

## Catégorie : Recherche

-34-

## Effet de l'hypoxie sur les cellules souches mésenchymateuses de la pulpe dentaire dans un objectif d'ingénierie tissulaire.

Page 67

**Caroline Gorin<sup>1,2</sup>, Benjamin Salmon<sup>1,2</sup>, Julie Lesieur<sup>1</sup>, Laurent Muller<sup>3</sup>, Nathan Beckouche<sup>3</sup>, Sarah Berndt<sup>3</sup>, Franck Letourneur<sup>4</sup>, Mathieu Lesage<sup>3</sup>, Jérémy Sadoine<sup>1</sup>, Carmen Marchiol<sup>4</sup>, Dominique Le-Denmat<sup>1</sup>, Sibylle Vital<sup>1,2</sup>, Anne Poliard<sup>1</sup>, Gael Y. Rochefort<sup>1</sup>, Stéphane Germain<sup>3</sup>, Catherine Chaussain<sup>1,2</sup>**



<sup>1</sup>EA 2496, Pathologies, Imagerie et Biothérapies de la dent, Faculté de Chirurgie Dentaire, Université Paris Descartes PRES Sorbonne Paris Cité, Montrouge ;

<sup>2</sup>AP-HP Département d'Odontologie, Hôpitaux Universitaires PNVS ;

<sup>3</sup>Collège de France, Inserm U1050, Paris ;

<sup>4</sup>Institut Cochin, Université Paris Descartes, 75014 Paris.

Nos thérapeutiques implantaires sont conditionnés par le support osseux ce qui entraîne souvent des compromis prothétiques. Mettre au point une « **Matrice osseuse équivalente** » constituerait une thérapeutique innovante.

**Objectifs** : La pulpe des dents contient des cellules stromales mésenchymateuses (DPSC pour *Dental Pulp Stem Cells*) aux potentiels de prolifération et de différenciation élevés<sup>1</sup>. L'objectif de ce travail est d'évaluer si une exposition à l'hypoxie augmente la capacité de ces cellules pulpaires à reconstituer **un tissu osseux fonctionnel : minéralisé et vascularisé**

### Matériels et Méthodes :

- **Approche in vitro** : Capacité des DPSC cultivées en *matrices denses*<sup>2</sup>, pendant 14 jours, à se différencier en cellules de type *odontoblastique* après un choc hypoxique sévère de 24h et 72h. Une coloration de von Kossa et un comptage des nodules a été effectué pour chacune des conditions.
- **Approche in vivo** : Culture en matrices 3D de collagène en tranche de dent humaine implantées (n=12) en sous-cutanée dans le dos de souris Swiss (n=6) après 24h de culture en conditions hypoxiques (à droite) ou normoxiques (à gauche) pendant 30J.

**Résultats** : Un comptage des échantillons après coloration *von Kossa* montre que le pré-conditionnement hypoxique, en particulier de 24h, augmente de manière très significative le nombre de nodules de minéralisation. Les examens dynamiques, le comptage du nombre de vaisseaux positifs et le calcul de leurs aires montrent une augmentation significative de la néovascularisation des matrices prétraitées à l'hypoxie.

**Conclusion** : L'ensemble de ce travail indique qu'un choc hypoxique de 24h à 1% d'O<sub>2</sub> augmente la capacité des DPSC à (ré)générer un tissu à potentiel ostéogénique et vasculaire fonctionnel.

# Effet de l'hypoxie sur les cellules souches mésenchymateuses de la pulpe dentaire dans un objectif d'ingénierie tissulaire.



Caroline Gorin<sup>1,2</sup>, Benjamin Salmon<sup>1,2</sup>, Julie Lesieur<sup>1</sup>, Laurent Muller<sup>3</sup>, Nathan Beckouche<sup>3</sup>, Sarah Berndt<sup>3</sup>, Franck Letourneur<sup>4</sup>, Mathieu Lesage<sup>3</sup>, Jérémy Sadoine<sup>1</sup>, Carmen Marchiol<sup>4</sup>, Dominique Le-Denmat<sup>1</sup>, Sibylle Vital<sup>1,2</sup>, Anne Poliard<sup>1</sup>, Gaël Y. Rochefort<sup>1</sup>, Stéphane Germain<sup>3</sup>, Catherine Chaussain<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>EA 2496, Pathologies, Imagerie et Biothérapies orofaciales, Faculté de Chirurgie Dentaire, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Montrouge ;  
<sup>2</sup>AP-HP Département d'Odontologie, Hôpitaux Universitaires PNVs ;  
<sup>3</sup>Collège de France, Inserm U1050, Paris ; <sup>4</sup>Institut Cochin, Université Paris Descartes, 75014 Paris.



## Contexte

Nos thérapeutiques implantaires sont conditionnées par le support osseux ce qui entraîne souvent des compromis prothétiques. Mettre au point une « **Matrice osseuse équivalente** » constituerait une thérapeutique innovante.

## Objectifs

La pulpe des dents contient des DPSC pour *Dental Pulp Stem Cells* aux potentiels de prolifération et de différenciation élevés<sup>1</sup>. L'objectif de ce travail est d'évaluer si une exposition à l'hypoxie augmente la capacité de ces cellules pulpaire à reconstituer un **tissu osseux fonctionnel : minéralisé et vascularisé**

## Méthodes

### Approche *in vitro*

Capacité des DPSC cultivées en matrices denses<sup>2</sup>, pendant 14 jours, à se différencier en cellules de type odontoblastique après un choc hypoxique sévère de 24 h et 72 h.

#### Potentiel ostéogénique

Coloration *von Kossa*

Comptage de nodule de minéralisation

### Approche *in vivo*

Culture en matrices 3D de collagène en tranche de dent humaine implantées (n=12) en sous-cutanée dans le dos de souris Swiss (n=6) après **24 h** de culture en conditions hypoxiques (à droite) ou normoxiques (à gauche) pendant 30 jours.

Echographie doppler



Immunohistochimie *AlphaSMA*,

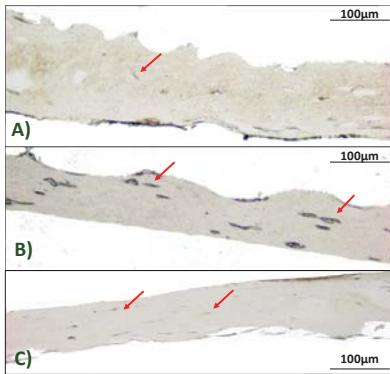
Micro-CT (injection IV)

Comptage néovaisseaux

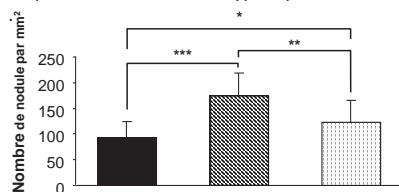
## Résultats

Un comptage des échantillons après coloration *von Kossa* (Figure 1) montre que le pré-conditionnement hypoxique, en particulier de 24 h, augmente de manière très significative le nombre de nodules de minéralisation (Figure 2).

Les examens dynamiques, le comptage du nombre de vaisseaux positifs et le calcul de leurs aires montrent une augmentation significative de la néovascularisation des matrices pré-conditionnées à l'hypoxie (Figure 3).



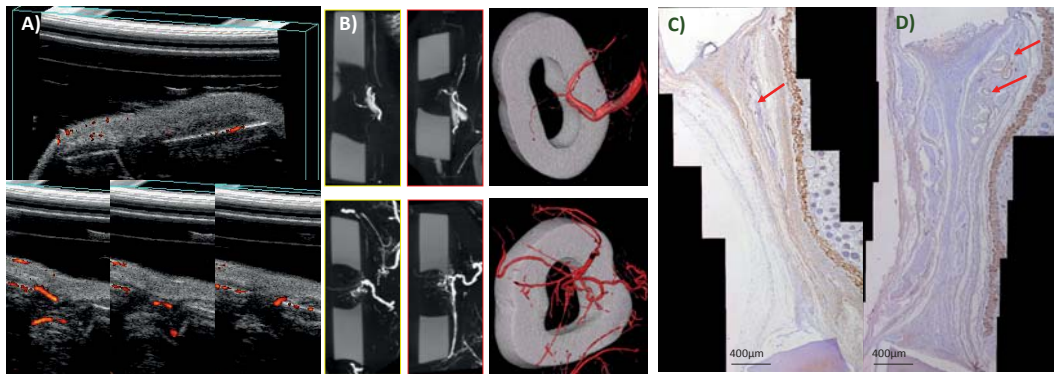
**Figure 1 :** Coloration de *von Kossa* sur des coupes de lattis denses inclus en résine à J7 de culture en conditions minéralisantes. A) Sans pré-conditionnement hypoxique, B) Avec 24 h de pré-conditionnement hypoxique, C) Avec 72 h de pré-conditionnement hypoxique



**Figure 2 :** Nombre de nodule de minéralisation par mm<sup>2</sup> comptés après coloration de *von Kossa* à J7 pour chaque condition de culture décrite Fig.1.

## Bibliographie

<sup>1</sup>Miura, M et al. SHED : stem cells from human exfoliated deciduous teeth. Proc Natl Acad Sci USA. 100: 5807–5812; 2003  
<sup>2</sup>Coyac BR, et al. Mineralization of Dense Collagen Hydrogel Scaffolds by Human Pulp Cells. J Dent Res. 2013 Apr 30



**Figure 3 :** Images obtenues à 4 semaines après implantation des tranches de dent contenant les matrices de collagène ensemencées de DPSC de souris après 24h de culture. A) Images obtenues par Echodoppler Haute Résolution, B) Image de MicroCT, C et D) Immunohistochimie Alpha Smooth Muscle Actin en Normoxie (C) et Hypoxie (D), E) Surface de vascularisation au sein des matrices *αSMA*, F) Nombre de vaisseaux par mm<sup>2</sup> au sein des matrices.

■ Sans pré-conditionnement hypoxique  
 ▨ 24h de pré-conditionnement hypoxique  
 □ 72h de pré-conditionnement hypoxique  
 \* p<0,05, \*\* p<0,01, \*\*\* p<0,001

## Conclusion

L'ensemble de ce travail indique qu'un choc hypoxique de 24 h à 1 % d'O<sub>2</sub> augmente la capacité des DPSC à (ré)générer un **tissu à potentiel ostéogénique et vasculaire fonctionnel**.