

## LA DENTINOGENÈSE RÉPARATRICE COMME OUTIL D'INVESTIGATION VERS LA BIOTHÉRAPIE PULPODENTINAIRE : APPLICATION À L'HOMÉOPROTÉINE MSX2.

REPARATIVE DENTINOGENESIS AS INVESTIGATIVE TOOL TOWARDS PULP-DENTIN BIOLOGICAL THERAPY: APPLICATION TO MSX2 HOMEOPROTEIN.

DJOLÉ SX<sup>[1,2]</sup>, HOTTON D<sup>[2]</sup>, BOLĀNOS A<sup>[2]</sup>, KOFFI-GNAGNE Y<sup>[1]</sup>, BERDAL A<sup>[2]</sup>, SIMON S<sup>[2]</sup>.

1- Université Félix Houphouët Boigny, UFR d'Odontostomatologie, Département d'Odontologie Conservatrice et Endodontie, Abidjan, Côte d'Ivoire.

2- Université de Paris, Centre de Recherches des Cordeliers, Laboratoire Physiopathologie Orale Moléculaire, INSERM UMRS 1138, France.



**Correspondance :** Stéphane Xavier DJOLÉ

Enseignant-chercheur en Odontologie Conservatrice

Université Félix Houphouët Boigny - UFR d'Odontostomatologie Abidjan- Côte d'Ivoire

+ 225 07 4820 5137 / 25 BP 2389 Abidjan 25 / [stephane.djole@univ-fhb.edu.ci](mailto:stephane.djole@univ-fhb.edu.ci)

### RÉSUMÉ

**Introduction:** La biothérapie en odontologie conservatrice rencontre encore quelques verrous dont l'existence de peu d'études *in vivo* pour valider les mécanismes d'action des facteurs moléculaires impliqués dans la réponse inflammatoire du complexe pulpodentinaire. Afin d'étayer le rôle *in situ* de l'homéoprotéine Msx2, l'objectif de ce travail était d'analyser la dentine réparatrice chez l'animal porteur de l'inactivation de Msx2.

**Matériels et méthodes:** Des coiffages pulpaire ont été réalisés sur les premières molaires supérieures de souris normales (11 souris WT) et de souris déficientes en Msx2 (11 souris Msx2-KI). A cinq semaines postopératoires, l'imagerie par microtomographe a été réalisée et les coupes histologiques colorées au trichrome de Masson ont été observées au microscope optique.

**Résultats:** Les molaires des souris WT présentaient la formation d'un pont dentinaire dans la zone d'exposition pulpaire. Chez les souris Msx2-KI, des dépôts ectopiques de dentine réparatrice étaient perceptibles dans la pulpe dentaire.

**Discussion:** La perturbation du mécanisme de réparation tissulaire implique que Msx2 contrôle l'activité des cellules progénitrices de la pulpe. Cette étude *in vivo* contribue à valider le rôle de Msx2 au cours de la formation de la dentine.

**Conclusion :** La stimulation du processus de cicatrisation pulpodentinaire est une méthode *in vivo* accessible, fiable et reproductible pour l'identification des facteurs moléculaires impliqués dans les schémas physiopathologiques de l'inflammation du complexe pulpodentinaire.

**MOTS CLÉS:** DENTINE RÉPARATRICE, CICATRISATION PULPODENTINAIRE, HOMÉOPROTÉINE MSX2.

### ABSTRACT

**Introduction:** Biologic therapy in conservative dentistry is not yet applied because of lack of *in vivo* studies to validate the *in situ* action of molecular factors involved in the inflammatory response of the pulp-dentin complex. In order to support the *in situ* role of Msx2 homeoprotein, the objective of this work was to analyze the reparative dentin in Msx2 deficient-animal.

**Materials and methods:** Pulp capping procedures were performed on the first upper molars of Wild-Type (11 WT-mice) and Msx2-deficient (11 Msx2-KI mice) mice. At five weeks postoperatively, microtomographic X-ray visualization was performed and Masson's trichrome-stained histological sections were observed on light microscopy.

**Results:** The molars of the WT-mice displayed dentin bridge formation at the exposure site of the pulp. In Msx2-KI mice, uncontrolled reparative dentin deposition was noticeable within the dental pulp.

**Discussion:** The disruption of the tissue repair mechanism implies that Msx2 controls the activity of pulp progenitor cells. This *in vivo* study contributes to support the role of Msx2 during the dentin formation.

**Conclusion:** The induction of pulp-dentin healing process is an accessible, reliable and replicable *in vivo* procedure for the identification of molecular factors involved in the pathophysiological patterns of pulp complex inflammation.

**KEY WORDS:** REPARATIVE DENTIN, PULP-DENTIN HEALING, MSX2 HOMEOPROTEIN.

## INTRODUCTION

La dent présente en son sein le complexe pulpodentinaire. Il s'agit d'une unité biologique constituée d'un tissu dur minéralisé, la dentine, et d'un tissu conjonctif spécialisé, la pulpe dentaire. La pulpe dentaire est composée d'une population hétérogène de cellules dont les odontoblastes, cellules postmitotiques, responsables de la sécrétion de la dentine au cours de la dentinogénèse [1]. Face aux stimuli de natures bactérienne, physico chimique, thermique ou tactile, le complexe pulpodentinaire réagit par la mobilisation des cellules au niveau pulpaire pour la formation d'un tissu de protection ou de cicatrisation au niveau dentinaire. Les odontoblastes de première génération synthétisent une dentine réactionnelle ou de nouveaux odontoblastes issus de la différenciation de cellules progénitrices pulpaires synthétisent une dentine réparatrice [2]. Ces mécanismes appelés dentinogénèse tertiaire traduisent la réponse inflammatoire de la pulpe dentaire face aux agressions diverses [3]. Par ces processus, le complexe pulpodentinaire assure l'homéostasie de l'organe dentaire.

Ces dernières années, les investigations en odontologie conservatrice se sont focalisées sur la compréhension des schémas physiopathologiques du processus inflammatoire de la pulpe et les capacités de réparation ou de régénération du complexe pulpodentinaire [4]. L'une des perspectives de la biothérapie en dentisterie est d'utiliser les molécules constitutives des tissus dentaires pour stimuler le potentiel biologique du complexe pulpodentinaire [5]. Cette démarche vise à proposer des alternatives aux thérapeutiques actuelles de l'inflammation pulpaire. Cependant, ce remplacement des traitements conventionnels par la biothérapie rencontre encore quelques verrous dont l'existence de peu d'études pour valider *in vivo* les rôles des facteurs moléculaires identifiés.

Par analogie au développement squelettique, la famille des «*Muscle segment homeobox gene*» (Msx) régule l'histomorphogénèse de la dent au cours du développement embryonnaire [6,7]. Dans les cellules dentaires embryonnaires, les homéoprotéines transcrites (Msx1 et Msx2) sont en amont de la synthèse des protéines constitutives des tissus dentaires [7,8]. La suppression de l'activité de l'homologue Msx2 chez les animaux mutants a mis en évidence une morphologie anormale des dents et des défauts dans la structure de la dentine [10]. Cette dentine physiopathologique suggérait un rôle majeur de Msx2 au cours de la dentinogénèse. En

outre, les analyses moléculaires des explants de la pulpe dentaire de ces mutants ont révélé une surexpression des marqueurs moléculaires de la différenciation des cellules [11]. Msx2 semblait avoir un impact sur la caractérisation des cellules pulpaires. L'absence de l'homéoprotéine impliquait une dérégulation *in situ* des cellules pulpaires, mais cette hypothèse restait encore non élucidée.

Il est admis que les processus de cicatrisation empruntent les mêmes voies de signalisation moléculaire que celles du développement embryonnaire [12]. Afin d'étayer le rôle *in situ* de Msx2, ce travail s'est fixé pour objectif d'analyser la dentine réparatrice chez l'animal porteur de l'invalidation de Msx2.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

Cette étude expérimentale a été réalisée au laboratoire de physiopathologie orale moléculaire, INSERM UMRS 1138, Centre de Recherches des Cordeliers (Paris, France). Elle s'inscrit dans la continuité des travaux sur Msx2 initiés par l'équipe Berdal issue dudit laboratoire [11]. La phase d'exploration de la dentine réparatrice s'est déroulée de septembre 2019 à novembre 2020.

### SOURIS PORTEUSES DE L'INVALIDATION DU GÈNE MSX2

Les expérimentations ont été réalisées avec des souris adultes issues d'une lignée CD1-Swiss et âgées de trente-cinq jours. Les spécimens porteurs de la mutation nulle de Msx2 à la suite du «*Knock In*» du gène (souris Msx2-KI) étaient issus des travaux de l'équipe Benoit Robert [13]. Onze souris Msx2-KI et onze souris normales «*Wild-Type*» (souris WT) ont été sélectionnées pour les comparaisons. Les manipulations ont été réalisées selon les directives sur l'éthique des expérimentations animales avec l'accord du comité national consultatif de bioéthique pour la santé et les sciences de la Vie (référence A-75-06-12).

### STIMULATION DE LA DENTINOGENÈSE RÉPARATRICE

L'induction d'une inflammation pulpaire contrôlée afin de stimuler la dentinogénèse réparatrice a été réalisée selon les protocoles préexistants [14]. Les animaux ont été anesthésiés par injection péritonéale et la procédure a été réalisée sous une loupe binoculaire. La cuspide mésiale de la première molaire maxillaire droite a été meulée à l'aide d'une fraise boule montée sur contre angle

et la dentine restante a été perforée par une lime endodontique stérilisée de petit diamètre ((C+file® K10; Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) afin d'exposer la pulpe sous-jacente. Après hémostase, le recouvrement de l'exposition pulpaire a été réalisé avec un biomatériau tricalcique (Pro-Root MTA®, Dentsply Tulsa, Johnson City, TN, US) et la couronne de la dent a été restaurée au composite photopolymérisable (Amaris®, Voco GmbH, Cuxhaven, Germany). Après le réveil des animaux, ils ont été surveillés pendant cinq semaines.

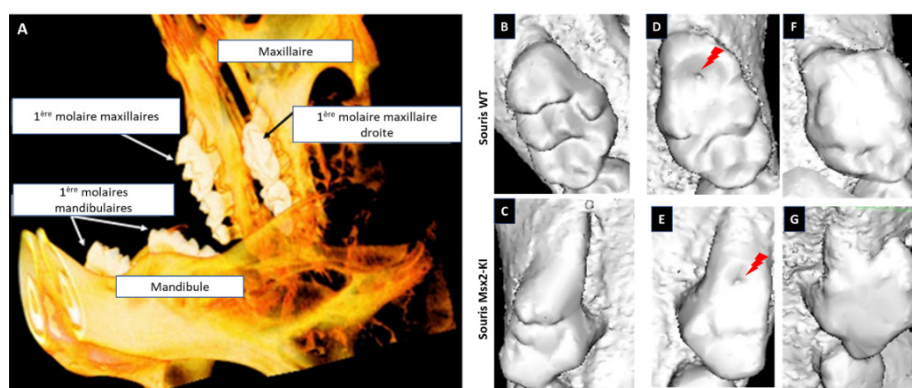
#### ACQUISITIONS AU MICROTOMOGAPHE ( $\mu$ CT)

Une première acquisition des dents indemnes de traitement a été réalisée pour paramétrer le microtomographe (Perking Helmer®; Quantum FX Caliper, Lifesciences, Waltham, MA, USA). Pour se faire, les souris ont été anesthésiées avec de l'air ambiant enrichi à 5% d'isofurane pendant 10 secondes, suivie d'une réduction à 2% tout au long de l'acquisition. Une dose limite de 5 grays a été choisie pour réduire tout effet déterminisme du rayonnement électromagnétique sur les animaux. Les images tridimensionnelles (3D) ont été obtenues par l'application d'une taille de voxel isotrope de  $11\mu\text{m}$  et un champ de vision de 10 mm. Par ce

paramétrage, le temps d'exposition était de 3 minutes suivies de 20 secondes de reconstruction pour une haute résolution spatiale (Figure 1). Une acquisition à une semaine postopératoire ( $\mu$ CT01) a été réalisée pour vérifier la présence du matériau de restauration coronaire. La dernière acquisition a été réalisée à 5 semaines postopératoires ( $\mu$ CT05), puis les animaux ont été euthanasiés pour les analyses histologiques.

#### COLORATION HISTOLOGIQUE ET ACQUISITION AU MICROSCOPE OPTIQUE

Les animaux ont été euthanasiés à cinq semaines postopératoires. Les maxillaires ont été prélevés et décalcifiés à l'acide éthylène diamine tétra-acétique à 4.13% (EDTA, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany). Des séries de coupes sagittales de  $7\mu\text{m}$  ont été réalisées au microtome (Leica RM2145, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Les coupes qui présentaient dans un même plan, la couronne dentaire, la cavité pulpaire et la totalité de la racine sous-jacente à la zone d'intervention (région mésiale de la couronne), ont été récupérées sur des lames pour la coloration au trichrome de Masson. Les observations ont été réalisées au microscope optique couplé à une caméra digitale (DMRB DF300, Leica, France).



**Figure 1:** Acquisitions au microtomographe des maxillaires (A) et reconstructions en 3D des surfaces coronaires des 1<sup>ères</sup> molaires maxillaires des souris WT (B, D, F) et des souris Msx2-KI (C, E, G). B et C : Vue préopératoire avant l'expérimentation. L'observation des dents intactes montre des cuspidés bien définies chez l'animal normal (B), alors que les cuspidés sont émoussés chez le mutant Msx2-KI (C). D et E : Mise en évidence du fraisage de la cuspide mésiale et du point d'effraction de la dentine avant le recouvrement de l'exposition pulpaire (en rouge). F et G : Restauration coronaire au composite. Taille de voxel isotrope :  $11\mu\text{m}$  ; Dimension de champ : FOV 10.

## RÉSULTATS

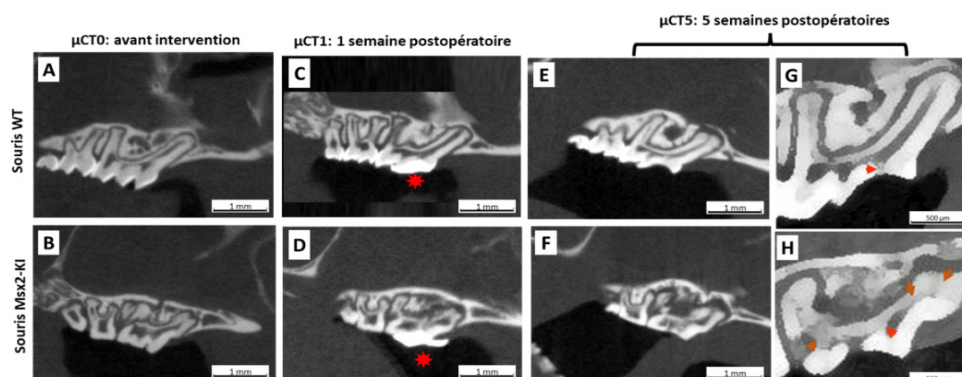
#### OBSERVATIONS AU $\mu$ CT

L'observation au  $\mu$ CT des dents intactes montrait que la 1<sup>ère</sup> molaire de la souris Msx2-KI a une couronne dentaire aplatie, un volume pulpaire important et une déformation de la racine dentaire par rapport à la molaire de la souris normale WT (Figure 2A et 2B). A cinq semaines

postopératoires, la molaire des souris WT présentait la formation d'un tissu de cicatrisation dentinaire dans la zone d'effraction dentinaire et d'exposition pulpaire (Figure 2E). Le traitement de l'image mettait en évidence une dentine réparatrice dont la configuration s'assimilait à un pont de tissu dur isolant la pulpe sous-jacente du milieu extérieur (Figure 2G). Chez l'animal Msx2-KI, la formation de dentine cicatricielle était perceptible dans plusieurs sites non concernées par

l'effraction dentinaire et l'exposition pulpaire (Figure 2F). Le traitement de l'image révélait l'apposition de dentine réparatrice au niveau apical de la racine

mésiale et dans la zone centrale de la racine distale, à distance de l'effraction dentinaire et de l'exposition pulpaire (Figure 2H).

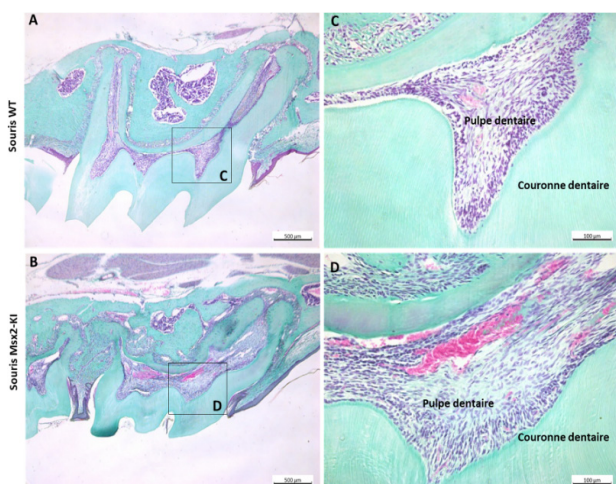


**Figure 2 :** Visualisations au microtomographe des 1<sup>ères</sup> molaires et de la formation de dentine réparatrice chez l'animal normal WT (A, C, E, G) et chez le mutant Msx2-KI (B, D, F, H). A et B : Dents intactes sans traitement ; la molaire de la souris mutante Msx2-KI (B) présente une forme anormale caractérisée par une couronne aplatie et une racine raccourcie. C et D : Observations à une semaine postopératoire pour vérifier la présence du matériau de restauration coronaire car la radio-opacité ne permettait pas de mettre en évidence la dentine réparatrice. E-H : A 5 semaines postopératoires, la formation de dentine réparatrice est circonscrite à la zone d'effraction dentinaire et d'exposition pulpaire chez l'animal WT (E et G) alors que la formation de tissu de cicatrisation est ectopique et diffuse dans la molaire du mutant Msx2-KI (F et H). Barres d'échelle : 1mm (A-F) et 500 μm (G, H).

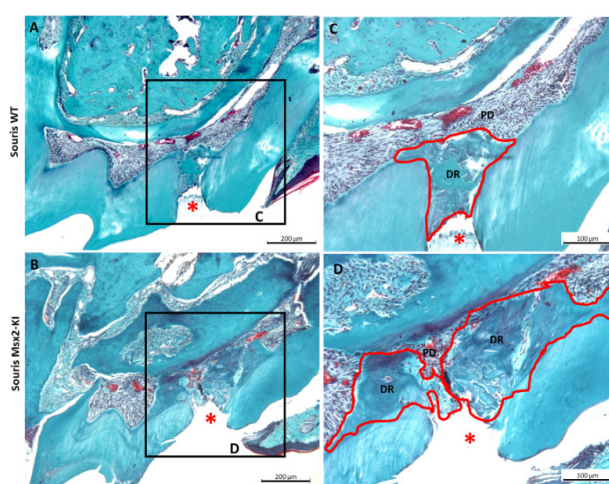
### OBSERVATIONS AU MICROSCOPE OPTIQUE

La coloration au trichrome de Masson mettait en évidence une couronne dentaire avec des cuspidés aplatis, une cavité pulpaire élargie et des racines trapues et courtes chez l'animal Msx2-KI (Figure 3). A cinq semaines postopératoires, l'observation microscopique des molaires traitées

des souris WT montrait le dépôt d'un nouveau tissu au point d'effraction dentinaire par la lime endodontique. La coloration des cellules de la pulpe sous-jacente était perceptible à proximité de ce tissu de cicatrisation (Figure 4A et 4C). Dans les molaires de souris mutantes Msx2-KI, le tissu de cicatrisation envahissait la pulpe sous-jacente et les régions avoisinantes (Figure 4B et 4D).



**Figure 3 :** Visualisations au microscope optique des 1<sup>ères</sup> molaires de souris normal WT (A et C) et de souris mutantes Msx2-KI (B et D). A et C : la couronne dentaire de la souris normale présente des cuspidés bien définies, des racines longues et effilées. B et D : la pulpe dentaire de la 1<sup>ère</sup> molaire de la souris transgénique Msx2-KI est très volumineuse proportionnellement à la couronne dentaire aplatie et la racine raccourcie. Sections des coupes : coupes sagittales de 7 μm d'épaisseur. Coloration : trichrome de Masson. Barres d'échelle : 500 μm (A, B) et 100 μm (C, D).



**Figure 4 :** Visualisations au microscope optique de la formation de dentine réparatrice dans les 1<sup>ères</sup> molaires de souris normal WT (A et C) et de souris mutantes Msx2-KI (B et D). A et C : chez la souris normale, la formation de dentine réparatrice (entourée en rouge) isole la pulpe dentaire (PD) d'une communication avec la surface externe de la dent représentée par la zone de l'effraction dentinaire (astérisx rouge). C et D : chez le mutant Msx2-KI, la dentine réparatrice est formée de façon anarchique dans la pulpe dentaire. Le tissu de cicatrisation (entourée en rouge) à tendance à oblitérer le canal pulpaire de la racine mésiale sous-jacente à la zone de l'effraction dentinaire (astérisx en rouge). Sections des coupes : coupes sagittales de 7 μm d'épaisseur ; Coloration : trichrome de Masson. Barres d'échelle : 500 μm (A, B) et 100 μm (C, D). Abréviations : PD : pulpe dentaire ; DR : dentine réparatrice

## DISCUSSION

La dentinogénèse réparatrice se fait par le recrutement des cellules progénitrices, leur prolifération et migration vers le site à restaurer, et leur différenciation en «odontoblast-like» pour la formation de la dentine de cicatrisation [15,2]. Il s'agit d'une réponse inflammatoire qui implique des phénomènes vasomoteurs, cellulaires et tissulaires, mettant en jeu diverses régulations moléculaires au niveau de la pulpe dentaire [4]. Dans ce travail, la stimulation de la dentinogénèse réparatrice a permis d'observer *in situ* la réponse inflammatoire du complexe pulpodentinaire. Le dépôt anarchique de tissu de cicatrisation en l'absence de Msx2 traduit un dysfonctionnement du mécanisme de réparation. Msx2 contrôle la régulation des cellules progénitrices de la pulpe pour la formation de la dentine.

### IDENTIFICATION D'UN FACTEUR CLÉ DE LA CICATRISATION PULPODENTINAIRE

Dans la pulpe de la dent formée, la surexpression des marqueurs moléculaires de cellules différenciées corrélée à l'inactivation de Msx2 [11] suggérerait la présence d'un grand nombre de cellules engagées dans la voie de différenciation en odontoblastes. Le dépôt anarchique de la dentine réparatrice dans la pulpe dentaire des animaux déficient en Msx2 vient corroborer cette hypothèse. Ce travail contribue ainsi à valider le rôle exact de Msx2: il contrôle la régulation spatiotemporelle des cellules progénitrices des odontoblastes pour une dentinogénèse normale. Cette activité est certainement réalisée en concertation avec d'autres facteurs moléculaires. Les observations dans cette étude ont été réalisées à la fin du processus de formation de la dentine réparatrice. Les avenues de recherche aux stades initiaux de la cicatrisation, à savoir au cours de la prolifération et de la migration, devraient permettre de préciser le moment du dysfonctionnement des cellules progénitrices pulpaire.

### IMPLICATIONS CLINIQUES

L'un des défis actuels en odontologie conservatrice est d'identifier les facteurs clés de la signalisation moléculaire déployée au cours de la cicatrisation pulpodentinaire afin de les utiliser comme biomatériau [16,5]. Il est connu à ce jour que le processus inflammatoire dans la pulpe est progressif, d'où les études sur la conservation partielle du tissu dans sa phase d'inflammation pour la régénération tissulaire [17-19].

Ces nouvelles approches thérapeutiques utilisent un plateau technique accessible et peu coûteux par rapport aux traitements conventionnels. Leur application trouve donc un intérêt réel dans notre contexte d'exercice où les populations ont des possibilités financières limitées [20]. Pour faire face à la demande croissante de soins, en relation avec l'évolution de la qualité de vie de la population, la profession se doit de développer des moyens thérapeutiques adaptés à celle-ci d'une part, et aux plateaux techniques mis à disposition d'autre part. C'est dans cette visée que la stimulation de la cicatrisation pulpodentinaire *in vivo* permet de valider le rôle *in situ* de facteurs moléculaires susceptibles d'être employés en biothérapie dentaire.

## CONCLUSION

La modélisation de la dentinogénèse réparatrice reprend des schémas physiopathologiques du processus inflammatoire du complexe pulpodentinaire. C'est une méthode d'investigation accessible, fiable et reproductible pour l'identification des facteurs moléculaires en vue d'une approche plus biologique du traitement des affections pulpodentaires. L'application clinique d'une telle approche permettrait de répondre à une véritable demande de soins moins coûteux en Côte d'Ivoire. Dans le contexte économique africain peu favorable au financement de la recherche, cet outil d'investigation offre la possibilité de valider l'efficacité de moyens thérapeutiques que pourraient proposer les chercheurs du domaine.

## RÉFÉRENCES

1. RAJAN S, LJUNGGREN A, MANTON DJ, BJÖRKNER AE, MCCULLOUGH M. Post-mitotic odontoblasts in health, disease, and regeneration. *Arch Oral Biol.* 2020; 109: 104591.
2. FAWZY EL-SAYED KM, ELSALAWY R, IBRAHIM N, GADALLA M, ALBARGASY H, ZAHRA N, MOKHTAR S, EL NAHHAS N, EL KALIOUBY Y, DÖRFER CE. The Dental Pulp Stem/Progenitor Cells-Mediated Inflammatory-Regenerative Axis. *Tissue Eng Part B Rev.* 2019; 25(5):445-460.
3. GALLER KM, WEBER M, KORKMAZ Y, WIDBILLER M, FEUERERER M. Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine-Pulp Complex and the Periapical Tissues. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(3):1480.
4. BALIC A. Biology Explaining Tooth Repair and Regeneration: A Mini-Review. *Gerontology.* 2018; 64(4):382-388.

5. WIDBILLER M, DRIESEN RB, EIDT A, LAMBRICHTS I, HILLER KA, BUCHALLA W, SCHMALZ G, GALLER KM. Cell Homing for Pulp Tissue Engineering with Endogenous Dentin Matrix Proteins. *J Endod.* 2018; 44(6):956-962.e2.
6. THOMAS BL, SHARPE PT. Patterning of the murine dentition by homeobox genes. *Eur J Oral Sci.* 1998; 106 Suppl 1:48-54.
7. SAKAGAMI N, MATSUSHITA Y, SYKLAWER-HOWLE S, KRONENBERG HM, ONO W, ONO N. Msx2 Marks Spatially Restricted Populations of Mesenchymal Precursors. *J Dent Res.* 2018; 97(11):1260-1267.
8. KERO D, VUKOJEVIC K, STAZIC P, SUNDOV D, MARDESIC BRAKUS S, SARAGA-BABIC M. Regulation of proliferation in developing human tooth germs by MSX homeodomain proteins and cyclin-dependent kinase inhibitor p19INK4d. *Organogenesis.* 2017; 13(4):141-155.
9. NAKATOMI M, IDA-YONEMOCHI H, NAKATOMI C, SAITO K, KENMOTSU S, MAAS RL, OHSHIMA H. Msx2 Prevents Stratified Squamous Epithelium Formation in the Enamel Organ. *J Dent Res.* 2018; 97(12):1355-1364.
10. AIOUB M, LÉZOT F, MOLLA M, CASTANEDA B, ROBERT B, GOUBIN G, NEFUSSI JR, BERDAL A. Msx2 -/- transgenic mice develop compound amelogenesis imperfecta, dentinogenesis imperfecta and periodontal osteopetrosis. *Bone* 2007; 41(7): 851-859.
11. AMRI N, DJOLÉ SX, PETIT S, BABAJKO S, COUDERT AE, CASTANEDA B, SIMON S, BERDAL A. Distorted patterns of dentinogenesis and eruption in Msx2 Null Mutants: Involvement of Sost/Sclerostin. *Am J Pathol.* 2016; 186(10):2577-87.
12. MITSIADIS TA, FILATOVA A, PAPACCIO G, GOLDBERG M, ABOUT I, PAPAGERAKIS P. Distribution of the amelogenin protein in developing, injured and carious human teeth. *Front Physiol.* 2014; 10; 5:477.
13. VIEUX-ROCHAS M, BOUHALI K, MANTERO S, GARAFFO G, PROVERO P, ASTIGIANO S, BARBIERI O, CARATOZZOLO MF, TULLO A, GUERRINI L, LALLEMAND Y, ROBERT B, LEVI G, MERLO GR. BMP-mediated functional cooperation between Dlx5/Dlx6 and Msx1;Msx2 during mammalian limb development. *PLoS One.* 2013; 8(1):e51700.
14. SONG M, KIM S, KIM T, PARK S, SHIN KH, KANG M, PARK NH, KIM R. Development of a Direct Pulp-capping Model for the Evaluation of Pulpal Wound Healing and Reparative Dentin Formation in Mice. *J Vis Exp.* 2017; (119):54973.
15. HIRATA A, DIMITROVA-NAKOV S, DJOLÉ SX, ARDILA H, BAUDRY A, KELLERMANN O, SIMON S, GOLDBERG M. Plithotaxis, a collective cell migration, regulates the sliding of proliferating pulp cells located in the apical niche. *Connect Tissue Res.* 2014; 55 Suppl 1:68-72.
16. SCHMALZ G, WIDBILLER M, GALLER KM. Signaling Molecules and Pulp Regeneration. *J Endod.* 2017; 43(9S):S7-S11.
17. SIMON S, PERARD M, ZANINI M, SMITH AJ, CHARPENTIER E, DJOLE SX, LUMLEY PJ. Should pulp chamber pulpotomy be seen as a permanent treatment? Some preliminary thoughts. *Int Endod J.* 2013; 46(1):79-87.
18. DUNCAN HF, GALLER KM, TOMSON PL, SIMON S, EL-KARIM I, KUNDZINA R, KRATSL G, Damaschke T, Fransson H, Markvart M, Zehnder M, Bjørndal L. European Society of Endodontology position statement: Management of deep caries and the exposed pulp. *Int Endod J.* 2019; 52(7):923-934.
19. ELMSMARI F, RUIZ XF, MIRÓ Q, FEIJOO-PATO N, DURÁN-SINDREU F, OLIVIERI JG. Outcome of Partial Pulpotomy in Cariously Exposed Posterior Permanent Teeth: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Endod.* 2019; 45(11):1296-1306.e3.
20. KOFFI GNAGNE Y, DJOLÉ SX, KONE KANE A, AVOAKA BONI MC. Successful endodontic treatment performed by dental students: Adjustable factors to maximize success probabilities. *Indian J Conserv Endod* 2020; 5(4):176-180.