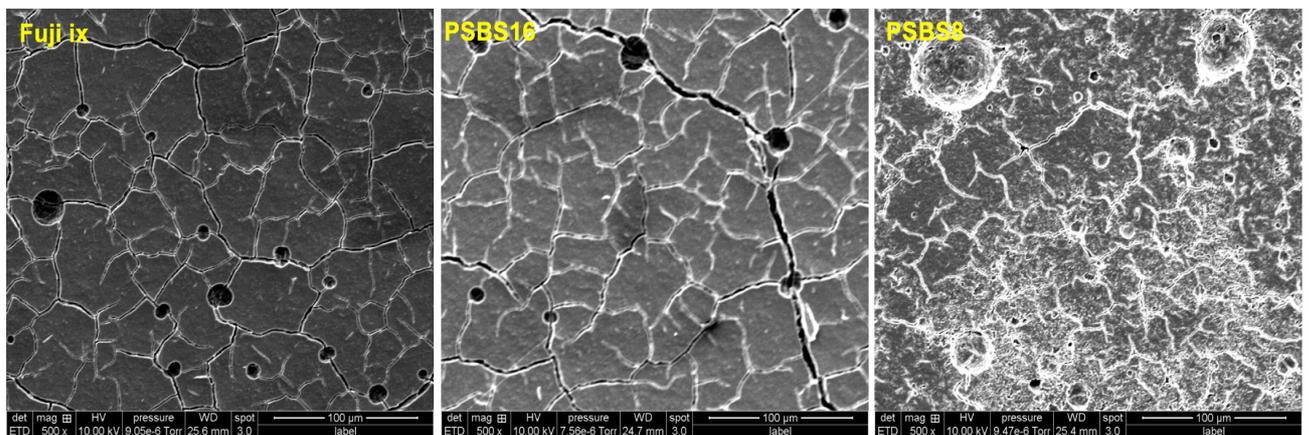


Figure 17 : Observations au MEB de la surface des verres borosilicatés expérimentaux et du ciment verre ionomère FUJI-IX

VI. Discussion

Les résultats de notre étude ont démontré que les verres bio-actifs PSBS8 et PSBS16 ont une cytocompatibilité supérieure à celle du ciment verre ionomère commercialisé Fuji IX. Ces résultats confirment les données de bio-activité (immersion de la poudre en milieu physiologique tel que le *Simulated Body Fluid*) obtenues par F. IZZI (31). Les propriétés mécaniques des verres borosilicatés sont quant à elles comparables à celles du Fuji IX.

Un des critères de biocompatibilité est l'absence de toxicité des matériaux pour les cellules, selon les recommandations de la norme ISO 7405 et ISO 10993. Le test Alamar Blue[®] utilisé

dans notre étude a permis de mettre en évidence l'absence de cytotoxicité des verres borosilicatés sur des cultures primaires de fibroblastes pulpaires. Le taux de viabilité cellulaire est 1,24 fois plus élevé au contact du verre borosilicaté PSBS8 qu'au contact du ciment verre ionomère Fuji IX. En effet, l'activité métabolique de ces cellules est stimulée par la présence des verres expérimentaux et plus particulièrement le verre. Ces résultats sont confirmés par l'étude morphologique des fibroblastes pulpaires au microscope optique et par imagerie à épifluorescence.

Les tests mécaniques (flexion et microdureté) effectués sur les verres borosilicatés en utilisant le liquide (acide polyacrylique) du Fuji IX sont comparables aux résultats de ces mêmes tests appliqués au Fuji IX après 42 jours de prise. Le développement d'un liquide spécifique et adapté aux verres borosilicatés permettra d'optimiser la réaction de prise et d'améliorer les propriétés mécaniques de ces verres bio-actifs. Une autre caractéristique à améliorer est au niveau esthétique. En effet, avec le mélange poudre de verres/liquide Fuji IX nous obtenons un matériau de couleur gris, inadapté pour une restauration esthétique.

La composition du verre borosilicaté PSBS8 est sans aluminium. L'aluminium de par son effet nocif pour l'organisme notamment au niveau neurologique (35) a pu être supprimé et remplacé par le bore pour jouer le rôle de modificateur de réseau. Les résultats de notre étude prouvent que l'aluminium n'est pas indispensable et que des propriétés importantes des verres bioactifs sont améliorées par la présence du bore avec une augmentation de la bioactivité et de la cytocompatibilité.

D'un point de vue clinique ce matériau (le PSBS8) se mélange très bien et rapidement (en quelques secondes) au liquide du Fuji IX il est simple à manipuler avec un temps de prise du matériau relativement rapide. L'un des avantages des verres de notre étude, est qu'ils sont élaborés par la technique de fusion trempe (technique d'élaboration de routine du partenaire Anglais Lucideon). Nous sommes donc capables de les produire à l'échelle industrielle ce qui permettra de proposer ce matériau au plus grand nombre de praticien une fois son développement abouti.

V. Conclusion et perspectives

Les matériaux de restaurations dentaires sont très nombreux sur le marché, le défi des chercheurs associés aux cliniciens est aujourd'hui de proposer un matériau de choix capable de répondre à toutes les attentes de reconstitutions corono-radiculaires selon les données acquises

de la science. Nous sommes actuellement à la recherche de nouveaux matériaux reminéralisants capables de préserver et de protéger la vitalité des tissus dentaires. Selon notre étude qui s'intègre dans le cadre du programme Européen BIODENSOL entre le Laboratoire des Multimatériaux et Interfaces (UMR CNRS 5615) et l'Industrie anglaise LUCIDEON – Stoke on Trent - UK), le verre borosilicaté sélectionné semble être un candidat de choix pour répondre à ces exigences. De nouvelles études centrées sur le développement d'un liquide adapté précisément pour la composition de ces poudres de verres borosilicatés permettront d'améliorer leurs caractéristiques mécaniques et esthétique, par conséquent d'augmenter la longévité du matériau afin d'éviter les ré-interventions et de préserver au maximum l'intégrité des tissus, pour une dentisterie « *minimally invasive* ». D'après ses propriétés biologiques et mécaniques, le PSBS8, semble être le candidat prometteur sur lequel concentrer les recherches afin de proposer les meilleurs soins aux patients.

Bibliographie

- [1] COLLEGE NATIONAL DES ENSEIGNANTS EN ODONTOLOGIE CONSERVATRICE ET ENDODONTIE, Dictionnaire Francophone des termes d'Odontologie Conservatrice - Endodontie & Odontologie restauratrice, Editions SNPMD, Paris, 2004.
- [2] Carvalho J.C , Dige I, Machiulskiene V, Qvist V, Bakhshandeh A, Fatturi-Parolo C, Maltz M, Occlusal Caries: Biological Approach for Its Diagnosis and Management, Caries Res. 50 (2016) 527–542.
- [3] Schwendicke F, Dörfer C.E , Paris S, Incomplete Caries Removal. A systematic Review and Meta-analysis, J. Dent. Res. 92 (2013) 306–314.
- [4] Tramini P, Bourgeois D, Épidémiologie de la carie, EMC - Médecine buccale 2017;12(6):1-15 [28-155-C-10].
- [5] Decup F, Muller-Bolla M, Chouvin M, Clément C, Colon P, Droz D, Maret D, Seux D, Sixou J-L, Domejean S, Dentifrices et vernis fluorés: bilan des connaissances pour une bonne pratique clinique, Clinic (Paris). 39 (2018) 329–336.
- [6] Ismail AI, Pitts NB, Tellez M; Authors of International Caries Classification and Management System (ICCMS), Banerjee A, Deery C, Douglas G, Eggertsson H, Ekstrand K, Ellwood R, Gomez J, Jablonski-Momeni A, Kolker J, Longbottom C, Manton D, Martignon S, McGrady M, Rechmann P, Ricketts D, Sohn W, Thompson V, Twetman S, Weyant R, Wolff M, Zandona A. The International Caries Classification and Management System (ICCMS™) An Example of a Caries Management Pathway. . BMC Oral Health. 2015;15 Suppl 1:S9. doi: 10.1186/1472-6831-15-S1-S9. Epub 2015 Sep 15.
- [7] Muller-Bolla M, Courson F, Smail-Faugeron V, Bernardin T, Lupi-Pégurier L, Dental erosion in French adolescents. BMC Oral Health. 2015 Nov 19;15:147. doi: 10.1186/s12903-015-0133-4.
- [8] www.medecine-et-sante.com

- [9] Takahashi N, Nyvad B. Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. *Caries Res* 2008;42:409–18.
- [10] Badet C, Richard B. Étude clinique de la carie. *Encycl Méd Chir, Odontologie*, 23-010-E-10, 2003
- [11] Deuet H. Traitement des lésions carieuses profondes par un curetage partiel : Illustration par un cas clinique de l'étude Deep Caries Treatment (DECAT) .2017. Université de Lille
- [12] Abou Neel E.A, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young A.M, Bozec L, Mudera V, Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone, *Int. J. Nanomedicine*. 11 (2016) 4743–4763. doi:10.2147/IJN.S107624
- [13] Lussi A, Mécanismes d'action cariostatique des fluorures, in: *Evolution En Odontologie Restauratrice*, édition quintessence international, 2013: p. 25–32.
- [14] Baelum V, Hintze H, Wenzel A, Danielsen B, Nyvad B. Implications of caries diagnostic strategies for clinical management decisions. *Community Dent Oral Epidemiol* 2011. *Caries Res*. 2018;52(1-2):58-70. doi: 10.1159/000484987
- [15] Nanci A, Structure of the Oral Tissues, in: *Oral Histol. - 8th Ed.*, ELSEVIER, 2013: pp. 1–13
- [16] Kim J, Arola DD, Gu L, Kim Y.K, Mai S, Liu Y, Pashley D.H, Tay F.R, Functional biomimetic analogs help remineralize apatite-depleted demineralized resin-infiltrated dentin via a bottom-up approach, *Acta Biomater*. 6 (2010) 2740–2750. doi:10.1016/j.actbio.2009.12.052.
- [17] Tjäderhane L, Nascimento F.D, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol I.L.S, Geraldeli S, Tezvergil-Mutluay A, Carrilho M, Carvalho M.M, Tay F.R, Pashley D.H, Optimizing dentin bond durability: strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer, *Dent. Mater. Off. Publ. Acad. Dent. Mater*. 29 (2013) 999–1011. doi:10.1016/j.dental.2013.07.016.
- [18] Jones J.R, Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids, *Acta Biomater*. 23 Suppl (2015) S53-82. doi:10.1016/j.actbio.2015.07.019

[19] Hamadouche M, Meunier A, Greenspan DC, Blanchat C, Zhong JP, La Torre GP, Sedel L. Bioactivity of sol-gel bioactive glass coated alumina implants. *J Biomed Mater Res* 2000 Nov;52(2):422-9.

[20] Farano V, Maurin JC, Attik N, Jackson P, Grosogeat B, Gritsch K. Sol-gel bioglasses in dental and periodontal regeneration: A systematic review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2019 May;107(4):1210-1227. doi: 10.1002/jbm.b.34214. Epub 2018 Sep 10.

[21] Fernando D, Attik N, Cresswell M, Mokbel I, Pradelle-Plasse N, Jackson P, Grosogeat B, Colon P, Influence of network modifiers in an acetate based sol-gel bioactive glass system, *Microporous Mesoporous Mater*. 257 (2018) 99–109.

[22] Lindfors NC, Koski I, Heikkila JT, Mattila K, Aho AJ. A prospective randomized 14-year follow-up study of bioactive glass and autogenous bone as bone graft substitutes in benign bone tumors. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010. July;94(1):157–164.

[23] Fernandes JS, Gentile P, Pires RA, Reis RL, Hatton PV. Multifunctional bioactive glass and glass-ceramic biomaterials with antibacterial properties for repair and regeneration of bone tissue. *Acta Biomater* 2017 Sep 1;59:2-11

[24] Malhotra N, Kundabala M, Shashirashmi A. Strategies to overcome polymerization shrinkage-- materials and techniques. A review. *Dent Update* 2010;37:115–8, 120–2, 124–5.)

[25] Bains F, Hamzehlou S, Kargozar S. Bioactive Glasses: Where Are We and Where Are We Going? *J Funct Biomater*. 2018 Mar 19;9(1). pii: E25.

[26] Fernando J.D.L, Novel Mesoporous Bioactive Glasses (MBGs) as fillers in dental adhesives « Synthesis, Physico-chemical and biological evaluation ». Université de Lyon

[27] Soares CJ, Faria-E-Silva AL, Rodrigues M de P, Vilela ABF, Pfeifer CS, Tantbirojn D, et al. Polymerization shrinkage stress of composite resins and resin cements - What do we need to know? *Braz Oral Res* 2017;31-62.

[28] Malhotra N, Kundabala M, Shashirashmi A. Strategies to overcome polymerization shrinkage-- materials and techniques. A review. *Dent Update* 2010;37:115–8, 120–2, 124–5.

[29] Reis A, Carrilho M, Breschi L, Loguercio AD. Overview of clinical alternatives to minimize the degradation of the resin-dentin bonds. *Oper Dent* 2013;38:E1–25.

[30] http://www.dentaleco.com/Product/Catalog/Verres_ionomeres)

[31] Poggion C, Vialba L, Marchioni R, Colombo M, Pietrocola G Esthetic restorative materials and glass ionomer cements: Influence of acidic drink exposure on bacterial adhesion. *Eur J Dent*.2018 Apr-Jun;12(2):204-209..

[32]Kampanas NS, Antoniadou M .Glass Ionomer Cements for the Restoration of Non-Carious Cervical Lesions in the Geriatric Patient. *J Funct Biomater*. 2018 Jul 8;9(3). pii: E42

[33] Biomatériaux cliniques vol2 numero 2. Edition Espace ID. octobre 2017. p.47

[34] JPIO odontologie pédiatrique clinique. Edition CdP. 2009/2011. p.79

[35] Caluwé T, Vercruyse CW, Ladik I, Convents R, Declercq H, Martens LC, Verbeeck RM Addition of bioactive glass to glass ionomer cements: Effect on the physico-chemical propertiesand biocompatibility. *Dent Mater* 2017 Apr;33(4):e186-e203

[36] Caluwé T, Vercruyse CW, Declercq HA, Schaubroeck D, Verbeeck RM, Martens LC. Bioactivity and biocompatibility of two fluoride containing bioactive glasses for dental applications. *Dent Mater*.2016 Nov;32(11):1414-1428

[37] Castilho ARF, Duque C, Kreling PF, Pereira JA, Paula AB, Sinhoreti MAC, Puppini-Rontani RM. Doxycycline-containing glass ionomer cement for arresting residual caries: an in vitro study and a pilot trial. *J Appl Oral Sci*. 2018;26:e20170116.

[38] Lindfors NC, Koski I, Heikkila JT, Mattila K, Aho AJ. A prospective randomized 14-year follow-up study of bioactive glass and autogenous bone as bone graft substitutes in benign bone tumors. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010. July;94(1):157–164.

[39] Lizzi F. Verres borosilicatés à séparation de phase pour applications dentaires. Formulation

de la composition en relation avec la dissolution des ions en milieu acide et la microstructure.
Université de Lyon.

[40] Fu Q, Rahaman MN, Bal BS, Bonewald LF, Kuroki K, Brown RF. Silicate, borosilicate, and borate bioactive glass scaffolds with controllable degradation rate for bone tissue engineering applications. II. In vitro and in vivo biological evaluation. *J Biomed Mater Res A* 2010. October;95(1):172–179.

[41] Brown RF, Rahaman MN, Dwilewicz AB, Huang W, Day DE, Li Y, et al. Effect of borate glass composition on its conversion to hydroxyapatite and on the proliferation of MC3T3-E1 cells. *J Biomed Mater Res A* 2009. February;88(2):392–400.

[42] Yang MH, Chen SC, Lin YF, Lee YC, Huang MY, Chen KC, Wu HY, Lin PC, Gozes I, Tyan YC. Reduction of aluminum ion neurotoxicity through a small peptide application - NAP treatment of Alzheimer's disease. *J Food Drug Anal.* 2019 Apr;27(2):551-564.

[43] Asrari M, Lobner D, Endod J. In vitro neurotoxic evaluation of root-end-filling materials. 2003 Nov;29(11):743-6.

[44] ISO 10993 Evaluation biologique des dispositifs médicaux
<https://www.iso.org/fr/standard/68936.html>

BEN GRID Hedy- Caractérisation de verres borosilicatés expérimentaux : Cytocompatibilité des particules élaborées par fusion/trempe.

(Thèse : Chir. Dent. : Lyon : 2019.000)
N°2019 LYO 1D 033

Depuis de nombreuses années les matériaux de restaurations dentaires se doivent de respecter un cahier des charges rigoureux afin de permettre d'apporter les meilleurs soins à nos patients. La préservation des tissus dentaires est aujourd'hui un axe capital autour duquel s'articulent deux approches thérapeutiques majeures : la dentisterie minimalement invasive et la dentisterie non invasive. Les matériaux bioactifs reminéralisants permettent ces approches. L'analyse de littérature a montré qu'en 2019, de nombreux traitements de lésions carieuses, nécessitent une ré-intervention, suite à des reprises carieuses (Carie secondaire) et cela malgré l'utilisation de matériaux bio-actifs tel que les ciment verre ionomères.

C'est pourquoi, les objectifs de ce mémoire de thèse, ont été d'évaluer l'apport, pour les restaurations dentaires, de deux biomatériaux expérimentaux, Borosilicatés obtenus par (Fusion/Trempe). Nous avons comparé dans un premier temps, la cytocompatibilité par des méthodes de contact direct et indirect, d'échantillons de poudre de ces biomatériaux, vis-à-vis à des cultures primaires de fibroblastes pulpaire par rapport à un témoin (Fuji IX). Dans un deuxième temps, nous avons évalué les propriétés mécaniques (dureté Vickers, résistance à la flexion) de ces deux poudres en confectionnant des échantillons solides par mélange poudre/liquide (celui du Fuji IX). Nos résultats montrent une meilleure cytocompatibilité des poudres de verres bioactifs borosilicatés par rapport au Fuji IX. Nous avons en effet, constaté, une absence de cytotoxicité, avec une stimulation de la prolifération cellulaire (test d'Alamar Blue[®] morphologie cellulaire) avec les poudres des verres borosilicatés. Les échantillons solides de la compositions sans aluminium possèdent des propriétés mécaniques comparables aux échantillons du Fuji IX. Ces biomatériaux, à base de borosilicates, semblent donc être des biomatériaux prometteurs (bioactivité augmentée). Des études supplémentaires sont cependant nécessaires pour caractériser ces biomatériaux expérimentaux.

Mots clés :

-Verre bio-actif -Cytocompatibilité -Borosilicate
-Bioactivité -Cellules Pulpaire -Test Alamar Blue[®]
-Biomatériaux -Morphologie cellulaire
-Propriétés Mécaniques -Restauration dentaire

Mots clés en anglais :

-Bio-active Glass -Cytocompatibility -Borosilicate
-Bioactivity - Pulp cells -Alamar Blue Test
-Biomaterials -Cell Morphology
-Mechanicals Property -Dental restauration

Jury :

Président :

Assesseurs :

Monsieur le Professeur MORRIER Jean-Jacques
Monsieur le Professeur MAURIN Jean-Christophe
Madame le Docteur ATTIK Nina
Monsieur le Docteur VILLAT Cyril

Adresse de l'auteur :

Hedy, BEN GRID
22 rue du Dauphiné 69003 Lyon

