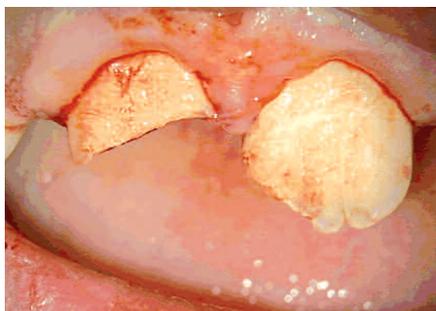


Biologie pulpaire : comprendre pour appliquer au quotidien.

Mots clés :

Endodontie
Biologie
Pulpe dentaire
Cicatrisation



*Pulp biology :
understanding in daily practice.*

Keywords :

Endodontics
Biology
Pulp
Healing

S. SIMON*, P. COOPER**, A. BERDAL***, P. MACHTOU****, A. J. SMITH*****

* DCD, MSc de Biologie. Clinical Lecturer in Restorative Dentistry Honorary Specialist in Endodontics. University of Birmingham - UK et Université Paris VII.

** MSc – PhD - Senior Lecturer in oral Biology. University of Birmingham - UK.

*** MSc – PhD – Professeur des Universités de Biologie orale, Praticien hospitalier. Université Paris VII.

**** PhD – Professeur des Universités, Praticien Hospitalier. Université Paris VII.

***** MSc – PhD – Professor of Oral biology. University of Birmingham - UK.

r é s u m é La biologie pulpaire est omniprésente dans l'exercice quotidien du chirurgien dentiste, mais il s'avère qu'elle est relativement mal connue par le praticien. L'avènement de plus en plus important des biotechnologies laisse supposer qu'elles trouveront rapidement leur place en odontologie. Les connaissances acquises notamment au cours de ces 5 dernières années sur le processus de cicatrisation pulpaire permettent d'ores et déjà des applications simples, mais efficaces. La difficile communication entre biologiste et clinicien, surtout liée à la complexité de la discipline, est un frein considérable au développement des thérapeutiques et à leur mise en œuvre à grande échelle. L'objectif de ce document n'est pas de faire une revue exhaustive des connaissances de la biologie pulpaire, mais plutôt de fournir les bases indispensables au praticien pour le convaincre de l'intérêt d'une dentisterie plus préservatrice et surtout du bien fondé de la conservation de la vitalité pulpaire.

abstract The pulp biology is omnipresent in the daily practice of dentistry, but it turns out that it is relatively little understood by the practitioner. The advent of increasingly important biotechnologies suggests that they will easily find their place in dentistry. The knowledge gained in particular during the past 5 years on the process of pulp healing already allow simple but effective applications. The complicated communication between the biologist and the clinician, mainly due to the complexity of the discipline, is a considerable impediment to therapeutic developments and to its large-scale implementation. The objective of this paper is not to make a comprehensive review on the biological knowledge of the pulp, but rather to provide the practitioner essential facts by inducing interests for a more conservative dentistry and of course founded on the preservation of the vitality of the pulp.

soumis pour publication le 07/05/07
accepté pour publication le 11/06/08



Le complexe pulpo-dentinaire est un organe unique capable de s'adapter et de répondre à une multitude de *stimuli*. Le rôle primaire de la pulpe est de sécréter la dentine ; lorsque l'édification de la dent est terminée, elle s'engage alors dans une seconde voie, celle de son auto protection. La pulpe a l'aptitude de réenclencher à tout moment la fabrication d'une dentine cicatricielle, afin de s'éloigner et se protéger des agressions externes.

Si les procédures cliniques sont de plus en plus codifiées, il est néanmoins évident que la prise en charge biologique de ce tissu dans un exercice quotidien de chirurgie dentaire est encore insuffisante.

Les réels progrès effectués dans le domaine de la prophylaxie de la maladie carieuse ont induit de nombreuses recherches dans les voies de la reminéralisation. Si ces procédures sont un apport indéniable à l'arsenal thérapeutique, il ne concerne que les lésions de petites tailles. Lorsque la carie a déjà atteint la dentine, il est alors trop tard pour intervenir de la sorte.

Si la cavité carieuse est plus profonde encore, il est fréquent de procéder à la dépulpage de la dent, dans le but de « prévenir » tout risque de complication, douloureuse ou infectieuse. Force est de constater, qu'aujourd'hui, il n'existe aucune « règle de bonne pratique » précise, qui permet de définir clairement la limite entre dépulpage et conservation de la vitalité pulpaire.

De nombreux laboratoires de recherche travaillent depuis plusieurs années sur la cicatrisation pulpaire. Et si les résultats ne sont pas aussi « médiatiques » que ceux issus des travaux sur les cellules souches, ils sont néanmoins extrêmement importants pour notre discipline. Contrairement aux idées reçues, l'application des biotechnologies ne se limite à la fantasmagorie « repousse de dents à partir de cellules souches », mais autorise un éventail important d'applications pour le maintien de la vitalité pulpaire, l'induction d'une dentinogénèse réactionnelle ou encore la revascularisation d'un canal infecté. La recherche française n'est pas en reste dans ces investigations, puisque les laboratoires d'odontologie de Paris 7 (Pr A. Berdal), Paris 5 (Pr M. Goldberg), Lyon (Pr H. Magloire, Dr J.C. Farges), Strasbourg (Dr H. Lesot) et Marseille (Dr I. About) sont internationalement reconnus pour leur travaux.

La biologie est une discipline complexe, et pour laquelle il est difficile de communiquer. L'objectif de ce document est d'essayer de fournir les éléments basiques de biologie pulpaire qui permettent de comprendre les applications existantes, potentielles ou futures des biotechnologies dans l'exercice quotidien de l'odontologie conservatrice.

The dentine-pulp complex is a unique organ capable of adapting and responds to a multitude of *stimuli*. The primary role of the pulp is to secrete dentine ; when the development of the teeth is finished, it then undertakes a second course, that of autoprotection. The pulp has the ability to disengage at any time the production of reparative dentine by moving away and protecting itself from external aggressions.

With the clinical procedures increasingly codified, it is nevertheless evident that the biological care of this tissue in everyday dental practice is still insufficient.

The real progress made in the prophylaxis of carious disease has led numerous researches in the field of remineralization. If these procedures are an undeniable contribution to the therapeutic arsenal, it concerns only small lesions. When caries has already reached dentine, it is already late for such sort of treatment.

If the cavity is even deeper, it is frequent to do pulpectomy of the tooth, in order to prevent any risk of complication, pain or infections. It is clear that nowadays there is no precise « good practice rules » which allow to clearly define the limit between pulpectomy and the conservation of the pulp vitality.

Many research laboratories have been working for several years on pulpal healing. And if the results are not as « broadcasted » as those resulting for the work on stem cells, they are nevertheless extremely important to our discipline. Contrary to popular belief, the application of biotechnology go beyond fantasy of « tooth regrowth from stem cells » but allows a wide range of important applications for maintaining the pulp vitality such as an induction of reactive dentinogenesis or still the revascularization of an infected canal. The French research is not left behind in these investigations, since dental laboratories of Paris 7 (Prof. A. Berdal), Paris 5 (Prof. M. Goldberg), Lyon (Prof. H. Magloire, Dr. JC Farges), Strasbourg (Dr. H. Lesot) and Marseille (Dr. I. About) are internationally renowned for their work.

Biology is a complex discipline that is why it is difficult to communicate. The objective of this paper is to try to provide the basic elements of the pulp biology that allows understanding the existing potential or futuristic applications of biotechnologies in the everyday conservative dental practice.



Le complexe pulpo dentinaire

La dentine

La dentine est un tissu conjonctif minéralisé qui constitue la majeure partie de la dent ; elle assure le support de l'organe mais surtout lui confère ses propriétés élastiques. Minéralisée à 70 % par des cristaux d'hydroxyapatite, elle est également composée de 20 % de matière organique et 10 % d'eau. La partie organique est majoritairement composée de protéines qui joueront un rôle majeur dans le processus de cicatrisation pulpaire. La proximité existant entre la pulpe et la dentine confère à ce binôme la dénomination de complexe pulpo-dentinaire (Torneck 1994).

La dentine assure la protection de la pulpe, tissu conjonctif qui assure la « vitalité » de l'organe dentaire (Linde et Goldberg 1993). Proche du tissu osseux, des spécificités propres à chaque tissu, notamment structurelles, permettent de les différencier.

La dentine est un tissu perméable ; des structures tubulaires (les *tubuli* dentinaires) la traversent de part en part, de la jonction amélo-dentinaire (JAD) (ou cémento dentinaire (JCD) au niveau de la racine) jusqu'à la cavité pulpaire (chambre ou canal). Ces tubuli contiennent d'une part le fluide dentinaire ainsi que les prolongements odontoblastiques. Il persiste à ce jour une controverse sur l'étendue du prolongement de l'odontoblaste dans les *tubuli*. Pour certains ce prolongement odontoblastique s'étend de la chambre pulpaire jusqu'à la JAD ou JCD (Maniatopoulos et Smith, 1983 ; Sigal, Aubin et coll., 1984 ; Sigal, Aubin et coll. 1985), tandis que pour d'autres, il se limiterait au 1/3 interne du *tubulus* (Garberoglio et Brannstrom, 1976 ; Thomas et Carella 1983 ; Thomas et Carella, 1984 ; Pashley 2002). Cette première discordance est intéressante, car la présence ou non du prolongement cellulaire dans le *tubulus* est un facteur important sur les voies thérapeutiques envisageables. En effet, un tube creux ne peut être traité de la même façon qu'un tube occupé par une cellule, *a fortiori* lésée par le processus carieux ou le curetage du tissu. La dentine dite « circumpulpaire » est constituée de la dentine inter-tubulaire (entre les *tubuli*) et péri ou intra-tubulaire (déposée secondairement à l'intérieur du *tubulus*, ce qui induit une diminution de son diamètre) (Fig. 1).

La composition chimique de ces deux formes de dentine est différente. La sécrétion de dentine intra-tubulaire est continue tout au long de la vie de la dent, et peut être accélérée dans certaines conditions physio-pathologiques (agression carieuse, abrasion, etc...) conduisant

Dentine-pulp complex

Dentine

The dentine is a mineralized connective tissue, which constitutes the major part of the teeth. It assures the support of the organ but more importantly it gives its elastic properties. It is 70 % mineralized with hydroxyapatite crystals, 20 % organic material and 10 % water. The organic part is mostly composed of proteins that play a major role in the healing process of the pulp. The close proximity between the pulp and the dentine gives its name (Torneck 1994).

The dentine assures the protection of the pulp, connective tissue which ensure the « vitality » of the dental organ (Linde et Goldberg 1993). Close to osseous tissue, the specificity of each tissue allows differentiation, including structural.

The dentine is a permeable tissue. Tubular structures (dentine *tubuli*) cross through the dentino-enamel junction (DEJ) (or cemento-dentinal junction (CDJ) at the root) until the pulp cavity (chamber or canal). These tubuli contains dentinal fluid as well as odontoblastic processes. It persists to this day controversy over the extent of the processes of the odontoblasts in *tubuli*. For some authors, the odontoblastic processes reach the pulp chamber until the DEJ or the CDJ (Maniatopoulos and Smith, 1983 ; Sigal, Aubin et al., 1984 ; Sigal, Aubin et al., 1985). While for others, it is limited at the internal 1/3 of the *tubulus* (Garberoglio and Brannstrom, 1976 ; Thomas and Carella, 1983 ; Thomas and Carella, 1984 ; Pashley 2002). This first disagreement is interesting because of the presence or absence of the cellular prolongations in the *tubulus* that is an important factor on possible therapeutic options. Indeed, an empty tube cannot be treated in the same way as the tube occupied by a cell, especially aggrieved by carious process or tissue curettage. The so-called « circumpulpal dentine » is made up of intertubular dentine (between the *tubuli*) and peri- or intratubular dentine (secondarily secreted inside of the *tubulus*, which leads to a reduction of its diameter) (Fig. 1).

The chemical composition of these 2 forms of dentine is different. The secretion of intratubular dentine continues throughout the life of the tooth and may be accelerated in certain physio-pathologic conditions (caries aggression, abrasion, etc...) therefore indu-

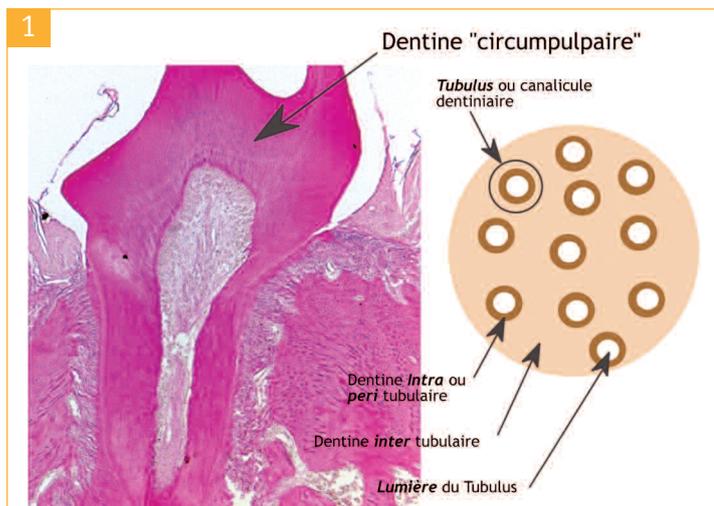


Fig. 1 : Description schématique de la structure de la dentine circumpulpaire (ou orthodentine). *Schematic description of the structure of circumpulpal dentin or orthodentin*

ainsi à une sclérose dentinaire. Ces différences structurales sont importantes à prendre en considération et peuvent poser des problèmes notamment pour les procédures de collage ; le protocole d'adhésion doit-il être le même pour coller une restauration de surface sur une dentine sclérotique, que pour l'obturation d'une cavité profonde sur une dent jeune ? Cette différence structurale est également importante en endodontie puisque de nouveaux processus d'obturation basés sur le collage sont envisagés ; la structure dentinaire dans le tiers apical se rapprochant plus d'une structure type fibro-dentine que de dentine tubulaire (Mjor, Smith et coll. 2001), la perplexité demeure sur les conditions d'étanchéité à court, moyen et surtout long terme avec l'utilisation de protocoles directement tirés du collage coronaire.

Les trois types de dentinogénèse

Il existe une grande confusion dans la dénomination des différentes dentines, à savoir, primaire, secondaire et tertiaire. De nombreuses définitions ont été proposées dans la littérature, et plusieurs sont contradictoires. Si ces définitions ne peuvent être considérées comme consensuelles, elles ont néanmoins été synthétisées par Goldberg (Goldberg et Smith, 2004) qui le définit comme suit :

La dentine primaire

La dentine primaire est la première dentine formée lors du développement de la dent, et qui permet d'établir le « patron » de l'organe. La partie la plus externe de cette couche, est non tubulaire et présente une structure histologique particulière ; il s'agit de la mantle dentine ou « dentine manteau ».

cing dentinal sclerosis. These structural differences are important to take into consideration and can raise problems particularly for bonding procedures. Must the bonding protocol be the same for surface bonding restorations done on sclerotic dentine and for restoring a deep cavity on a young tooth? This structural difference is equally important in endodontics since new techniques of obturation based on adhesives are considered. The dentinal structure at the apical third resembles more the fibro dentine type of structure than the dentinal tubules (Mjor, Smith et al. 2001). The perplexity remains on the sealing conditions at short-, medium- and long-term with the use of protocols directly taken from coronal bonding.

3 types of dentinogenesis

There are a lot of confusion naming the different types of dentine, namely, primary, secondary and tertiary dentine. Numerous definitions have been proposed in the literature, and many were contradictory. If these definitions cannot be considered as general opinion, they have nevertheless been synthesized by Goldberg (Goldberg and Smith, 2004) who defined it as follows :

The primary dentine

The primary dentine is the first dentine formed during tooth development. It helps establish the pattern of the organ. The most external part of this layer is not tubular and present a specific histologic structure called the « mantle dentine ».





La dentine secondaire

La dentine secondaire, est sécrétée de façon physiologique, après que la dent ait fait son apparition sur l'arcade pour certains, ou après fermeture apicale pour d'autres. Cette dentine est responsable de la diminution progressive de la lumière canalaire, souvent improprement appelée « calcification ». Cette dentine est physiologique, en aucun cas pathologique, et la sécrétion régulière est responsable de la réduction asymétrique du volume endodontique. Ce processus biologique permet de comprendre la différence de volume canalaire entre une dent jeune et une dent âgée. La sécrétion de cette dentine ne semble pas se faire de façon uniforme, mais concerne plutôt le plafond et le plancher pulpaire. La composition chimique et la structure histologique des deux types de dentine sont absolument identiques. Seule la vitesse de sécrétion $4\mu\text{m}/\text{jour}$ pour la primaire et $0,4\mu\text{m}/\text{jour}$ pour la secondaire est différente. La zone réelle de passage de l'une à l'autre est non matérialisable, elle n'a aucune incidence ni physiologique, ni thérapeutique (Fig. 2).

La dentine Tertiaire

La dentine tertiaire, quant à elle, est sécrétée en réponse à une agression (caries, abrasion,...) dans le but de protéger la pulpe sous jacente. Dans le cas d'une agression modérée (sans destruction des odontoblastes), la dentine sécrétée est dite réactionnelle. Lorsque l'agression est plus importante, et que la palissade odontoblastique est altérée, il s'agit d'une dentine réparatrice.

The secondary dentine

The secondary dentine is physiologically secreted, for some after the apparition of the tooth in the dental arch or for others after the apical closure. This dentine is responsible for the progressive reduction in canal space, often inaccurately called « calcification ». It is physiologic and in no way pathologic. The regular secretion is responsible for the asymmetric decrease in the root canal volume. This biological process allows understanding the difference of canal volume in young and old tooth. The secretion of this dentine does not seem to be uniform, but rather involves the pulp roof and floor. The chemical composition and the histologic structure of the 2 types of dentine are absolutely identical. Only the rate of secretion is different at $4\mu\text{m}/\text{day}$ for the primary dentine and $0.4\mu\text{m}/\text{day}$ for the secondary dentine. The actual crossing zone from one to another is not completed ; it has neither a physiologic nor therapeutic impact (Fig. 2).

The tertiary dentine

The tertiary dentine is secreted in response to an aggression (caries, abrasion...) in order to protect the underlying pulp. In the case of moderate aggression (without destruction to odontoblasts), the secreted dentine is reactional. When the damage is significant and the odontoblastic layer is altered, it concerns a reparative dentine.

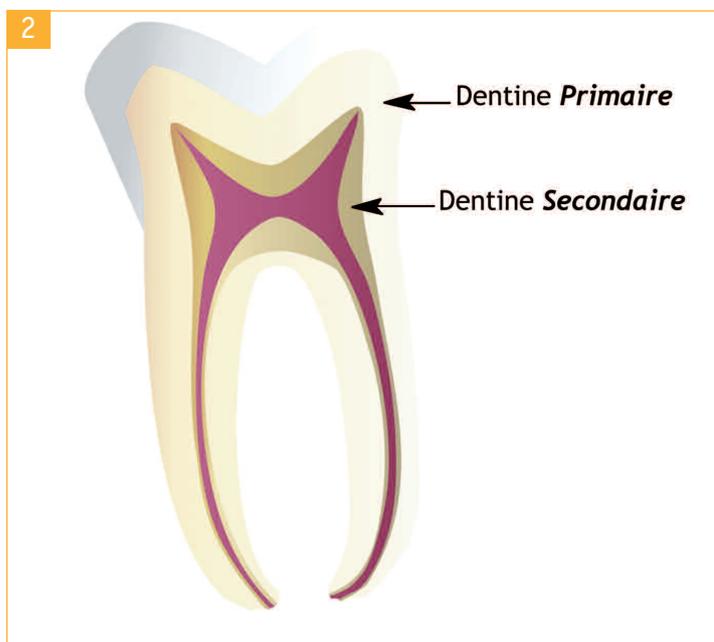


Fig. 2 : Patron histologique des deux types de dentine physiologiques, primaire et secondaire.
Histologic pattern of the 2 types of physiologic dentin, primary and secondary.



La distinction entre ces 3 dentines est importante, et notamment celle entre dentine secondaire (physiologique) et tertiaire (cicatricielle) ; elles sont souvent confondues dans la littérature.

La dentine et l'os

La comparaison peut paraître osée, mais la publication de nombreuses études montrent que la différence de composition entre les deux tissus est de moins en moins évidente. Des molécules qui semblaient être spécifiques de la dentine (telles que la Dentine Sialo Proteine ou DSP) sont dorénavant décrites dans l'os alvéolaire. Il est de plus en plus difficile de trouver des marqueurs qui permettent de caractériser biochimiquement de façon spécifique l'un ou l'autre des tissus. Néanmoins la concentration de ces molécules varie considérablement entre l'os et la dentine.

Sur le plan structurel, l'os et la dentine ont un certain nombre de points communs. Les cellules osseuses et pulpaires sont toutes deux issues du mésoderme. Cette origine commune peut expliquer les similarités retrouvées dans ces deux tissus minéralisés. Dans le tissu osseux, la sécrétion de la matrice est assurée par les ostéoblastes qui, une fois enrobées dans la matrice minéralisée, se modifient structurellement pour former des cellules à l'état quiescente appelées ostéocytes. Ces cellules sont capables de survivre ainsi enfermées.

Dans la dentine, l'odontoblaste est responsable à la fois de la sécrétion de la matrice organique retrouvée dans la prédentine, puis de sa minéralisation (Fig. 3).

The distinction between these 3 types of dentine is important, particularly that between secondary (physiologic) dentine and tertiary (reparative). They are often confused in the literature.

Dentin and bone

The comparison may seem audacious but the publication of numerous studies show that the difference in composition between the 2 tissues is less and less evident. The molecules that appeared to be specific for dentine (such as the Dentine Sialoprotein or DSP) are now described in the alveolar bone. It is more and more difficult to find markers that can in a specific manner, biochemically characterize the tissues from another one. Nevertheless, the concentration of these molecules varies considerably between bone and dentine.

In structural terms, bone and dentine have a certain number of points in common. The bone and pulp cells are both issued from the mesoderm. This common origin may explain the similarities found in these 2 mineralized tissues. In the osseous tissues, the secretion of the matrix is provided by osteoblasts. Once embedded in the mineralized matrix, it structurally changes to form inactive cells called osteocytes. These cells are able to survive and are encapsulated. In dentine, the odontoblast is responsible both for the secretion of the organic matrix found in the predentine and its mineralization (Fig. 3).

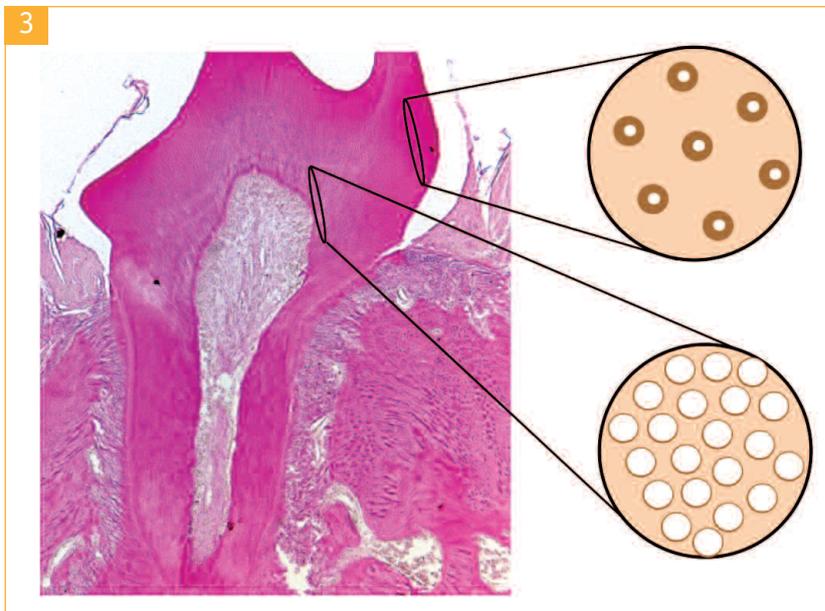


Fig. 3 : La densité des tubuli dentinaires varie en fonction de la profondeur de la dentine et de sa proximité de la cavité endodontique.
The density of the dentinal tubuli varies according to the depth of the dentin and its proximity to the pulp cavity.

Les cellules de la pulpe

La pulpe est composée de plusieurs types de cellules, plus ou moins différenciées.

Les odontoblastes

Les odontoblastes sont des cellules hautement différenciées, post mitotiques et organisées à la périphérie de la pulpe en palissade unicellulaire. La présence de tous les éléments de la machinerie de sécrétion/minéralisation dans ces cellules confirme leur intense activité, notamment durant la dentinogénèse primaire. A un stade plus avancé, l'activité étant réduite, elles reviennent à un état quiescent avec un nombre réduit d'organites cytoplasmiques (Jones et Boyde, 1984). Les cellules sont reliées par des jonctions cellulaires étanches (type gap-junction), organisant ainsi cette palissade cellulaire comme une véritable barrière de protection ; ces gap-jonctions sont également responsables d'une communication inter cellulaires, probablement impliquée dans le processus de cicatrisation pulpaire (Magloire, Couble et coll., 2004).

Contrairement aux cellules osseuses, l'odontoblaste ne reste pas inclus dans sa matrice, à l'exception d'un prolongement qui occupe le *tubulus*. Le prolongement odontoblastique contient certaines organelles (supposées responsables de la sécrétion plus tardive de la dentine intra tubulaire), mais est surtout occupé par un réseau dense de micro-filaments et autres micro tubules.

De plus en plus d'auteurs tendent à considérer que les odontoblastes coronaire (et le reste de la pulpe camérale d'ailleurs) sont différents de ceux rencontrés au niveau radiculaire. Les odontoblastes coronaire sont allongés, pyramidaux, avec un noyau apical, alors que leurs homologues radiculaires sont cubiques, signe morphologique d'une activité largement inférieure. Cet état de fait, rarement pris en considération, permettrait d'expliquer pourquoi des thérapeutiques validées au niveau coronaire (coiffage pulpaire, par exemple) sont souvent vouées à l'échec, lorsqu'elles sont appliquées au contact de la pulpe radiculaire (pulpotomie).

La seconde partie, remarquable sur le plan histologique de la pulpe, est une zone dense en cellules (couche de Höhl, séparée de la palissade odontoblastique par une couche acellulaire dite de Weil).

Au cours du processus de différenciation cellulaire, un nombre déterminé de mitoses (10 chez l'humain) sont nécessaires avant de parvenir au phénotype cellulaire terminal de l'odontoblaste. La dernière mitose est particulière, notamment dans son processus et fournit, comme toute division cellulaire, deux cellules ; une appelée à migrer vers la palissade et qui donnera un

Pulp cells

The dentale-pulp is made up of several types of cells, more or less different.

Odontoblasts

The odontoblasts are highly differentiated cells, post-mitotic and organized in the peripheral area of the pulp in a unicellular palisade. The presence of all the elements of the secretory/mineralization machinery in these cells confirms their intensive activity, particularly during the primary dentinogenesis. At a later stage, the activity is reduced, they return to an quiescent state with a reduced number of cytoplasmic organelles (Jones and Boyde, 1984). Gap junctions link the cells and this cellular palisade organize to form a real protective barrier. These gap junctions are also responsible for intercellular communication, probably involved in the healing process of the pulp (Magloire, Couble et al., 2004).

Contrary to osseous cells, the odontoblast does not remain included in the matrix with the exception of a process that occupies the *tubulus*. The odontoblastic process contains certain organelles (supposedly responsible for the future secretion of intratubular dentine) but is mostly occupied by a dense network of microfilaments and other microtubules.

More and more authors tend to consider that crown odontoblasts (and the rest of the pulp for that matter) are different from those of the root. The crown odontoblasts are elongated, pyramidal, with a basal nucleus, while their counterparts are cubic ; a morphological sign of a largely inferior activity. This is rarely taken into account and would explain why treatments done at the coronal area (pulp capping for example) are often doomed to failure, when applied in contact with the root pulp (pulpotomy).

The second part remarkable in terms of pulpal histology is a zone with high density of cells (Höhl's layer, separate from the odontoblastic palisade by an acellular layer called, Weil's zone).

During the process of cell differentiation, a specific number of mitosis (10 in humans) is needed before reaching the terminal cell phenotype of the odontoblast. The final mitosis is distinct in its supply and process. Like any cell division, two cells are provided ; one called to migrate towards the palisade and gives an odontoblast, a second that does not fit into



odontoblaste, une seconde qui ne rentrera pas dans le processus terminal de différenciation et se retirera pour être stockée dans la couche de Höhl (Ruch, Lesot et coll., 1995).

Cette couche a donc longtemps été considérée comme un réservoir potentiel de cellules, capable de s'engager dans un processus cicatriciel (puisque proche de la différenciation terminale) en cas de disparition partielle de la couche d'odontoblastes.

Entre les deux couches cellulaires, le réseau capillaire et nerveux est important ; certaines fibres nerveuses peuvent même accompagner le prolongement cytoplasmique dans le tubulus sur quelques micromètres. De fins capillaires pénètrent la palissade odontoblastique et permet de fournir à ces cellules l'ensemble des éléments nécessaires à leur activité de synthèse/minéralisation.

Les fibroblastes pulpaire

Comme tout tissu conjonctif, la majorité du tissu pulpaire est composé de fibroblastes ; ces cellules sont à la fois responsables de la formation et du renouvellement de la matrice extra cellulaire mais également de sa destruction contrôlée. La matrice extra cellulaire joue un rôle important dans ce tissu conjonctif dit « lâche » ; sa viscosité varie avec le temps (fibrose au cours du vieillissement) et avec les processus physio-pathologiques ; sa viscoélasticité permet à la pulpe de s'adapter à d'éventuelles variations de pression (modérées) inhérentes à des processus inflammatoires. C'est notamment grâce à cette adaptabilité tissulaire que de nombreuses inflammations pulpaire sont cliniquement silencieuses. Lorsque l'augmentation de pression intra pulpaire liée à la vasodilatation inhérente à l'inflammation ne peut plus être compensée, la douleur ressentie par le patient est alors violente.

Les cellules de défense

De nombreuses cellules défenses immunocompétentes, notamment des cellules dendritiques et des mastocytes ont été identifiées dans le tissu pulpaire (Jontell, Gunraj et coll., 1987), même en condition physiologique (Jontell, Bergenholtz et coll., 1988).

Des macrophages sont fréquemment retrouvés dans la pulpe saine, notamment en périphérie du tissu pulpaire (Trowbridge 2002). Ces cellules phagocytaires participent ainsi à la surveillance immunitaire de la pulpe, et permettent de répondre rapidement à toute agression bactérienne (Okiji, Kawashima et coll., 1992 ; Okiji, Morita et coll., 1992).

Les produits d'origine bactérienne (toxines notamment) diffusent via les *tubuli*, et en contact avec les cellules pulpaire se comportent comme des antigènes ; le système immunitaire propre au parenchyme pulpaire joue

the terminal differentiation process and will withdraw to be stored in the Höhl's layer (Ruch, Lesot et al. 1995).

For a long time, this layer has been regarded as a potential reservoir of cells capable of engaging in a reparative process (almost close to the terminal differentiation) in the case of the disappearance of the partial layer of odontoblasts.

Between the 2 cell layers, the capillary and nervous system is important. Some nerve fibers can even accompany the cytoplasmic extension within a few micrometers. Fine capillaries penetrating the odontoblastic palisade can provide these cells all the elements necessary for their synthesis/mineralization activity.

Pulp fibroblasts

Like any connective tissue, the majority of the pulp tissue is composed of fibroblasts. These cells are both responsible for forming and renewal of the extracellular matrix but also control its destruction. The extracellular matrix plays an important role in this loose connective tissue. Its viscosity varies with time (fibrosis during aging) and with the physiopathological process. Its viscoelasticity allows the pulp to adapt to possible changes in moderate pressure associated with inflammatory processes. Owing to this tissue adaptability, many pulpal inflammations are clinically subdued. When there is an increase in intrapulpal pressure associated with pulpal vasodilation, inherent inflammation can no longer be compensated thus violent pain is felt by the patient.

Defense cells

Many immunocompetent defense cells, including dendritic cells and mast cells have been identified in the pulp tissue (Jontell, Gunraj et al., 1987), even in a physiological condition (Jontell, Bergenholtz et al., 1988).

The macrophages are frequently found in healthy pulp, especially on the periphery of the pulp tissue (Trowbridge 2002). These phagocytic cells thus participate in the immune surveillance of the pulp and can respond quickly to any bacterial aggression (Okiji, Kawashima et al., 1992 ; Okiji, Morita et al., 1992).

The bacterial products (including toxins) are diffused via the *tubuli* and come in contact with the pulp cells behaving like antigens. The immune system unique to pulp parenchyma plays an important role





ainsi un rôle important (Heyeraas, Sveen et coll., 2001). Les cellules dendritiques, quant à elles, capturent les antigènes, migrent vers les ganglions lymphatiques ou elles les présentent aux lymphocytes T. Ces lymphocytes T activés, retournent vers la pulpe lésée. L'hôte est ainsi « immunisé » et en cas de représentation de ces antigènes, la présentation aux cellules T se fera directement. D'autres molécules, et notamment ceux de la famille TGF β , libérés de la dentine lors de sa déminéralisation, sont capables de déclencher une réponse du système immunitaire pulpaire (Jontell, Okiji et coll., 1998).

Les cellules dendritiques interagissent également avec les fibres nerveuses ou les vaisseaux de la pulpe. La réponse neuro-immunologique de la pulpe est vraisemblablement la première réaction inflammatoire du complexe pulpodentinaire en cas d'agression (Jontell, Okiji et coll., 1998).

Des cellules progénitrices

L'intérêt croissant de la communauté scientifique pour les cellules souches n'épargne pas le domaine de l'odontologie. La mise en évidence de cellules progénitrices, appelées Dental Pulp Stem cells (DPSC) (Gronthos, Mankani et al., 2000) au sein du stroma pulpaire a permis de démontrer l'intérêt particulier que présentait l'organe dentaire en tant que « niche » de cellules de remplacement. Une seconde population de cellules souches a été mise en évidence dans la pulpe de la dent temporaire. Ces cellules SHED (stem cells from human exfoliated deciduous teeth) (Miura, Gronthos et coll., 2003) sont particulièrement intéressantes, puisque faciles à collecter lors de la chute de la dent et de son remplacement sur l'arcade par son homologue définitive.

L'intérêt de la présence de ces cellules souches dans la pulpe dentaire est double :

- 1/ plus facile à collecter que les cellules de la moelle osseuse (réputée comme source principale de cellules souches post natales), elles se révèlent être un réservoir de cellules multipotentes intéressantes et présentent ainsi un intérêt scientifique majeur dans le domaine de la biotechnologie ; elles doivent néanmoins faire l'objet d'investigations plus poussées pour déterminer leur réel degré de « plasticité » et définir leur aptitude à pouvoir se différencier en différents tissus (dentaire ou non).
- 2/ après coiffage direct, la formation de nouveaux « odontoblastes » est nécessaire, et la différenciation se fait à partir de cellules dont l'origine n'est pour le moment pas clairement définie. La présence à proximité de la lésion de cellules dites « souches » est donc particulièrement intéressante pour les

(Heyeraas, Sveen et al., 2001). The dendritic cells in turn, capture antigens. They migrate to the lymph nodes where they are introduced to T cells. These activated T lymphocytes return towards the pulp injury. The host is thus « immunized » and in case of representation of these antigens, there will be direct presentation to T cells. Other molecules, including those of TGF- β family released in the dentine during its demineralization are capable of triggering an immune system response of the pulp (Jontell, Okiji et al., 1998).

The dendritic cells interact within the nerve fibers or vessels of the pulp. The neuroimmunologic response of the pulp is probably the initial inflammatory reaction of the dentine-pulp complex in case of aggression (Jontell, Okiji et al., 1998).

Progenitor cells

The growing interest of the scientific community for stem cells does not spare dentistry. The identification of progenitor cells known as Dental Pulp Stem cells (DPSCs) (Gronthos, Mankani et al., 2000) within the pulp stroma has demonstrated the particular interest since it is presented by the dental organ as a « niche » for cell replacement. A second population of stem cells has been highlighted in the pulp of the temporary tooth. These SHED cells (stem cells from human exfoliated deciduous teeth) (Miura, Gronthos et al., 2003) are particularly interesting since they are easy to collect during tooth loss and is replaced in the dental arch by its permanent counterpart.

The advantage of the presence of these stem cells in the dental pulp is twofold :

- 1/ easier to collect than bone marrow cells (known as the main source of postnatal stem cells), they are an interesting reservoir of multipotent cells and present a major scientific interest in the field of biotechnology. They must be further investigated to determine their actual degree of « plasticity » and define their ability to differentiate into different tissues (dental or not) ;
- 2/ after direct pulp capping, the formation of new « odontoblasts like » is necessary and its differentiation is made from cells whose origin is currently not clearly defined. The close presence of cellular lesions called « stem » is therefore particularly interesting for investigations on the pulp





investigations sur le processus de réparation pulpaire, même si de nombreux auteurs tendent à penser que l'origine de ces cellules peut également se trouver à distance de l'organe dentaire.

Une caractérisation plus précise, et notamment la détermination de marqueurs spécifiques sont à ce jour des voies d'investigations particulièrement actives ; la mise en évidence de facteurs spécifiques, permettrait ainsi de repérer *in situ* ces cellules de façon plus précises et d'étudier leur comportement plus précisément au cours du processus de cicatrisation. Le caractère de « cellule souche » au sens scientifique du terme doit notamment être confirmé.

La découverte des cellules dites souches dans la pulpe dentaire a permis depuis 2000 de relancer sérieusement l'intérêt de la recherche en odontologie et surtout de lui donner une autre dimension aux yeux de la communauté scientifique.

Malgré les interrogations, la découverte de ces cellules dites « cellules souches post natales » est un véritable trésor qui permet d'engager sérieusement le développement de biotechnologie dans le processus de cicatrisation pulpodentinaire.

Les *tubuli* dentinaires : un lieu de communication

Une structure tubulaire

Les *tubuli* sont nombreux (en moyenne 30 000 par mm²), et leur diamètre chez l'humain varie de 1 à 3µm ; leur distribution est inégale et la densité augmente près de la cavité pulpaire (Fig. 3).

Rarement rectiligne, leur trajet est plutôt sinusoïdal, et ils présentent de nombreuses ramifications latérales, responsables de communications potentielles entre eux. En réalité une grande partie du volume dentinaire est occupé par du « vide ». Cette organisation poreuse de ce tissu minéralisé transforme la dentine en une véritable membrane, siège d'une communication réelle entre l'extérieur et l'intérieur de la dent.

Leur répartition sur la surface dentinaire varie considérablement en fonction de la zone étudiée, et notamment en fonction de la proximité pulpaire de la zone concernée. La surface occupée par ces *tubuli* est estimée à 1 % de la surface dentinaire en périphérie (sous l'émail) et à 22 % à proximité de la pulpe. Cette répartition variable permet de comprendre aisément l'in-

repair process, even though many authors tend to think that the origin of these cells may also be found at a distance from the dental organ.

A more precise characterization including determining specific markers are so far a field of particular active investigations. The identification of specific factors allows more precise reparation of these cells *in situ* and to study their distinct behavior during the healing process. The character of « stem cells » in a scientific sense of the term must be confirmed.

Since 2000, the discovery of so-called stem cells in the dental pulp has allowed to revive the interest of research in dentistry especially to give it another dimension in the perception of the scientific community.

Despite the questions, the discovery of these so-called « postnatal stem cells » is a paragon allowing to engage seriously the development of biotechnology in the dentine-pulp healing process.

Dental tubuli : a site of communication

Tubular structure

The *tubuli* are numerous with an average of 30,000/mm². Their diameter in humans varies from 1 to 3µm. Their distribution is unequal and their density increase near the pulp cavity (Fig. 3).

Rarely linear, their course is rather sinusoidal and they have many lateral ramifications responsible for potential communications between them. In fact, a large part of tooth volume is occupied by « voids ». Organization of this porous mineralized tissue transforms dentine into a real membrane, which is the center of real communication between the internal and external areas of the tooth.

Their distribution on the tooth surface varies considerably depending on the study area and in particular, depending on the proximity of the pulp of the concerned area. The area occupied by these tubuli is estimated at 1 % of the tooth surface of the periphery (under the enamel) and 22 % near the pulp. This irregular distribution by opening channels into the



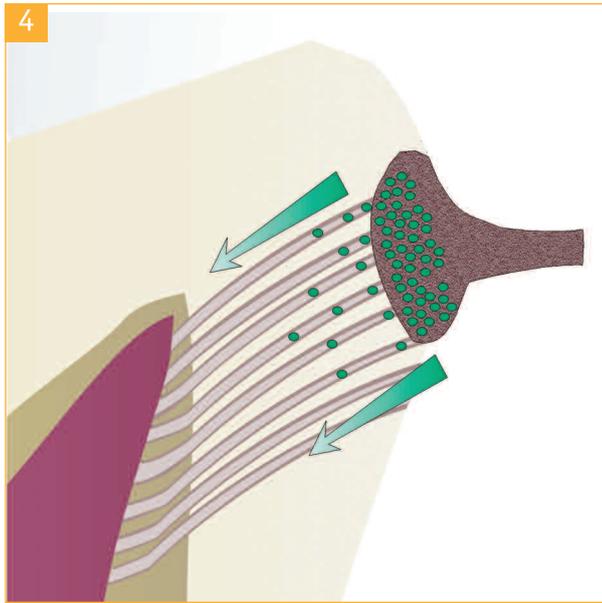


Fig. 4 : Principe du phénomène de diffusion dans les tubuli dentinaires.
Principle of the diffusion phenomenon in the dentinal tubuli.

fluence de la réalisation d'une cavité ou d'une préparation corono périphérique sur l'ouverture des voies de diffusion vers le tissu pulpaire, et le passage ainsi facilité des bactéries, toxines et autres agresseurs vers le parenchyme pulpaire et les odontoblastes en particulier. Ces *tubuli* sont occupés sur toute leur longueur par un fluide dentinaire, vraisemblablement issu d'un exsudat cellulaire provenant du parenchyme pulpaire. Deux phénomènes sont rencontrés et mis en opposition à partir du moment où les *tubuli* sont ouverts.

1/ **Le phénomène de diffusion (Fig. 4) :** processus biochimique connu, la diffusion d'une molécule d'un milieu vers un autre est particulièrement rencontrée en physiologie. Lorsque dans deux milieux biologiques (ici la pulpe d'un côté, et le milieu extérieur de l'autre) séparés par un filtre (ici les *tubuli*), un produit est présent en concentrations différentes, il y a diffusion du milieu le plus concentré vers le second, pour tendre à l'équilibre des concentrations. Dans le cas précis de la dent, la présence de bactéries en concentration importante dans la salive impliquera leur diffusion passive vers le parenchyme pulpaire stérile. L'augmentation progressive du diamètre de ces canalicules à proximité de la pulpe favorise particulièrement ce mode de contamination. Le diamètre des bactéries reste néanmoins un obstacle à leur passage, notamment dans le cas de caries peu profondes ou le diamètre des *tubuli* est inférieur à celui de la bactérie ; néanmoins, le passage de toxines reste tout à fait possible.

2/ **La pression intra pulpaire** est supérieure à la pression extérieure à la dent. Physiologiquement, la surpression interne tend à repousser le fluide vers l'ex-

pulp tissue helps to understand their influence during cavity preparation or peripheral crown preparation. Thus, there is ease in the passage of bacteria, toxins and other attackers to the pulp parenchyma and odontoblasts in particular.

These *tubuli* are filled throughout their length by a dental fluid, probably from a cell exudate from the pulp parenchyma. Two phenomena are encountered and put into opposition from the moment the *tubuli* are open.

1/ **The phenomenon of diffusion (Fig. 4) :** known as the biochemical process. The dissemination of a molecule from a milieu to another is particularly encountered in physiology. When the 2 biological milieux, on one side the pulp and the external milieu on the other are separated by a filter (the *tubuli*), a product is present in different concentrations. There is diffusion of the more concentrated milieu towards the second to seek balanced concentrations. In the specific case of the tooth, the presence of bacteria in significant concentrations in the saliva will involve their passive diffusion towards the sterile pulp parenchyma. The gradual increase in the diameter of these canaliculi near the pulp particularly favors this mode of contamination. The diameter of the bacteria remains an obstacle to their transit especially in the case of shallow cavities or *tubuli* diameter lower than that of the bacteria, but the passing of toxin remains quit possible.

2/ **The intrapulp pressure** is greater than the pressure outside the tooth. Physiologically, the internal pressure tends to push the fluid outwards and

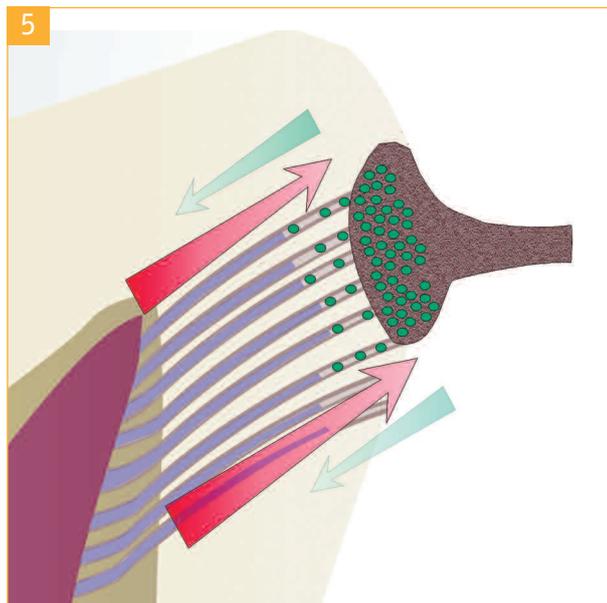


Fig. 5 : La différence de pression entre la cavité pulpaire et l'extérieur est un moyen de protection du parenchyme pulpaire
The difference of pressure between the pulp cavity and the exterior is a way of pulp tissue protection.

térieur et limite ainsi les risques de contamination (Fig. 5). Le rôle de filtre de la dentine est particulièrement lié à ce processus physiologique.

Cette surpression intra pulpaire a une implication directe sur les manœuvres cliniques. Dans les processus de collage, il est recommandé de « sécher sans dessécher » la surface dentinaire. Il est alors tout à fait remarquable que quelques secondes après cette étape de séchage, la surface dentinaire soit à nouveau humide. Vouloir absolument supprimer toute trace d'humidité à ce stade, consisterait à dessécher inutilement la dentine, et s'accompagnerait d'une souffrance pulpaire inutile, elle-même à l'origine de douleurs post opératoires inévitables. Pour prendre en compte ce facteur, les nouvelles générations d'adhésifs tolèrent la présence de cette humidité dentinaire pour assurer une adhésion optimale.

La perméabilité dentinaire est un facteur inévitable à prendre en considération dans les procédures thérapeutiques en odontologie. Toute intervention sur la dent s'accompagne d'une agression du tissu pulpaire ; les processus de défense mis en œuvre en réponse à ces agressions sont nombreux et complexes, et pour beaucoup méconnus. Ils sont néanmoins à l'origine des processus de cicatrisation d'une part, et d'autre part des douleurs post opératoires parfois rencontrées après un traitement d'odontologie conservatrice. Les connaître et savoir les appréhender permet d'optimiser les résultats et anticiper surtout le confort du patient après la séance de soins. La théorie de l'hydrodynamique pulpaire (Brannström 1963) est le processus le plus connu pour appréhender

limit the risk of contamination (Fig. 5). The role of dentine as a filter is particularly linked to this physiological process.

This intrapulpal overpressure has a direct implication on clinical procedures. In the bonding technique, it is recommended to « dry without desiccation » the dentine surface. It is quite remarkable that after a few seconds of this drying stage, the dentine surface is again moisty. Wanting absolutely to remove any trace of moisture at this stage would be to dry uselessly the dentine, accompanied by unnecessary pulp suffering; itself the cause of inevitable postoperative pain. To take into account this factor, new generations of bonding tolerate the presence of this dentine moisture to ensure optimal adherence.

The dentine permeability is an unavoidable factor to be considered in dental therapeutic procedures. Any intervention on the tooth is accompanied by an assault to the pulp tissue. The defense process implemented in response to these attacks are numerous, complex and mostly ignored. They are nevertheless the origin of the healing process on the one hand, and on the other hand, postoperative pain sometimes encountered after conservative dental treatment. Understanding and perceiving pain can optimize results and anticipate the comfort of the patient after the treatment.

The theory of pulp hydrodynamics (Brannström 1963) is the process widely known for perceiving the



le problème de la douleur pulpaire. Basé sur de nombreuses investigations, Branström a émis une théorie pour tenter de comprendre comment une dent pouvait devenir très sensible, notamment au froid, après exposition dentinaire, alors que les autres dents de la même cavité buccale demeuraient indolores ! Pourquoi également le fait de déposer expérimentalement quelques gouttes de solution sucrée sur une dent pouvait déclencher des douleurs violentes, alors que les patients vivent très bien en consommant des solutions beaucoup plus agressives pour leurs autres dents ?

Avec ses études histologiques et physiologiques, il démontrait clairement que la sensibilité dentinaire est en partie étroitement liée à des déplacements rapides et fugaces du fluide dentinaire à l'intérieur des *tubuli*, et qu'ils sont à l'origine de répercussions vasculaires et nerveuses au niveau pulpaire.

Depuis sa publication, de nouvelles théories ont été proposées pour compléter la description de la sensibilité dentinaire, et notamment la pertinence d'une innervation même partielle des *tubuli*. Des découvertes récentes sur l'odontoblaste, ont permis de mettre en évidence les propriétés sensorielles dont est dotée cette cellule ; son rôle dans la transformation en signal nerveux et de sa transmission au réseau nerveux est de plus en plus d'actualité (Okumura, Shima et coll., 2005 ; Allard, Magloire et coll., 2006).

Si les processus exacts méritent d'être décrits plus précisément, les connaissances actuelles permettent d'ores et déjà de comprendre un certain nombre de processus physiopathologiques rencontrés dans un exercice professionnel quotidien. En effet, il n'est pas rare d'avoir à gérer des plaintes de patients après collage d'un inlay réalisé en méthode indirecte. Des sensibilités sont notamment rencontrées lors de la mastication et peuvent être expliquées avec la théorie hydrodynamique. Au cours de la mastication, les propriétés viscoélastiques de certains adhésifs leur confèrent un effet dit « d'amortisseur ». A chaque micromouvement, les fluides situés dans les *tubuli* et dans la couche hybride sont animés, et peuvent être responsable d'une surpression de l'extérieur vers le parenchyme pulpaire. Ainsi, à chaque fois que le patient sollicite sa restauration, il ressent une douleur aiguë et fugace (Fig. 6).

Le déplacement des fluides dentinaires permet également de comprendre le phénomène douloureux particulier, décrit par les patients présentant une fêlure radiculaire. Cette douleur est particulière, dans le sens, où elle n'existe pas à la pression, mais au relâchement (ouverture). Dans le cas d'une fêlure, la pression sur la dent (occlusion) est à l'origine de micromouvements et tend à séparer les deux berges de la fêlure ; les fluides pulpaire ont alors tendance à envahir l'espace ainsi créé.

problem of pulp pain. Based on numerous investigations, Branström issued a theory to try to understand how a tooth could become very sensitive, especially in cold, after dentine exposure, while the other teeth in the same oral cavity remained painless! While patients have no problem of consuming aggressive solutions for their teeth, why is it that experimentally putting a few drops of sweetened solution on a tooth could trigger violent pain?

With his histological and physiological studies, he clearly showed that the dentine sensitivity is partly linked to rapid and transient displacements of the dentinal fluid inside of *tubuli* and is at the origin of vascular and neural repercussions on pulp.

Since his publication, new theories have been proposed to complete the description of dentine sensitivity, and in particular the relevance of even partial innervation of the *tubuli*. The recent discoveries on odontoblast have revealed the sensory properties of which this cell is equipped, its role in transforming a nervous signal and its increasingly up-to-date transmission to the nervous system (Okumura, Shima et al., 2005 ; Allard, Magloire et al., 2006).

If the exact process should be described more specifically, the current knowledge has understood a number of physiopathological processes encountered in the daily professional practice. Indeed, it is not uncommon to have to deal with complaints of patients after an inlay done through the indirect method. These sensitivities are encountered during mastication and can be explained with the hydrodynamics theory. During chewing, viscoelastic properties of some adhesives give them a so-called « shock absorbing effect ». At each micromovement, fluids located in the *tubuli* and the hybrid layer is animated and can be responsible for creating an excess overpressure from the outside towards the pulp parenchyma. Thus, whenever a patient is in contact with his restoration, he feels a sharp and transient pain (Fig. 6).

The movement of dentinal fluids also helps to understand the pain phenomenon particularly described by patients with root fractures. This pain is unique in the sense that there is no pressure during opening. In the case of a hairline crack, the pressure on tooth occlusion is the origin of micromovements and tends to separate the two edges of the crack, where pulp fluids have a tendency to invade the space created. In releasing the pressure, the two

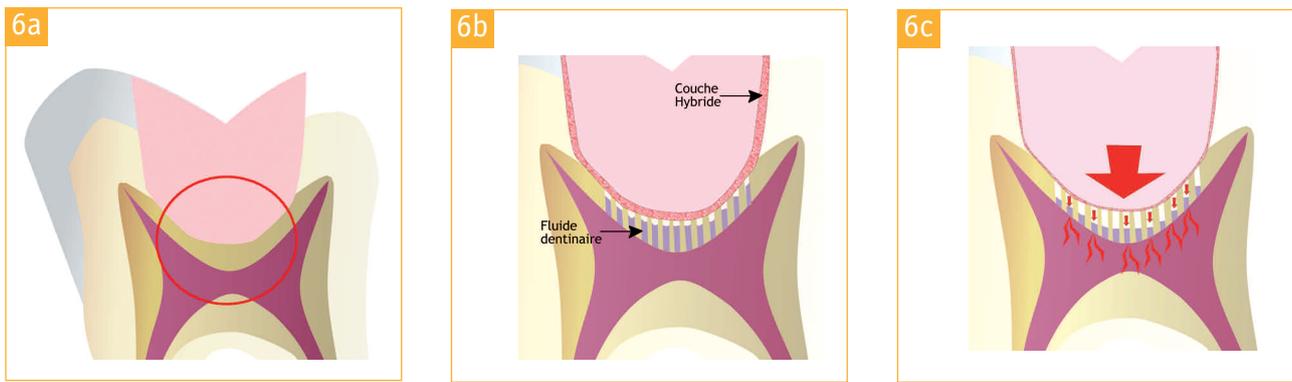


Fig. 6 : Principe de la théorie hydrodynamique de Brånström sous une restauration collée (a). L'application des forces sur l'obturation peut provoquer un déplacement du fluide dentinaire dans les tubuli, et crée une surpression pulpaire qui peut être à l'origine d'une gêne post opératoire (b et c).

Principle of Brånström's hydrodynamic theory under an bonded restoration. The application of forces on the filling can provoke dentin fluid displacement and creates an overpressure in the pulp that may be the origin of post-operative problems (b and c).

En relâchant la pression, les deux berges dentinaires se referment, créent ainsi une surpression intra pulpaire, à l'origine de douleurs aiguës, et fugaces. Il est alors aisément compréhensible que le seul traitement de ce type de pathologie tend à prévenir l'écartement des berges et d'envisager ainsi un cerclage de la dent concernée (couronne par exemple). Dans ce cas précis, le traitement endodontique de la dent est totalement sans fondement.

Incidence sur le développement de nouvelles techniques.

Ces processus précédemment décrits sont à l'origine de la nouvelle ère de la dentisterie commencée il y a maintenant quelques années. La notion de désinfection des cavités par exemple est primordiale, afin de prévenir toute pénétration de bactéries et de diffusion de leur toxines sous les restaurations composites, où toutes les conditions requises pour leur développement sont assurées (humidité, température, et nature du substrat résineux).

Si les bactéries peuvent diffuser, il convient de garder à l'esprit que les agents utilisés pour combattre l'infection peuvent également diffuser via les *tubuli* ; leur toxicité potentielle doit donc être prise en compte.

Après avoir focalisé leurs efforts sur le problème de la rétention, les industriels recentrent progressivement leurs recherches sur le développement de produits ou molécules diverses à ajouter au système de collage ; l'objectif est de compléter l'action de l'agent adhésif en lui conférant des propriétés complémentaires, telle qu'une désinfection rémanente par exemple. Le Protect Bond® (Kurary, Germany) dans lequel du 12-Methacryloyloxy-Dodecyl-Pyridinium Bromide (MDPB) est ajouté à l'adhésif, est un exemple manifeste de cette nouvelle génération de produits.

edges reclose, creating intrapulp over-pressure being the source of acute and transient pain. It is easily understandable that the only treatment for this type of disease is to prevent the parting of these edges and to bind the concerned tooth (ex. prosthetic crown). In this case, the endodontic treatment of the tooth is totally unnecessary.

Impact on the development of new techniques

These processes previously described are the beginning of the new era of dentistry started a few years ago. The concept of cavity disinfection, for example, is essential to prevent any penetration of bacteria and the diffusion of toxins under the composite restorations, where all the conditions required for their development are guaranteed (humidity, temperature and nature of resinous substrate).

If the bacteria can spread, it should be kept in mind that agents used to fight infection may also spread via the *tubuli*. Their potential toxicity should therefore be taken into account.

After focusing their efforts on the problem of retention, the industry gradually refocused their research on product development or various molecules to add to the system of bonding. The objective is to supplement the action of the bonding agent by giving it additional properties, such as residual disinfection. The Protect Bond® (Kurary, Germany) with 12-Methacryloyloxy-Dodecyl-Pyridinium Bromide (MDPB) is added as an adhesive, which is an example of this new generation products.

Further research is underway to study the addition of





De nouvelles recherches sont actuellement en cours pour étudier l'ajout d'autres molécules qui, elles, joueraient un rôle de signalisation vers le tissu pulpaire, afin de l'engager dans une voie de cicatrisation.

Vers une approche biologique

Depuis quelques années, une nouvelle approche de la dentisterie restauratrice a permis de prendre en compte l'importance de la vitalité pulpaire, et de la communication très sophistiquée existant entre les différentes cellules de ce tissu finalement très complexe.

Une évolution récente des principes thérapeutiques d'odontologie conservatrice a été possible grâce à la compréhension de nombreux processus physiopathologiques du complexe pulpo-dentinaire, et au développement de nouveaux matériaux plus performants et dont la tolérance est adaptée aux conditions cliniques.

Un exemple manifeste de cette évolution est le remplacement progressif de l'amalgame par le composite comme matériau de reconstitution coronaire de choix. Pour justifier cette mutation, certains arguent de l'effet toxique de l'alliage (toujours non validé scientifiquement et il faut noter que les résines sont loin d'être inertes), d'autres du risque de contamination écologique ou enfin du bénéfice esthétique apportés par le mimétisme de nouveaux matériaux (avantage primordial pour la restauration de la 3^{ème} molaire maxillaire !)

Mais l'intérêt de cette mutation thérapeutique est également biologique ; les progrès incontestables effectués sur les systèmes adhésifs ont permis de s'affranchir des artifices de retentions nécessaires au maintien des obturations non adhérentes au tissu dentinaire. Ainsi les cavités décrites par Black et les extensions dites prophylactiques ont pu être abandonnées et remplacées par des cavités beaucoup moins mutilantes. Si la conservation d'un maximum de tissu dentinaire est satisfaisant sur le plan bio mécanique, la réduction de la taille des cavités s'accompagnent surtout de la diminution du nombre de *tubuli* ouverts, et donc des voies de communications vers le parenchyme pulpaire. L'amélioration du pronostic à long terme apporté par ce type de thérapeutique est manifeste (Murray, About et coll. 2000). La dentisterie minimaliste, dite « non invasive » trouve alors tout son intérêt (Pashley 1996 ; Pashley 2002).

Réponse pulpaire aux agressions

Les progrès réalisés en ingénierie tissulaire ont poussé les chercheurs à mieux comprendre le fonctionnement de l'odontoblaste et de la pulpe en général après agres-

other molecules, which play a role in signaling the pulp tissue for healing to occur.

Towards a biological approach

In recent years, a new approach in restorative dentistry allowed to take into account the importance of the pulp vitality and the very sophisticated communication existing between the different cells of this ultimately complex tissue.

Recent developments in the therapeutic principles of conservative dentistry has been possible owing to the understanding of numerous physiopathological process of the dentine-pulp complex and the development of more efficient new materials whose tolerance is appropriate in clinical conditions.

A clear example of this trend is the gradual replacement of amalgam by the composite material as crown restoration of choice. To justify this change, some argue about the toxic effect of alloy (still not scientifically validated and it should be noted that the resins are far from being inert), others about the risk of environmental contamination or even aesthetics finally obtained by the mimicry of new materials (essential advantage for the restoration of the wisdom tooth !).

But the interest of this therapeutic change is also biological. The undeniable progress made on bonding systems have made it possible to avoid making retentions needed to maintain non-adherent fillings to dentine. Thus, cavities described by Black and the so-called prophylactic extensions have been abandoned and replaced by cavities much less mutilating. If keeping a maximum amount of dentine tissue is satisfactory in terms of biomechanics, the reduction in the size of cavities accompanied by a reduction in the number of open *tubuli*, the channels of communications to the parenchyma pulp are thus maintained. Improving the long-term prognosis brought about by this type of therapy is evident (Murray, About et al. 2000). Therefore, the so-called « non-invasive » conservative dentistry finds its interest (Pashley 1996 ; Pashley 2002).

Pulp response to aggressions

Progress in tissue engineering has led researchers to better understand the functioning of the odontoblast and the pulp in general after aggression. It is clearly



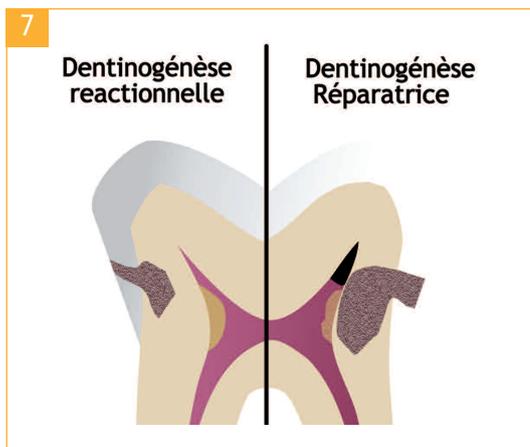


Fig. 7 : Les deux types de dentinogénèse tertiaire.
Types of tertiary dentinogenesis.

sion. Il est clairement établi dans la littérature que la dentine tertiaire sécrétée en l'absence d'effraction pulpaire est généralement réactionnelle.

Après la sécrétion initiale de dentine primaire au cours du développement, l'odontoblaste sécréteur semble tomber dans une forme mi quiescente mi active au cours de laquelle il poursuit son activité de sécrétion mais à un rythme beaucoup plus lent. Le processus qui permet à cette cellule de réduire son activité de sécrétion n'est pas élucidé à ce jour.

Lors d'une agression (cariéuse ou mécanique) aussi minime soit-elle, la réponse pulpaire est systématique. Grâce à son pouvoir de défense et d'adaptabilité, toute modification histologique ne s'accompagne pas forcément de manifestation clinique (Seltzer, Bender et coll., 1963). En fonction de la nature de l'agression (lente/rapide), de facteurs, tels que la réponse de l'hôte, la flore bactérienne, les habitudes alimentaires du patient, la réponse pulpaire est différente. Si l'agression est faible ou modérée le problème sera résolu par la sécrétion de dentine réactionnelle par la pulpe jusqu'à ce qu'une procédure clinique stoppe l'agression. Si l'agression est plus importante et conduit à la mort des odontoblastes (caries profonde, effraction pulpaire par traumatisme), de nouvelles cellules sécrétrices doivent intervenir, et l'on parlera alors de dentine réparatrice (Fig. 7).

Dentinogénèse réactionnelle

Après une agression externe, l'odontoblaste sort de sa phase quiescente, et se remet à sécréter à un rythme plus soutenu. Histologiquement, la ligne dite calcio-traumatique marque dans l'épaisseur de la dentine le moment de « déclenchement » de cette nouvelle activité (Fig. 8).

Les processus exacts mis en jeu restent non élucidés ; néanmoins il est tentant de penser que les processus

stated in the literature that tertiary dentine is generally reactive and is secreted in the absence of pulp aggression.

After the initial secretion of primary dentine during development, secretory odontoblast seems to fall into a semi-inactive, semi-active form during which it continues its secretory activity but at a much slower rate. So far the process that allows the cell to reduce its secretory activity remains unresolved.

In an aggression (caries or mechanical) negligible as it is, the pulp response is systematic. Owing to its defense capacity and adaptability, any histologic change is not necessarily manifested clinically (Seltzer, Bender et al., 1963). Depending on the nature of aggression (slow or fast), such factors like the host response, the bacterial flora, eating habits of the patient are different in pulp response. If the aggression is low or moderate the secretion of tertiary dentine will solve the problem by the pulp until a clinical procedure stops the aggression. If the aggression is more important and leads to death of odontoblasts (deep cavities, pulp intrusion by trauma), new secreting cells must intervene and so we speak of reparative secondary dentine (Fig. 7).

Reactional dentinogenesis

After an external aggression, the odontoblast leaves its inactive phase, and starts to secrete at a faster rate. Again histologically, the calcio-traumatic line marks the thickness of the dentine, which is the « trigger » time of this new activity (Fig. 8).

The exact process of a such stimulation remains unsolved, although it is tempting to think that the



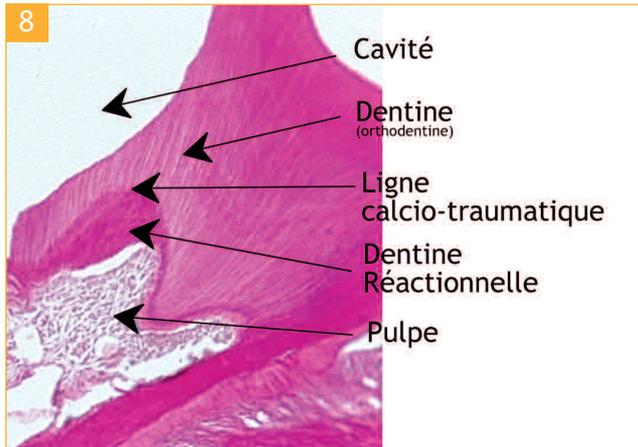


Fig. 8 : Coupe histologique frontale d'une molaire de souris ayant été traitée avec une obturation coronaire. La dentine tertiaire réactionnelle présente une affinité tinctoriale plus prononcée. (x40 - Coloration Van Gieson)
xFrontal histological section of a molar of a mouse was treated with a crown filling. The tertiary dentin reaction presents a more pronounced tinctorial affinity. (x40 - Van Gieson staining)

génétiques éteints lors du passage à la dentinogénèse secondaire pourraient être réactivés en cas de stimulation des cellules sécrétrices. Le décryptage de ces phénomènes de réactivation cellulaire est nécessaire, et leur compréhension permettrait *in fine* d'envisager des thérapeutiques faisant appel à l'induction de la réponse cellulaire.

Le deuxième facteur mis en jeu dans ce concept est la voie de signalisation existant entre l'agent d'agression et l'odontoblaste lui-même. Une approche récente consiste à penser que les bactéries et leur toxines elles-mêmes pourraient être à l'origine de la stimulation directe des odontoblastes (Durand, Flacher et coll., 2006). Si le rôle des lipopolysaccharides membranaires et de plusieurs toxines sur le déclenchement du processus inflammatoire intra pulpaire a été mis en évidence (Magloire, Bouvier et coll., 1992) d'autres formes de signalisation vers les odontoblastes sont étudiées (Tziafas, Smith et coll., 2000).

La dentine est un tissu conjonctif minéralisé. Riche en collagène I, d'autres molécules (notamment protéiques) entrent dans sa composition et se trouvent enfermées au moment de la minéralisation.

Dans le processus carieux, la déminéralisation du tissu s'accompagne donc d'une libération de ces molécules initialement séquestrées (McLachlan, Smith et coll., 2003). Dans ce pool de substances, se trouvent de nombreux facteurs de croissance et notamment ceux de la famille TGF β (Smith, Matthews et coll., 1998). Ces facteurs libérés, pourraient cheminer à travers les *tubuli* vers le parenchyme pulpaire, et déclencher ainsi une réaction pulpaire, notamment odontoblastique (Smith, Tobias et coll., 1995).

Ainsi stimulés, ces cellules sortiraient de leur phase quiescente, et secrèterait la dentine tertiaire réactionnelle (Fig. 9).

genetic processes are inactive during the passage to the secondary dentinogenesis and could be reactivated in the case of secretory cell stimulation. The decryption of these phenomena of cellular reactivation is needed and their understanding would ultimately consider therapies involving the induction of the cellular response.

The second factor involved in this concept is signaling the pathway between the aggression agent and odontoblast itself. A recent approach considers that bacteria and their toxins themselves may cause the direct stimulation of odontoblasts (Durand, Flacher et al., 2006). If the role of lipopolysaccharide membranes and several toxins on triggering inflammatory intrapulp process were highlighted (Magloire, Bouvier et al., 1992), other forms of signaling the odontoblasts are studied (Tziafas, Smith et al., 2000).

Dentine is a mineralized connective tissue rich in collagen type I. Other molecules (including proteins) are combined with its composition and are fossilised at the time of mineralization.

In the carious process, the demineralization of the tissue is therefore accompanied by a release of these molecules initially embedded (McLachlan, Smith et al. 2003). In this group of substances, there are many growth factors and in particular those of the family TGF- β (Smith, Matthews et al. 1998). These released factors could go through the *tubuli* towards the pulp parenchyma and trigger a pulp reaction, including odontoblastic (Smith, Tobias et al. 1995).

Thus stimulated, these cells are removed out of their inactive phase into an active phase and as a reaction, secrete tertiary dentine (Fig. 9).

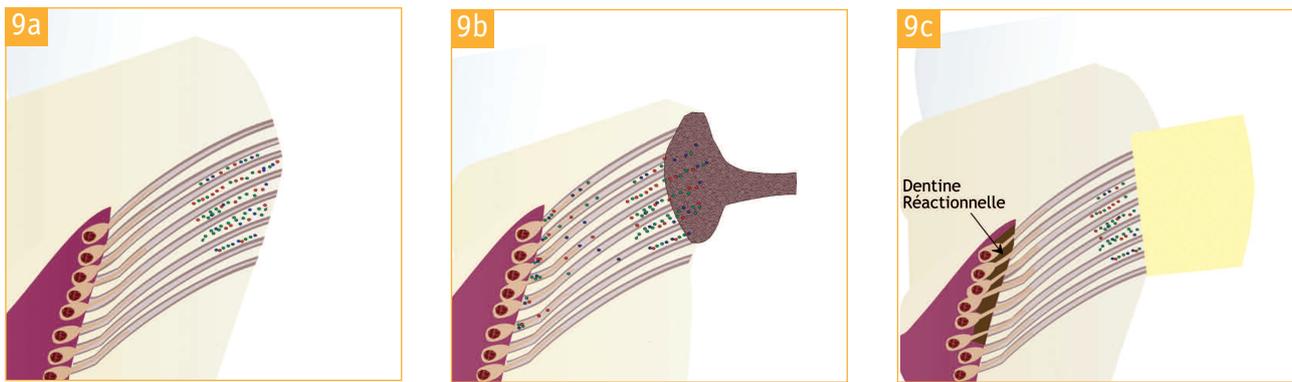


Fig. 9 : De nombreuses protéines matricielles sont fossilisées dans la matrice collagénique de la dentine lors de la minéralisation (a). La dissolution de la matrice minérale (pathologique ou thérapeutique) libère ces facteurs (b), qui peuvent rejoindre les odontoblastes via les tubuli (c). Ils sont considérés aujourd’hui comme une voie de signalisation potentielle dans le processus de cicatrisation pulpo dentinaire.
Many matrix proteins were fossilized in the matrix of collagen of the dentin during mineralization (a). The dissolution of the mineral matrix (pathological or therapeutic) liberates these factors (b), which can reach odontoblasts via the tubuli (c). They are regarded today as a potential signaling pathway in the pulp-dentin healing process.

Partant de ce concept, il est possible d’imaginer une stimulation induite par des thérapeutiques induisant une libération volontaire de ces protéines matricielles. Le nettoyage d’une cavité avec de l’EDTA par exemple, solution reconnue pour son aptitude à dissoudre la phase minérale, permettrait une dissolution superficielle de la dentine, la libération des facteurs de croissance et une stimulation induite des odontoblastes (Smith, Tobias et coll., 1990 ; Smith, Tobias et coll., 1994 ; Smith, Tobias et coll., 2001). Le mordantage à l’acide orthophosphorique utilisé pour le conditionnement de la dentine dans les procédures de collage, permet également une déminéralisation contrôlée de la dentine et la libération des facteurs biologiques. D’autres produits, actuellement sortis de l’arsenal thérapeutique du praticien pourraient néanmoins revenir en force avec de nouvelles indications. L’hydroxyde de calcium a longtemps été préconisé comme fond de cavité protecteur, notamment comme isolant thermique sous les reconstitutions à l’amalgame ; jugé inutile, il a peu à peu été oublié. Ce matériau aurait cependant une aptitude à dissoudre la dentine, et ainsi libérer progressivement des facteurs de croissance (Graham, Cooper et coll. 2006). Contrairement aux solutions chélatantes, l’hydroxyde de calcium placé sous les restaurations reste en place et permet une dissolution prolongée et rémanente ; il a donc une action lente, prolongée, et éventuellement contrôlable en fonction de la forme galénique du produit.

Plus récemment, l’action de libération de ces facteurs dentinaires par le Mineral Trioxyde Agregate (MTA® - Dentsply Maillefer) a été démontrée ((Tomson, Grover et al. 2007), mais avec des concentrations différentes de celles libérées par l’hydroxyde de calcium. Ces différences sont intéressantes car elles pourraient être un début d’explication sur

Based on this concept, it is possible to imagine stimulation brought about by therapeutics inducing the voluntary release of these matrix proteins. For example, the cleaning of a cavity with EDTA solution known for its ability to dissolve the mineral phase, allowing a dissolution of the superficial dentine, the release of growth factors and induce the stimulation of odontoblasts (Smith, Tobias et al., 1990 ; Smith, Tobias et al., 1994 ; Smith, Tobias et al., 2001). The orthophosphoric acid etch used for dentine tissue conditioning in bonding procedures also allows a controlled demineralization of dentine and the release of these biological factors. Other products no more included in the therapeutic arsenal of the practitioner could still be revived with new indications. Calcium hydroxide has long been advocated as the base of cavity protection, especially as thermal insulation under the amalgam restorations. Its use was deemed unnecessary and was more and more unpopular. This material would have an ability to dissolve the dentine, and thus gradually release growth factors (Graham, Cooper et al. 2006). Unlike chelating solutions, calcium hydroxide placed under restorations remains in place and allow a prolonged and persistent dissolution. It therefore has a slow, prolonged and possibly controllable action depending on the function of the dosage form of the product.

More recently, the liberation of these dentine factors by the Mineral Trioxide Aggregate (MTA® - Dentsply Maillefer) was demonstrated ((Tomson, Grover et al. 2007), but with different concentrations of those released by calcium hydroxide. These differences are interesting because they could be an initial

les différences de comportement des deux matériaux. Si ces résultats sont confirmés et les modes d'actions mieux compris, l'intérêt de l'utilisation de fonds de cavités sous les restaurations pourraient prochainement être à nouveau enseigné. Une évolution vers la recherche de matériaux bioactifs prendra alors tout son sens.

Dentinogénèse réparatrice

Les odontoblastes sont les seules cellules capables de sécréter de la dentine. Lorsqu'elles sont supprimées, la formation d'un pont dentinaire n'est possible que si de nouveaux odontoblastes sont disponibles.

Le processus conventionnel de cicatrisation d'un tissu épithélio-conjonctif, se fait toujours par migration des cellules bordant la plaie. En se divisant, les cellules superficielles migrent vers le centre de la plaie, jusqu'à former une couche protectrice ; la réorganisation tissulaire sus-jacente peut alors s'organiser.

L'odontoblaste est une cellule différenciée post-mitotique et donc par définition incapable de se diviser pour fournir elle-même une nouvelle cellule sécrétrice. Lorsque des cellules disparaissent, une autre forme de remplacement intervient (pour revue (Fitzgerald, 1979 ; Fitzgerald, Chiego et al. 1990)) (Fig. 10).

Après effraction pulpaire et mise en place d'un matériau approprié, un pont dentinaire est mis en place en quelques semaines (Fig. 11) par des « néo odontoblastes ». Le processus de remplacement de ces cellules dans le processus de cicatrisation pulpodentinaire n'est

l'explication de la différence de comportement des deux matériaux. Si ces résultats sont confirmés et les modes d'action mieux compris, l'intérêt de l'utiliser sous les restaurations de cavités peut à nouveau être enseigné. Un tournant vers la recherche de matériaux bioactifs deviendra alors significatif.

Reparative dentogenesis

Les odontoblastes sont les seules cellules capables de sécréter de la dentine. Lorsqu'ils sont éliminés, la formation d'un pont dentinaire n'est possible que si de nouveaux odontoblastes sont disponibles.

Le processus conventionnel de guérison d'un tissu épithélio-conjonctif commence toujours par la migration des cellules près de la plaie. Pendant la division, les cellules superficielles migrent vers le centre de la plaie pour former une couche protectrice ; la réorganisation du tissu sous-jacent peut alors être mise en ordre.

L'odontoblaste est une cellule différenciée post-mitotique et donc, par définition, incapable de se diviser pour fournir elle-même une nouvelle cellule sécrétrice. Lorsque les cellules disparaissent, une autre forme de substitution se produit (pour revue (Fitzgerald 1979 ; Fitzgerald, Chiego et al. 1990)) (Fig. 10).

Après l'exposition pulpaire et le placement d'un matériau approprié, un pont dentinaire par « odontoblastes-like » se développe en quelques semaines (Fig. 11). Le processus de remplacement de ces cellules dans le processus de guérison pulpodentinaire est encore si incertain. De nombreux auteurs ont tendance à penser que

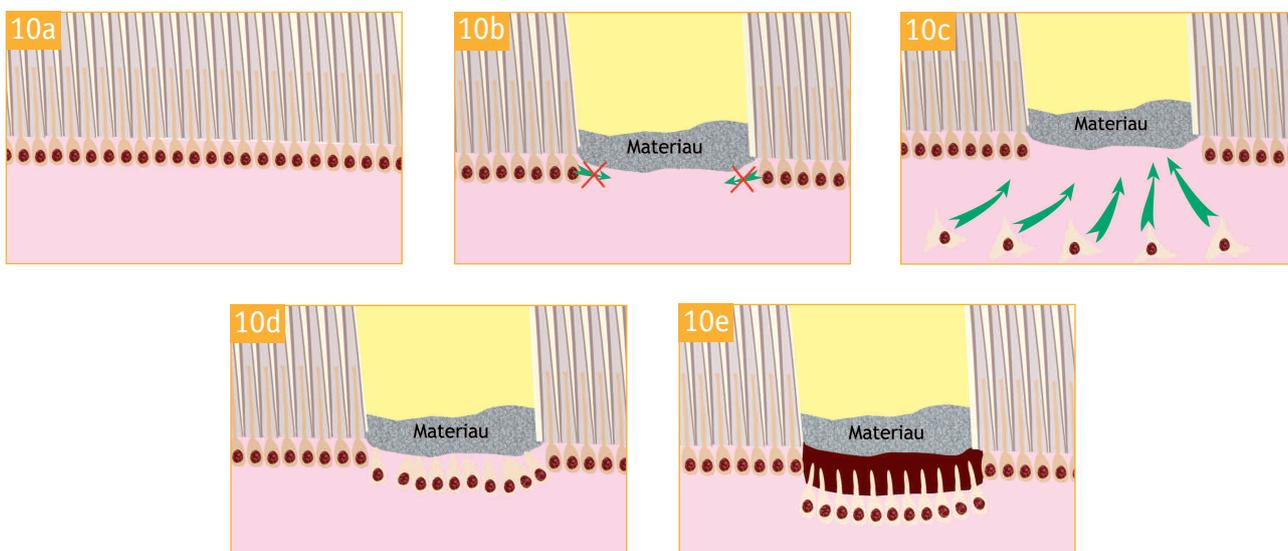


Fig. 10 : Dentinogénèse réparatrice. Contrairement à un tissu conjonctif conventionnel, la cicatrisation de la palissade odontoblastique ne se fait pas par division des cellules bordant la plaie (a et b). L'attraction de nouvelles cellules (c) et leur différenciation en cellule sécrétrice de dentine (d) induit la formation d'un pont dentinaire en contact avec un matériau approprié (e).

Reparative dentinogenesis. Unlike an ordinary connective tissue, healing of the odontoblastique palissade is not cell division near the wound (a and b). The attraction of new cells (c) and their cell differentiation into secretory dentin (d) induces the formation of a dentin bridge in contact with a suitable material (e)

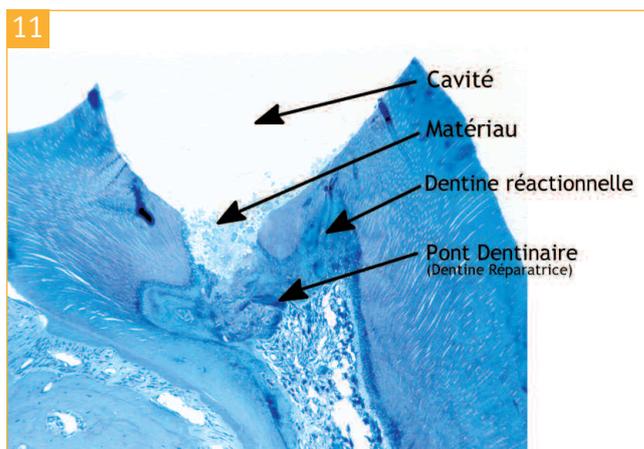


Fig. 11 : Pont dentinaire obtenu 5 semaines après coiffage pulpaire au MTA® d'une première molaire de souris. (Coupe frontale semi-fine, x50,- Coloration Bleu Méthylène, Bleu Azur II)
Dentin bridge obtained 5 weeks after pulp capping with MTA® in a first molar of a mouse. (Frontal view semi-fine, x50, - Methylene Blue staining, Blue Azur II)

à ce jour pas clairement établi ; de nombreux auteurs tendent à penser que les processus mis en jeu seraient les mêmes que ceux impliqués dans l'odontogénèse initiale (Mitsiadis et Rahiotis, 2004). L'origine des cellules appelées à se différencier n'est également toujours pas établie (Fig. 12).

Différentes procédures cliniques ont été proposées pour obtenir une réparation après exposition pulpaire, et l'hydroxyde de calcium a longtemps été considéré comme le matériau de référence pour ce type de thérapeutique. Mais la mauvaise qualité du pont dentinaire et son manque d'étanchéité sont à l'origine de nombreux échecs thérapeutiques. Face au manque de prédictibilité du pronostic, le coiffage pulpaire reste considéré comme une procédure non fiable et qui conduit fréquemment le praticien à dépulper la dent plutôt que d'essayer de conserver sa vitalité.

Plusieurs études *in vivo* ont montré que le MTA® induit la formation d'un pont dentinaire de bonne qualité, étanche, et fusionné avec les parois dentinaires bordant l'effraction. Malgré les quelques études histologiques publiées, aucun résultat ne permet ni d'élucider le mode de fonctionnement de ce biomatériau, ni de comprendre pourquoi les résultats obtenus avec le MTA® semblent meilleurs.

Il y a quelques années, plusieurs auteurs proposaient de réaliser le coiffage directement avec le matériau d'obturation coronaire. Si, cliniquement, les résultats peuvent paraître *a priori* satisfaisants, cette thérapeutique ne peut être considérée comme une technique fiable à long terme. Aucune étude n'a permis de montrer histologiquement la formation d'un pont dentinaire en l'absence d'utilisation de matériau dédié au coiffage.

Cet exemple illustre parfaitement ce qui sépare le clinicien du scientifique de laboratoire. Tandis que le premier se focalise sur l'étanchéité et la prévention de

the processes involved would be the same as those involved in initial odontogenesis (Mitsiadis and Rahiotis 2004). The origin of the cells called to differentiate is also still not established (Fig. 12).

Different clinical procedures have been propose to obtain reparation after pulp exposure and calcium hydroxyde has long been considered as the reference material for that kind of treatment. But the poor quality of the dentine bridge and its lack of impermeability have been the origin of many treatment failures. With the predictability of a poor prognosis, pulp capping remains an unreliable procedure encouraging the practitioner to choose root canal treatment rather then keeping the tooth vital.

Several *in vivo* studies have shown that MTA® induces the formation of a dentine bridge of good quality, impermeable, merged with the dentinal walls near the break. In spite of the few published histologic studies, no result elucidates the way this biomaterial functions neither do they understand why the results obtained with MTA® seem to be better.

A few years ago, several authors proposed to perform direct pulp capping procedures with the crown filling material. The clinical results may seem initially satisfying, but cannot be considered reliable as a long-term treatment. No histological study showed the formation of a dentine bridge without a specific pulp capping material.

This example shows perfectly the contrast between the clinician and the laboratory researcher. The former is focused on the impermeability and prevention





toute percolation notamment bactérienne, le second porte son intérêt sur la bioactivité des matériaux, et leur aptitude à induire une réponse tissulaire. Les deux s'avèrent évidentes et complémentaires, et de nouvelles collaborations s'imposent.

C'est à ce titre, que quelques auteurs tentent d'induire une réponse pulpaire, grâce à différentes molécules ; certains orientent leurs investigations sur des matériaux existants, tandis que d'autres testent des biomolécules issues de l'ingénierie tissulaire (Decup, Six et coll., 2000 ; Goldberg, Six et coll., 2003 ; Goldberg, Lacerda-Pinheiro et coll., 2006 ; Six, Septier et coll., 2007), et tentent de comprendre les phénomènes induits. Il apparaît évident que si la première approche semble plus près de l'exercice quotidien, la seconde est plus intéressante, et permet d'imaginer à moyen terme une dentisterie basée sur les biotechnologies et l'ingénierie tissulaire.

Implications cliniques

Il a souvent été rapporté dans la littérature que l'épaisseur de dentine résiduelle séparant la cavité du tissu pulpaire est un facteur important pour la protection du parenchyme pulpaire et donc cliniquement pour un succès à long terme. Dans les cavités les plus profondes pour lesquelles l'épaisseur du plancher pulpaire est inférieure à 0,5 mm, le nombre et la taille des *tubuli* « ouverts » est tel, que la communication avec le parenchyme pulpaire est comparable à celle d'une exposition vraie (Smith 2002). Cliniquement, il est difficile, voire impossible, de connaître le statut tissulaire exact du parenchyme pulpaire et notamment l'état cytogénétique des odontoblastes ; c'est pour cela que les thérapeutiques à mettre en œuvre qui, sur le plan fondamental, sont différentes en fonction du degré d'atteinte et du statut histologique (induction de la dentinogénèse ou induction d'une différenciation cellulaire), sont difficiles à systématiser.

Comme pour toute approche thérapeutique, il persiste un fossé important entre le niveau de connaissances fondamentales aujourd'hui disponibles et la possibilité de leur application clinique.

Le manque de moyen de diagnostic fiable demeure le problème majeur en odontologie conservatrice et un frein au développement de nouvelles thérapeutiques qui imposent la connaissance du degré d'inflammation pulpaire. Les seuls tests à disposition du clinicien sont les tests thermiques, voire électriques ; bien que très utiles, ils permettent de rendre compte uniquement de la persistance d'une innervation au sein du stroma et du parenchyme. Néanmoins, la vitalité pulpaire ne peut se réduire à la présence de fibres nerveuses dans le tissu. Une

of any invasion particularly by bacteria, while the latter is mainly interested in bioactivity of materials and their capacity of inducing a tissue response. Both attitudes are evident and complementary, and new collaborations are necessary.

This is why some authors try to induce a pulp response with different molecules. Some focus their investigations on the existing materials, while others test biomolecules coming from tissue engineering (Decup, Six et al., 2000 ; Goldberg, Six et al., 2003 ; Goldberg, Lacerda-Pinheiro et al., 2006 ; Six, Septier et al., 2007), by trying to understand the induced phenomena. It seems evident that the first approach is close to everyday practice, whereas the second is more interesting, leading to medium-term dentistry based on biotechnologies and tissue engineering.

Clinical implications

It has often been stated in the literature that the remaining thickness of the dentine between the cavity and the pulp is an important factor of pulp tissue protection and therefore there is clinical success in the long-term. In the deeper cavities with a pulp floor less than 0.5 mm, the number and the size of the « open » *tubuli* is such that the communication with the pulp is comparable to that of a true pulp exposure (Smith 2002). Clinically, it is difficult or impossible to know the exact status of the pulp tissue including the cytological status of odontoblasts. That is why implementing therapies are difficult to systematize on the fundamental level depending on the degree of damage and the histological status (induction of dentinogenesis or cell differentiation).

As for every therapeutic approach, there is a persistent gap between the level of basic knowledge currently available and possible clinical application.

The lack of reliable diagnostic devices remains the major problem in restorative dentistry and hampers the development of new therapies, which require knowledge of the degree of pulpal inflammation.

The thermic or electric tests are the only tests that the clinician can use. Although useful, they only inform about the persistence of an innervation in the stroma and the pulp. But the vital pulp cannot reduce the presence of nerve fibers in the tissue. An evaluation of the persistence of the vascular system inside the





évaluation de la persistance du système vasculaire au sein de la pulpe serait une aide beaucoup plus précieuse, puisque les quelques recommandations de coiffage pulpaire publiées recommandent de ne pas traiter une pulpe inflammatoire.

La difficulté majeure limitant le développement de matériel d'investigation et de diagnostic est étroitement lié à la particularité anatomique de la dent. Le tissu à investiguer est enfermé dans une masse minérale qui se comporte comme une barrière difficilement franchissable par les radiations diverses. De plus l'étroitesse du volume pulpaire est telle qu'elle demeure incompatible avec les moyens d'investigation aujourd'hui à disposition dans d'autres domaines médicaux (Doppler, scintigraphie, etc...).

A propos de deux cas cliniques

Coiffage pulpaire et édification radiculaire (Fig. 12)

Un jeune patient de 7 ans consulte en urgence suite à un traumatisme important ayant conduit à l'expulsion de sa 21, et une fracture coronaire des 11 et 21 avec effraction pulpaire sur la 11. Le traitement d'urgence a consisté à remettre en place la dent luxée, la solidariser à ses voisines avec une contention, et enfin à réaliser un coiffage pulpaire direct avec du MTA, après pulpotomie partielle de 2 mm environ ; le matériau de coiffage a été lui-même protégé recouvert par un ciment au verre ionomère. Après consolidation parodontale, les deux incisives furent restaurées par des composites directs.

Le suivi régulier du patient a permis de contrôler le maintien de la vitalité pulpaire et de suivre l'édification radiculaire de ces deux dents immatures.

Le contrôle à 1 an confirme la fin de la radiculogénèse. Un cliché effectué à 24 mois objective clairement une nette diminution de la lumière canalaire de la 11.

Si sur le plan clinique, ce traitement peut être considéré comme un succès, puisqu'il a permis de terminer l'édification de la dent dans sa totalité, il peut néanmoins être opportun de se demander pourquoi la cavité endodontique de la dent ayant reçu un coiffage semble se fermer, alors que celle de sa collatérale conserve un volume « physiologique »

A 7 ans, les deux incisives de ce patient étaient immatures, et la dentinogénèse probablement encore au

pulp would be of much greater help, as most of the publications on recommendations for pulp capping do not treat pulp inflammation.

The major difficulty limiting the development of research and diagnostic materials is closely related with the particular anatomy of the tooth. The tissue that has to be investigated is surrounded with a mineral mass that behaves as a barrier that is difficult to cross by different radiations. Moreover, the thin pulp volume is such that it remains incompatible with current available means of investigation used in other medical fields (Doppler, scintigraphy, etc...).

Clinical cases

Pulp capping and apexification (Fig. 12)

A young 7-year old patient comes for apexogenesis emergency treatment in after an important trauma that created a traumatic avulsion of tooth 21 and a coronal fracture of teeth 11 and 21 ; there is a pulp exposure of 11. The emergency treatment consisted in luxation reduction of 21 by splinting to the adjacent teeth. Then direct pulp capping done with MTA after partial pulpotomy on about 2 mm. The pulp capping material was protected by glass ionomer cement. After periodontal healing, the two incisors were restored with direct composites.

The follow-up of the patient showed a vital pulp and the root edification of these two immature teeth.

After 1 year, the control confirms the end of root edification. After 24 months, a periapical radiograph clearly showed a reduction of the root canal diameter of tooth 11.

On a clinical level, this treatment can be considered as a success as it allowed apexogenesis. However, we should ask ourselves why the endodontic cavity of one of the teeth with a pulp capping seems to close whereas the other tooth maintains its "physiologic" volume.

At age 7, the 2 incisors of this patient were immature and the dentinogenesis was probably at a primary



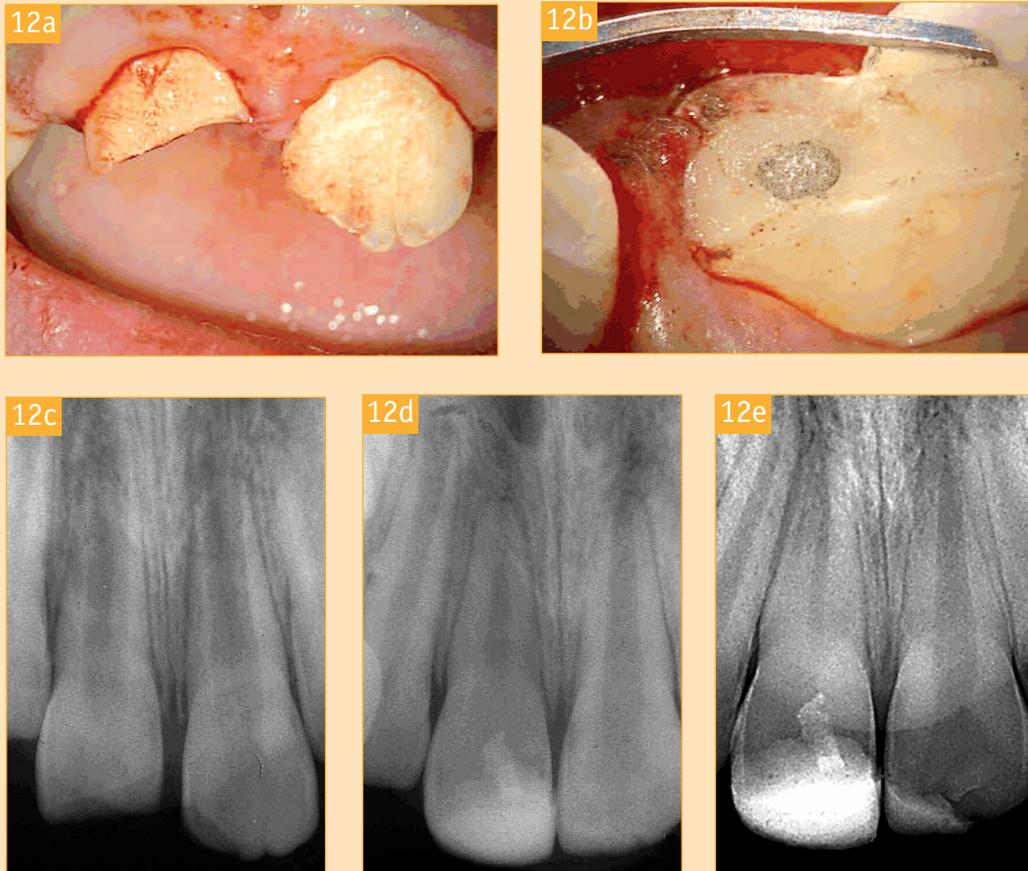


Fig. 12 : Coiffage pulpaire au MTA® (a et b) d'une incisive centrale maxillaire gauche immature (c) récemment traumatisée. La radiographie de contrôle à 1 an post opératoire objective la fin de l'édification radicaire de la dent et de sa collatérale. Le contrôle à 24 mois objective une diminution « anormale » de la lumière canalaire.
Pulp capping with MTA® (a and b) of an immature left maxillary central incisor (c) recently traumatized. The radiographic control at 1-year post-operative showing the end of root edification of the tooth as well as its collateral. Control at 24 months showing an « abnormal » reduction in the canal volume.

stade primaire. De façon physiologique, le passage au stade secondaire de la sécrétion des odontoblastes aurait impliqué une diminution de la vitesse de sécrétion, et conduit à une anatomie canalaire appropriée. Dans le cas de la dent concernée par l'effraction pulpaire, il semble que cette réduction de vitesse de sécrétion n'ait pas eu lieu, comme si les cellules concernées n'avaient pas reçu le signal nécessaire à la réduction de leur vitesse de synthèse.

Enfin, la question de la nécessité de traitement endodontique, avant que le canal ne devienne totalement inaccessible, peut se poser. Il est difficile de répondre à cette question, et le praticien devra choisir entre l'abstention de traitement conditionnée par une approche biologique parfois considérée comme excessive, et une approche plus mécaniste et le souhait d'éviter tout risque de complication technique en cas de pathologie pulpaire irréversible. Dans ce cas précis, sept ans après le traumatisme, le traitement endodontique n'a toujours pas été décidé.

stage. In physiologic conditions, the evolution to a secondary stage of secretion of odontoblasts would have implicated a decrease in the rate of secretion, leading to normal root canal anatomy. For the tooth with the pulp injury, it seems that the reduction of the rate of secretion did not occur. As if the cells concerned did not receive the signal needed to reduce the rate of secretion.

Finally, the question can be asked if an endodontic treatment can be performed before complete loss of access. It is difficult to answer and the practitioner will have to choose between the lack of treatment related with a biological approach, sometimes considered as excessive and a more mechanical approach that avoids any risk of technical complication in case of irreversible pulp pathology. In this precise case, 7 years after the trauma, the endodontic treatment has not yet been decided.



A propos d'une erreur de jugement (Fig. 13)

Cette jeune patiente consulte son praticien en se plaignant d'une dyschromie de sa 21 et souhaite en modifier la teinte. Au cours de l'examen clinique, la patiente décrit un traumatisme survenu il y a une dizaine d'années. Les tests de vitalité pulpaire (thermiques et électriques) effectués consciencieusement par le praticien s'avèrent négatifs. La dent ne présentant aucun délabrement, le praticien souhaite éviter la prothèse, et propose à la patiente un éclaircissement. La dent étant diagnostiquée comme « non vitale », il décide d'entreprendre le traitement endodontique et de faire l'éclaircissement par voie intra camérale.

La radiographie objective une disparition de la lumière canalaire sur le 1/3 coronaire de la dent. Ne parvenant pas à localiser le canal, il réfère la patiente en demandant de terminer le traitement endodontique. Les moyens modernes, et notamment le microscope opératoire permettent de trouver l'entrée canalaire, le mettre en forme, le désinfecter et l'obturer. La patiente est réadressée à son praticien pour commencer l'éclaircissement.

Ce cas clinique pourrait être considéré comme une réussite, la radiographie montrant une obturation dense et répondant aux critères de qualité. Néanmoins, il doit être considéré comme un échec, lié à un traitement inapproprié, lui-même lié à une erreur de décision thérapeutique.

Pour comprendre la teneur de cet échec, il suffit de reconsidérer l'histoire pulpaire de cette dent. Suite au choc, *a priori* violent, les odontoblastes coronaaires ont secrété une dentine réactionnelle. Cette sécrétion est à l'origine de la disparition de la lumière canalaire devenue invisible sur le cliché radiographique. Cet épaississement dentinaire est directement responsable de la dyschromie dont se plaint la patiente ; en effet, il limite le passage de la lumière, impliquant une teinte jaunâtre de la dent. Une technique de blanchiment interne ne permettra pas de venir à bout de cette dyschromie.

Cet épaississement dentinaire est également directement responsable de l'erreur de diagnostic. La transmission des *stimuli* (thermiques et électriques) vers la pulpe est bloquée ; la patiente ne répond pas aux tests, et le praticien a donc considéré, à tort, que la pulpe était nécrosée, décidant ainsi de la nécessité du traitement endodontique. En réalité, la pulpe était vitale, et le traitement endodontique absolument injustifié. Si l'erreur de diagnostic est avérée, on peut reconnaître que le manque de moyens de diagnostic fiables ont conduit le praticien consciencieux à une erreur de diagnostic. Le pont dentinaire était la meilleure protection de la pulpe sous jacente, mais une approche mécaniste et *a priori* au pro-

Error of judgement (Fig. 13)

This young patient comes for consultation complaining about a dyschromy of tooth 21 and wishes to change the shade. The clinical examination revealed that the patient suffered from trauma on the mentioned tooth that occurred 10 years ago. The carefully executed pulp vitality tests (both thermic and electric) showed a negative response. The tooth being intact, the practitioner wanted to avoid prosthesis and proposed bleaching to the patient. The tooth being diagnosed as "non-vital", the practitioner decided to go for an endodontic treatment and to perform bleaching through the pulp chamber.

The radiograph shows the disappearance of the root canal on the 1st coronal third of the tooth. Finding no root canal, the practitioner refers the patient to a specialist to finish the root canal treatment. With modern means, using an endodontic microscope allows to locate the entrance of the root canal, shape, disinfection and obturate. The patient is sent back to the practitioner for bleaching.

This case could be considered as a success, as the radiograph shows a dense obturation in conformity with the usual criteria of quality. Nevertheless, it should be considered as a failure due to inappropriate treatment resulting from a mistake in decision making.

To understand the significance of this failure, we should reconsider the story of the tooth's pulp. As a consequence of the shock, most probably violent, the coronal odontoblasts have been secreting tertiary dentine. This secretion is the cause of the reduction of the root canal that became invisible on the periapical radiograph. This increase in dentine thickness is directly responsible for the dyschromy, the patient's complaint. It is obvious that it limits the passage of light, the consequence being a yellowish color of the tooth. An internal bleaching technique will not succeed in treating this problem.

This thickening of the dentine is directly responsible of the mistaken diagnosis. The transmission of *stimuli* (thermal and electric) to the pulp is blocked. The patient does not respond positively to the tests and the practitioner was wrong considering that the pulp was necrotized, deciding as a consequence for an endodontic treatment. In fact, the pulp was vital and the endodontic treatment was absolutely unjustified. If the mistaken diagnosis is confirmed, we can assert that the lack of reliable diagnostic tools lead to that mistaken diagnosis of the practitioner. The dentine bridge was the best protection of the pulp, but a mechanical approach which was supposed to have a more reliable



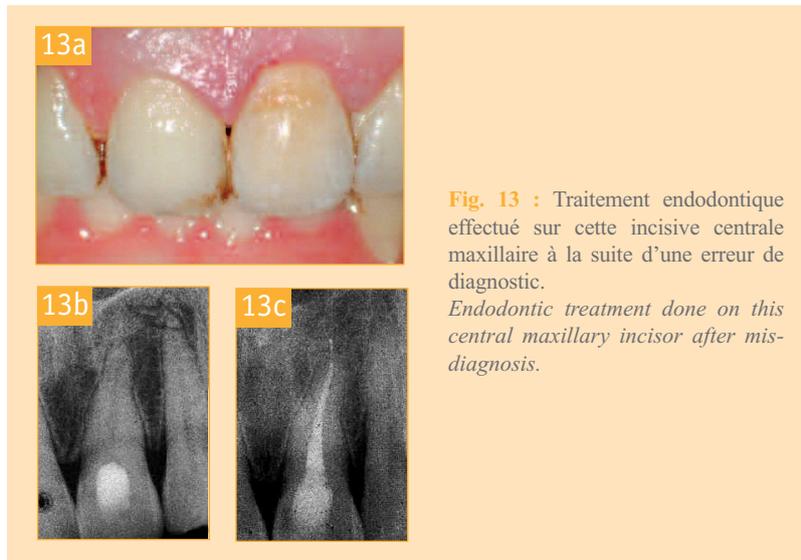


Fig. 13 : Traitement endodontique effectué sur cette incisive centrale maxillaire à la suite d'une erreur de diagnostic.
Endodontic treatment done on this central maxillary incisor after misdiagnosis.

nostic plus prédictible, a été préférée à une approche minimaliste et conservatrice qui aurait nécessité un suivi du patient à long terme. Si cette décision d'intervenir peut être perçue par le clinicien comme plus appropriée aujourd'hui, elle doit néanmoins être mise en balance avec la notion de perte de chance consécutive au sacrifice biologique imposé par le traitement. Le traitement idéal dans ce cas aurait vraisemblablement été une tentative d'éclaircissement externe de la dent concernée en conservant sa vitalité pulpaire. En cas d'échec, une facette nécessitant un meulage minimal de la dent aurait pu être envisagée. En cas de pathologie pulpaire associée, un traitement endodontique de seconde intention aurait été tout à fait possible, l'accès à l'endodonte par la face palatine n'étant en aucun cas compromis par ce type de restauration prothétique *a minima*.

prognosis has been preferred to a more minimalist and conservative approach, which would have needed a follow-up of the patient on a long-term basis. If this decision of treating the patient may be perceived as more appropriate nowadays, it should however be put in balance with the notion of lost chance as a consequence of the biologic sacrifice imposed by the choice of treatment.

The ideal treatment in that case would have probably been an external bleaching of the tooth concerned, keeping it vital. In case of failure, a veneer with a minimal preparation of the tooth could have been decided. In case of pulp pathology, a secondary endodontic treatment would have been possible, the palatal access to the pulp chamber was easy with this minimal prosthetic restoration.

Conclusion

Il est indéniable que le développement des biotechnologies concerne également l'odontologie conservatrice. S'il y a eu une scission pendant de longues années entre les laboratoires de recherche et les cabinets dentaires, il apparaît évident que les choses s'affinent petit à petit, et l'apparition récente de nouveaux systèmes adhésifs couplés à des molécules désinfectantes est une première étape d'applications de cette nouvelle façon de « traiter la pulpe ». Il est reconnaissable aujourd'hui que la recherche en odontologie ne se limite plus à l'étude d'alliages, de taille de forets, de pouvoir de désinfection de solution ou encore de résistance mécanique, et ces nouvelles voies de recherches doivent permettre de modifier la perception de la chirurgie dentaire dont l'image est souvent réduite, à tort, à une profession mécaniste ou de « remplissage de trous ». L'évolution des mentalités, tant des praticiens que des patients, sera nécessaire pour s'accorder à cette nouvelle façon de traiter les dents. Des nombreuses évolutions ont été faites ces 10 dernières années dans la gestion de l'esthétique et de la fonctionnalité des restaurations. Le dentiste moderne devra très prochainement prendre conscience qu'au-delà de la mécanique il y a la biologie, et que, sans elle, la vie n'est pas possible.



It is undeniable that the development of biotechnologies involves restorative dentistry. If there has been a separation for years between dental clinics and laboratories, it seems obvious nowadays that times are changing and the recent apparition of new bonding systems associated with disinfectant molecules is a first step to new applications allowing « pulp treatments ». Today, it is clear that research in dentistry is not limited to the study of alloys, size of drills, disinfecting capacities of solutions or mechanical resistance. These new means of research should lead to a change in the perception of dentistry as a discipline devoted to mechanical applications or « hole filling ». A change in the mentality of practitioners and patients will be necessary to match with this new approach of treatment. Many evolutions occurred during these past 10 years in the management of aesthetics and restorative function. Modern dentistry will soon be conscious about biology being beyond what is mechanical and that life is impossible without biology.

Traduction : Marie-Grâce POBLETE

Demande de tirés-à-part : Docteur Stéphane SIMON - Laboratoire de biologie oro-faciale et pathologie - Centre de recherche des Cordeliers - 15, rue de l'École de Médecine - 75270 Paris cedex 06 - FRANCE.

bibliographie

ALLARD B., MAGLOIRE H., COUBLE M.L., MAURIN J.C., BLEICHER F.
Voltage-gated sodium channels confer excitability to human odontoblasts: possible role in tooth pain transmission. *J Biol Chem* 2006;**281**(39): 29002-29010.

BRANNSTRÖM M.
A hydrodynamic mechanism in the transmission of pain producing stimuli through the dentin. Sensory mechanisms in dentine. D. J. Anderson. London, *Pergamon Press* 1963:73-79.

DECUP F., SIX N., PALMIER B.
Bone sialoprotein-induced reparative dentinogenesis in the pulp of rat's molar. *Clin Oral Investig* 2000;**4**(2):110-119.

DURAND S. H., FLACHER V., ROMEAS A.
Lipoteichoic acid increases TLR and functional chemokine expression while reducing dentin formation in in vitro differentiated human odontoblasts. *J Immunol* 2006;**176**(5):2880-2887.

FITZGERALD M.
Cellular mechanisms of dentinal bridge repair using 3H-thylidine. *J dent Res* 1979;**58**:2198-2206.

FITZGERALD M., CHIEGO D. J. JR., HEYS D.R.
"Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. *Arch Oral Biol* 1990;**35**(9):707-715.

GARBEROGLIO R., BRANNSTROM M.
Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 1976;**21**(6):355-362.

GOLDBERG M., LACERDA-PINHEIRO S., JEGAT N.
The impact of bioactive molecules to stimulate tooth repair and regeneration as part of restorative dentistry. *Dent Clin N Amer* 2006;**50**(2):277-298.

GOLDBERG M., SIX N., DECUP F.
Bioactive molecules and the future of pulp therapy. *Amer J Dent* 2003;**16**(1):66-76.

GOLDBERG M., SMITH A. J.
Cells And Extracellular Matrices Of Dentin And Pulp: A Biological Basis For Repair And Tissue Engineering. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;**15**(1):13-27.

GRAHAM L., COOPER P. R., CASSIDY N., NOR J.E., SLOAN A.J., SMITH A.J.
The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. *Biomaterials* 2006;**27**(14):2865-2873.

GRONTHOS S., MANKANI M., BRAHIM J., ROBESY P.G., SHI S.
Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Nat Acad Sci U S A* 2000;**97**(25):13625-13630.

HEYERAAS K. J., SVEEN O. B, ET AL.
Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 3: Pulpal inflammation and its sequelae. *Quintess Int* 2001;**32**(8):611-625.

JONES S., BOYDE A.
Dentin and Dentinogenesis. A. Linde. Boca Raton, *CRC Press* 1984;1:81-134.

JONTELL M., BERGENHOLTZ G., SCHEYNIUS A., AMBROSE W.
Dendritic cells and macrophages expressing class II antigens in the normal rat incisor pulp. *J dent Res* 1988;**67**(10):1263-1266.

JONTELL M., GUNRAJ M. N., BERGENHOLTZ G.
Immunocompetent cells in the normal dental pulp. *J dent Res* 1987;**66**(6):1149-1153.

JONTELL M., OKIJI T., DAHLGREN U., BERGENHOLTZ G.
Immune defense mechanisms of the dental pulp. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;**9**(2):179-200.

LINDE A., GOLDBERG M.
Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;**4**(5):679-728.

MAGLOIRE H., BOUVIER M., JOFFRE A.
Odontoblast response under carious lesions. *Proc Finn Dent Soc* 1992;**88** Suppl 1:257-274.

MAGLOIRE H., COUBLE M. L., ROMEAS A., BLEICHER F.
Odontoblast primary cilia: facts and hypotheses. *Cell Biol Int* 2004;**28**(2):93-99.

- MANIATOPOULOS, C., SMITH D. C..
A scanning electron microscopic study of the odontoblast process in human coronal dentine.
Arch oral Biol 1983;**28**(8):701-710.
- MCLACHLAN J. L., SMITH A. J., SLOAN A.J., COOPER P.R.
Gene expression analysis in cells of the dentine-pulp complex in healthy and carious teeth.
Arch oral Biol 2003;**48**(4):273-283.
- MITSIADIS T. A., RAHIOTIS C.
Parallels between tooth development and repair: conserved molecular mechanisms following carious and dental injury.
J Dent Res 2004;**83**(12):896-902.
- MIURA M., GRONTHOS S., ZHAO M.
SHED : stem cells from human exfoliated deciduous teeth.
Proc Nat Acad Sci U S A 2003;**100**(10): 5807-5812.
- MJOR I. A., SMITH M. R., FERRARI M., MANNOCCI F.
The structure of dentine in the apical region of human teeth.
Int Endod J 2001;**34**(5):346-353.
- MURRAY, P. E., ABOUT I., LUMLEY P.J., SMITH G., FRANQUIN J.C., SMITH A.J.
Postoperative pulpal and repair responses.
J Amer dent Assoc 2000;**131**(3):321-329.
- OKIJI T., KAWASHIMA N., KOSAKA T., MATSUMOTO A., KOBAYASHI C., SUDA H.
An immunohistochemical study of the distribution of immunocompetent cells, especially macrophages and Ia antigen-expressing cells of heterogeneous populations, in normal rat molar pulp.
J dent Res 1992;**71**(5):1196-1202.
- OKIJI T., MORITA I., SUDA H., MUROTA S.
Pathophysiological roles of arachidonic acid metabolites in rat dental pulp.
Proc Finn Dent Soc 1992;**88** Suppl 1:433-438.
- OKUMURA R., SHIMA K., MURAMATSU T.
The odontoblast as a sensory receptor cell ?
The expression of TRPV1 (VR-1) channels.
Arch Histol Cytol 2005;**68**(4):251-257.
- PASHLEY D. H.
Dynamics of the pulpo-dentin complex.
Crit Rev oral Biol Med 1996;**7**(2):104-133.
- PASHLEY, D. H.
Pulpodentin Complex. Seltzer and Bender's Dental Pulp. G. H. Hargreaves KM. IL, *Quintess Pub* 2002:63-93.
- RUCH J. V., LESOT H., BEGUE-KIRN C.
Odontoblast differentiation. *Int J Dev Biol* 1995;**39**(1):51-68.
- SELTZER S., BENDER I. B., ZIONTZ M.
"The Dynamics Of Pulp Inflammation: Correlations Between Diagnostic Data And Actual Histologic Findings In The Pulp. *Oral Surg* 1963;**16**:969-977.
- SIGAL M. J., AUBIN J. E., TEN CATE A.R.
An immunocytochemical study of the human odontoblast process using antibodies against tubulin, actin, and vimentin. *J Dent Res* 1985;**64**(12):1348-1355.
- SIGAL M. J., AUBIN J. E., TEN CATE A.R., PITARU S.
The odontoblast process extends to the dentinoenamel junction: an immunocytochemical study of rat dentine. *J Histochem Cytochem* 1984;**32**(8):872-877.
- SIX N., SEPTIER D., CHAUSSAIN-MILLER C., BLACHER R., DENBESTEN P, GOLDBERG M.
Dentonin, a MEPE fragment, initiates pulp-healing response to injury. *J dent Res* 2007;**86**(8):780-785.
- SMITH A. J.
Dentine formation and repair. Seltzer and Bender's Dental Pulp. K. M. Hargreaves and H. E. Goodies. IL, *Quintess Pub* 2002:41-62.
- SMITH A. J., MATTHEWS J. B., HALL R.C.
Transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) in dentine matrix. Ligand activation and receptor expression.
Eur J Oral Sci 1998;**106** Suppl 1:179-184.
- SMITH A. J., TOBIAS R. S., CASSIDY N., BEGUE-KIRN C., RUCH J.V., LESOT H.
Influence of substrate nature and immobilization of implanted dentin matrix components during induction of reparative dentinogenesis.
Connect Tissue Res 1995;**32**(1-4):291-296.
- SMITH A. J., TOBIAS R. S., CASSIDY N.
Odontoblast stimulation in ferrets by dentine matrix components. *Arch oral Biol* 1994;**39**(1):13-22.
- SMITH A. J., TOBIAS R. S., MURRAY P.E.
Transdental stimulation of reactionary dentinogenesis in ferrets by dentine matrix components.
J Dent 2001;**29**(5):341-346.
- SMITH, A. J., TOBIAS R. S., MURRAY P.E.
In vivo morphogenetic activity of dentine matrix proteins. *J Biol Buc* 1990;**18**(2):123-129.
- THOMAS H. F., CARELLA P.
A scanning electron microscope study of dentinal tubules from un-erupted human teeth. *Arch oral Biol* 1983;**28**(12):1125-1130.
- THOMAS H. F., CARELLA P.
Correlation of scanning and transmission electron microscopy of human dentinal tubules.
Arch oral Biol 1984;**29**(8):641-646.
- TOMSON, P. L., GROVER L. M., LUMLEY P.J., SLOAN A.J., SMITH A.J., COOPER P.R.
Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate. *J Dent* 2007;**35**(8):636-642.
- TORNECK, C. D.
Dentine-pulp complex. *Ten Cate AR (ed) oral Histology. Development, Structure and Function.* Mosby. Saint Louis 1994:169-217.
- TROWBRIDGE, H. O.
Histology of Pulpal Inflammation. Seltzer's and Bender's Dental Pulp. L. C. Bywaters, QuintessPub Co 2002:227-245.
- TZIAFAS, D., SMITH A. J., LESOT H.
Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *J Dent* 2000;**28**(2):77-92.