



HAL
open science

Impact du déficit en Claudine 10 sur l'amélogénèse : leçon d'une dent HELIX

Nicolas Obtel

► **To cite this version:**

Nicolas Obtel. Impact du déficit en Claudine 10 sur l'amélogénèse : leçon d'une dent HELIX. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. dumas-04002658

HAL Id: dumas-04002658

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04002658>

Submitted on 22 Feb 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'État de docteur en chirurgie dentaire. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

UNIVERSITÉ PARIS CITÉ

FACULTÉ DE SANTÉ

UFR D'ODONTOLOGIE

Année 2022

N° D174

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le : 9 Décembre 2022

Par

Nicolas OBTEL

**Impact du déficit en Claudine 10 sur l'amélogénèse : leçon d'une
dent HELIX**

Dirigée par Mme le Professeur Catherine Chaussain

JURY

M. le Professeur Louis Maman

Président

Mme le Professeur Claire Bardet

Assesseur

M. le Professeur Philippe Bouchard

Assesseur

Mme le Professeur Catherine Chaussain

Assesseur



L'auteur s'engage à respecter les droits des tiers, et notamment les droits de propriété intellectuelle. Dans l'hypothèse où la thèse d'exercice comporterait des éléments protégés par un droit quelconque, l'auteur doit solliciter les autorisations nécessaires à leur utilisation, leur reproduction et leur représentation, auprès du ou des titulaires des droits. Le droit de citations doit s'exercer avec rigueur et discernement. Certaines citations peuvent comporter un extrait textuel de la source. Cet extrait textuel doit être relativement court (une quinzaine de lignes tout au plus), mis entre guillemets ou clairement séparé du corps du texte et bien évidemment référencé en citation. En ce qui concerne la citation sans extrait textuel (mention d'idées ou concepts originaux, données chiffrées, figures, etc.), il faut également en citer la source. Toute figure, tableau, graphique reproduit doit également être accompagné de la citation de la source. L'auteur est responsable du contenu de sa thèse d'exercice. Il garantit l'Université contre tout recours. Elle ne pourra en aucun cas être tenue responsable de l'atteinte aux droits d'un tiers.

Nicolas OBTEL

Tableau des enseignants de l'UFR d'Odontologie

| DÉPARTEMENTS | DISCIPLINES | PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS | MAÎTRES DE CONFÉRENCES |
|--|---|--|---|
| 1. DÉVELOPPEMENT, CROISSANCE ET PRÉVENTION | ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE | Mme M. AUJAY DE LA DURE-MOLLA Mme É. DURSUN Mme S. VITAL | M. P.-J. BERAT (MCU associé) Mme A.-L. BONNET M. F. COURSON Mme M. RIOU (MCU associé) Mme A. VANDERZWALM |
| | ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE | Mme E. LE NORCY | M. C. DUNGLAS M. P. GARREC Mme A. KAMOUN Mme B. VI-FANE |
| | PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ ET ODONTOLOGIE LÉGALE | Mme S. AZOGUI-LEVY M. P. PIRNAY | Mme A.-C. BAS Mme A. GERMA Mme V. SMAIL-FAUGERON Mme A. TENENBAUM |
| 2. CHIRURGIE ORALE, PARODONTOLOGIE, BIOLOGIE ORALE | PARODONTOLOGIE | Mme F. ANAGNOSTOU M. M. BIOSSE DUPLAN Mme M.-C. CARRA Mme M.-L. COLOMBIER Mme M. GOSSET | M. A. BRUN M. D. GUEZ M. S. JUNGO (MCU associé) M. S. KERNER |
| | CHIRURGIE ORALE | Mme G. LESCAILLE M. L. MAMAN Mme L. RADOŇ M. Y. ROCHE | Mme V. BAAROUN M. B. COURRIER Mme A.-L. EJEIL M. F. GAULTIER M. N. MOREAU M. T. NGUYEN Mme J. ROCHEFORT Mme I. TAÏHI M. H. TARRAGANO |
| | BIOLOGIE ORALE | Mme A. C. AZEVEDO (PU associée) Mme C. BARDET (PR) Mme A. BERDAL Mme C. CHAUSSAIN M. V. DESCROIX M. B. FOURNIER M. B. GOGLY Mme R. KOZYRAKI Mme S. SÉGUIER | Mme C. ANDRIQUE (MCU associée) M. C.-D. ARRETO M. J. BOUCHET (MCF) Mme H. CHARDIN M. P. COLLIN Mme M-H. COTTET Mme A. COUDERT (MCF) M. F. FERRÉ Mme C. GORIN Mme S. HOUARI-MEJRI Mme J. ISAAC (MCF) M. O. LE MAY M. G. LIGNON (MCU associé) Mme N NOWWAROTE (MCU associé) M. B. PAIVA (MCF) |
| 3. RÉHABILITATION ORALE (DÉBUT) | DENTISTERIE RESTAURATRICE ENDODONTIE | Mme T. BOUKPESSI M. P. COLON Mme C. GAUCHER | Mme F. BERÈS Mme C. BESNAULT M. É. BONTE Mme A.-M. COLLIGNON M. F. DECUP Mme A. HARTMANN M. G. KUHN Mme C. MESGOUZ-MENEZ Mme C. MOCQUOT Mme N. PRADELLE PLASSE Mme M. ZANINI |

| DÉPARTEMENTS | DISCIPLINES | PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS | MAÎTRES DE CONFÉRENCES |
|------------------------------------|--|--|--|
| 3. RÉHABILITATION ORALE (SUITE) | PROTHÈSES | Mme M.-V. BERTERETCHE Mme A. BRAUD M. O. FROMENTIN M. C. RIGNON-BRET M. B. TAVERNIER Mme C. WULFMAN | M. J.-M. CHEYLAN Mme H. CITTERIO Mme M.-J. CRENN M. M. DAAS M. D. DOT M. L. DUPAGNE (MCU associé) M. N. EID M. S. ESCURE Mme I. FOUILLOUX Mme L. FRIEDLANDER M. P. GATEAU M. D. MAURICE M. P. MOULIN M. P. RENAULT Mme É. SARFATI M. J.-E. SOFFER M. P. TRAMBA |
| | FONCTION-DYSFONCTION, IMAGERIE, BIOMATÉRIAUX | M. Y. BOUCHER Mme L. JORDAN M. J.-F. N'GUYEN M. B. SALMON | M. J.-P. ATTAL M. C. AZEVEDO Mme R. BENBELAÏD Mme A. BENOÎT A LA GUILLAUME (MCF) Mme J. BOSCO M. D. BOUTER M. J.-L. CHARRIER M. M. CHERRUAU M. H. DIAKONOFF (MCU associé) M. R. FELIZARDO M. B. FLEITER M. P. FRANÇOIS Mme F. MANGIONE M. A. PORPORATI (MCU associé) Mme F. TILOTTA |
| PROFESSEURS ÉMÉRITES | | M. C. BÉRENHOLC M. P. BOUCHARD Mme M.-L. BOY-LEFÈVRE Mme M. FOLLIGUET Mme M. WOLIKOW M. R. GARCIA M. J.-J. LASFARGUES M. A. LAUTROU M. G. LEVY | M. B. PELLAT Mme A. POLIARD M. J.-L. SAFFAR |

Liste mise à jour le 28 septembre 2022

Remerciements

À M. le Professeur Louis Maman ; Docteur en Chirurgie dentaire ; Spécialiste qualifié en Chirurgie orale ; Docteur en Sciences odontologiques ; Habilité à Diriger des Recherches ; Professeur des Universités, UFR d'Odontologie – Université Paris Cité ; Praticien Hospitalier, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris ;

Qui me fait l'honneur et le plaisir de présider ce jury de thèse d'exercice. Je tiens à vous remercier de votre soutien afin d'initier un double cursus médical et scientifique, et ce dès ma première année au sein de l'UFR d'Odontologie. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon plus grand respect.

À Mme le Professeur Claire Bardet ; Docteur de l'Université Pierre et Marie Curie ; Habilitée à Diriger des Recherches ; Professeur des Universités, UFR d'Odontologie - Université Paris Cité ; Vice-Doyen de l'UFR d'Odontologie - Université Paris Cité ;

Qui me fait l'honneur de siéger au sein de ce jury de thèse. Je vous remercie de m'avoir aidé dès le début de mon cursus - je pense notamment à ma candidature à l'École de l'Inserm – et d'avoir apporté votre expertise scientifique dans ce projet de recherche présenté ci-après. Vous trouverez ici, l'expression de ma sincère gratitude.

À M. le Professeur Philippe Bouchard ; Professeur émérite, UFR d'Odontologie – Université Paris Cité ;

Qui me fait l'honneur de siéger au sein de ce jury de thèse. Nous nous sommes rencontrés à un stade avancé de ma formation initiale. Cette rencontre a été riche tant sur le plan professionnel que personnel. Veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

À Mme le Professeur Catherine Chaussain ; Docteur en Chirurgie dentaire ; Docteur de l'Université Paris Descartes ; Habilitée à Diriger des Recherches ; Professeur des Universités, UFR d'Odontologie – Université Paris Cité ; Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris ;

Qui me fait l'honneur de diriger cette thèse, fruit de 2 années de recherche. Je vous remercie d'avoir été présente dès mes premiers jours à la faculté, de m'avoir accueilli très chaleureusement au sein de votre laboratoire, de m'avoir soutenu tout au long de mon parcours et d'avoir cru en moi. Merci pour votre accompagnement et encadrement qui m'a donné la chance de vous connaître. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Résumé et indexation en français et anglais

Résumé :

Au sein des épithélia, les protéines claudines sont des composants importants des jonctions serrées puisqu'elles déterminent la perméabilité et la spécificité ionique paracellulaire. Les mutations du gène *CLDN10* sont à l'origine du syndrome autosomique récessif HELIX (Hypohidrose, déséquilibre Electrolytique, dysfonctionnement des glandes Lacrymales, Ichthyose et Xérostomie), dans lequel les patients présentent une usure sévère de l'émail. Ici, nous évaluons si, en plus d'être facilitée par la xérostomie, l'usure de l'émail est causée par une fragilité innée directement liée au déficit en claudine 10. Une troisième molaire prélevée chez une patiente HELIX a été analysée en combinant des approches microanatomiques et physicochimiques (microscopie électronique, cartographie élémentaire, microspectroscopie Raman et spectroscopie de fluorescence des rayons X via synchrotron). La morphologie, le temps de formation, l'organisation et la microstructure de l'émail semblent se situer dans la variabilité naturelle. Cependant, nous avons identifié des variations accentuées de strontium dans l'émail HELIX, avec une alternance d'enrichissements et d'appauvrissements suivant la direction des stries périodiques de Retzius. Ces variations étaient également présentes dans la dentine. Ces données suggèrent que l'usure de l'émail associée à HELIX pourrait ne pas être liée à une perturbation de la microstructure de l'émail mais plutôt à la xérostomie. Cependant, l'apparition de variations en strontium dans les tissus dentaires pourrait indiquer des épisodes répétés d'aggravation du dysfonctionnement rénal, ce qui montre la nécessité d'investigations supplémentaires.

Discipline ou spécialité :

Biologie orale

Mots clés français (fMeSH et Rameau) :

fMeSH : Claudines ; Xérostomie

Rameau : Émail dentaire ; Jonctions cellulaires

Forme ou Genre :

fMeSH : Dissertation universitaire

Rameau : Thèses et écrits académiques

Abstract :

In epithelia, claudin proteins are important components of the tight junctions as they determine the permeability and specificity to ions of the paracellular pathway. Mutations in *CLDN10* cause the rare autosomal recessive HELIX syndrome (Hypohidrosis, Electrolyte imbalance, Lacrimal gland dysfunction, Ichthyosis, and Xerostomia), in which patients display severe enamel wear. Here, we assess whether this enamel wear is caused by an innate fragility directly related to claudin-10 deficiency in addition to xerostomia. A third molar collected from a female HELIX patient was analyzed by a combination of microanatomical and physicochemical approaches (i.e., electron microscopy, elemental mapping, Raman microspectroscopy, and synchrotron-based X-ray fluorescence). The enamel morphology, formation time, organization, and microstructure appeared to be within the natural variability. However, we identified accentuated strontium variations within the HELIX enamel, with alternating enrichments and depletions following the direction of the periodical striae of Retzius. These markings were also present in dentin. These data suggest that the enamel wear associated with HELIX may not be related to a disruption of enamel microstructure but rather to xerostomia. However, the occurrence of events of strontium variations within dental tissues might indicate repeated episodes of worsening of the renal dysfunction that may require further investigations.

Branch or specialty :

Oral Biology

English keywords (MeSH) :

Claudins ; Xerostomia

Publication type (MeSH) :

Academic Dissertation

Liste des abréviations

- AI : amélogénèse imparfaite
- CBCT : *Cone Beam Computer Tomography* (imagerie volumétrique par faisceau conique)
- DFG : débit de filtration glomérulaire
- DSR : *Daily secretion rate* (taux de sécrétion quotidien)
- ECJ : *enamel cementum junction* (jonction amélo-cémentaire)
- EDJ : *enamel dentin junction* (jonction amélo-dentinaire)
- EDX : *Energy-dispersive X-ray spectroscopy* (spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie)
- FWHM : *Full width at half maxima* (largeur totale à mi-hauteur)
- HELIX : *Hypohidrosis, Electrolyte imbalance, Lacrimal gland dysfunction, Ichthyosis, and Xerostomia* (Hypohidrose, déséquilibre Electrolytique, dysfonctionnement des glandes Lacrymales, Ichthyose et Xérostomie)
- HR : *high resolution* (haute résolution)
- JS : jonction serrée
- MEB : Microscope électronique à balayage
- MR : *mid resolution* (moyenne résolution)
- OES : *outer enamel surface* (surface externe de l'émail)
- pH: potentiel hydrogène
- ROI : *region of interest* (region d'intérêt)
- SXRF : *Synchrotron-Based X-Ray Fluorescence Microscopy* (Microscopie à fluorescence X basée sur le synchrotron)

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCTION | 3 |
| 1 : LA DENT ET SA FORMATION : L'AMELOGENESE | 5 |
| 1.1 L'ORGANE DENTAIRE..... | 5 |
| 1.2 LA FORMATION DE L'EMAIL : L'AMELOGENESE..... | 6 |
| 1.2.1 L'émail : un tissu minéralisé | 6 |
| 1.2.2 L'amélogénèse..... | 6 |
| 1.2.3 L'amélogénèse imparfaite | 8 |
| 1.3 PROTEINES CLAUDINES ET SYNDROME HELIX..... | 8 |
| 1.3.1 Les protéines claudines..... | 8 |
| 1.3.2 Mutation de CLDN10 et syndrome HELIX | 9 |
| 1.3.3 Problématique | 10 |
| 2 : MATERIELS ET METHODES | 11 |
| 2.1 ÉCHANTILLONS | 11 |
| 2.2 PREPARATION DES COUPES DE DENTS | 11 |
| 2.3 ÉTUDE MICROANATOMIQUE DES TISSUS DENTAIRES..... | 12 |
| 2.4 IMAGERIE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE (MEB) COUPLE A UNE SONDE EDX..... | 14 |
| 2.5 MICROSPECTROSCOPIE RAMAN | 14 |
| 2.6 ACQUISITION ET TRAITEMENT DES DONNEES VIA SYNCHROTRON A FLUORESCENCE X..... | 15 |
| 2.7 VARIATIONS DE LA TENEUR EN STRONTIUM..... | 18 |
| 3 : RESULTATS | 19 |
| 3.1 ÉTAT PHYSIO-PATHOLOGIQUE ET PHENOTYPE DU PATIENT HELIX | 19 |
| 3.2 TAUX DE SECRETION QUOTIDIEN ET TEMPS DE FORMATION DES COURONNES DANS LA MOLAIRE HELIX | 21 |
| 3.3 MICROSTRUCTURE DE L'EMAIL DE LA DENT HELIX | 23 |
| 3.4 CRISTALLINITE ET CARBONATATION DE LA PHASE MINERALE | 25 |
| 3.5 ANALYSES CHIMIQUES | 27 |
| 3.5.1 Calcium | 28 |
| 3.5.2 Zinc | 29 |
| 3.5.3 Strontium..... | 30 |
| 3.5.4 Autres éléments..... | 33 |
| 4 : DISCUSSION | 34 |
| CONCLUSION | 37 |

| | |
|--------------------------------|-----------|
| BIBLIOGRAPHIE | 38 |
| TABLE DES FIGURES..... | 43 |
| TABLE DES TABLEAUX..... | 44 |
| ANNEXES..... | 45 |

Introduction

Chez les mammifères, l'émail des dents est la structure la plus minéralisée de l'organisme et forme la couche externe de la couronne dentaire. L'amélogénèse est un processus complexe qui se produit avant l'éruption des dents. Elle résulte d'une interaction épithélio-mésenchymateuse complexe entre l'organe de l'émail issu de l'ectoderme et le mésenchyme dentaire issu de la crête neurale (1–4).

La synthèse de l'émail comprend deux étapes majeures, à savoir le stade de sécrétion au cours duquel les améloblastes, cellules sécrétrices de l'organe de l'émail, sécrètent une matrice extracellulaire spécifique de l'émail, et le stade de maturation au cours duquel la majeure partie de cette matrice protéique est remplacée par de l'hydroxyapatite (5–9).

Deux types d'améloblastes de maturation sont décrits selon des critères morphologiques (9,10). Les améloblastes à bordure plissée présentent une membrane plasmique distale avec de multiples invaginations, tandis que les améloblastes à bordure lisse présentent une membrane distale lisse. Ces deux types de conformation s'alternent au cours du processus de maturation et le pH de la matrice amélaire associée passe de 6,2 pour les améloblastes à extrémité plissée à 7,2 pour les améloblastes à extrémité lisse (9,11,12).

Au stade de la sécrétion, les améloblastes présentent un double ensemble de jonctions serrées (JS), à la fois à leur pôle apical et à leur pôle basal.

Au stade de la maturation, les améloblastes à bordure lisse suppriment leurs JS apicales, tandis qu'elles se reforment dans les améloblastes à extrémité plissée (9,10,13).

Les protéines claudines sont les principaux composants des JS qui scellent l'espace paracellulaire ou, au contraire, forment un pore, déterminant ainsi leur perméabilité et leur spécificité ionique (14). L'expression de plusieurs claudines a été rapportée dans les JS des améloblastes sécréteurs (15), y compris les claudines 1, 3, 16 et 19 (10,16–18), alors que la claudine 16 n'a pas été trouvée dans les améloblastes de maturation (16). Il a été démontré que la claudine 10 est exprimée dans l'organe de l'émail et plus précisément dans le stratum intermedium, une couche de cellules épithéliales située immédiatement à côté de l'extrémité basale de la couche d'améloblastes (19).

Par ailleurs, deux isoformes de la claudine 10 sont exprimées dans le rein (20), la claudine 10a et la claudine 10b. L'expression de la claudine 10a, qui est sélective pour les anions, est limitée à une portion

du au tubule proximal (21). La claudine 10b, qui est sélective pour les cations et peut déterminer la perméabilité paracellulaire au sodium (22,23), est exprimée non seulement dans la branche ascendante large de l'anse de Henlé dans le rein (21) mais aussi dans d'autres épithélia (24,25).

Plusieurs maladies génétiques affectent la structure de l'émail de toutes les dents des deux dentitions, entraînant une amélogénèse imparfaite qui se manifeste par des défauts dentaires, qui nécessitent des restaurations complexes et altèrent considérablement la qualité de vie du patient (4,5,26–29).

Parmi elles, l'amélogénèse imparfaite non syndromique est due à des mutations de gènes qui codent pour des protéines de la matrice extracellulaire spécifiques de l'émail (*AMELX*, *ENAM* et *AMBN*), ou des protéines impliquées dans la maturation de l'émail (*MMP20*, *KLK4* et *SLC24A4*), ou des fixations cellule-cellule et cellule-matrice (*ITGB6*, *COL17A1*, *LAMA3* et *LAMB3*) (26,30).

L'amélogénèse imparfaite est également fréquemment rencontrée chez les patients présentant des troubles génétiques liés au rein, à la peau et à d'autres organes (16,26,30,31).

On a récemment découvert qu'un trouble de ce type était associé à des variants perte de fonction de *CLDN10*, entraînant le syndrome autosomique récessif HELIX caractérisé par une hypohidrose, un déséquilibre électrolytique, un dysfonctionnement des glandes lacrymales, une ichtyose et une xérostomie (OMIM 617671 ; prévalence inférieure à 1/1 000 000) (32–37). En outre, il a été signalé que les patients atteints du syndrome HELIX présentaient une usure de l'émail très précoce et sévère (34). Au moment de l'examen, il était difficile de déterminer si cette usure sévère de l'émail résultait principalement d'une érosion due à la sécrétion salivaire anormale (32), ou d'une fragilité de l'émail directement liée à une déficience en claudine 10, puisque la claudine 10 est exprimée dans le germe dentaire en formation (15,19). Dans cette étude, l'examen de l'émail d'une troisième molaire permanente retenue, qui était en position sous-muqueuse et, par conséquent, partiellement exposée à l'environnement buccal, a été utilisé pour explorer cette question. La dent a été extraite pour des raisons thérapeutiques orthodontiques chez une jeune femme adulte atteinte du syndrome HELIX.

En combinant des approches micro-anatomiques et physico-chimiques, nous avons montré que ni le temps de formation de l'émail, sa morphologie, son organisation et sa structure n'étaient significativement affectés par la déficience en claudine 10. Cependant, nous avons identifié des événements aléatoires de variations d'incorporation du strontium à la fois dans l'émail et la dentine qui pourraient refléter des variations du taux de strontium dans le sang correspondant à des périodes d'aggravation du dysfonctionnement rénal.

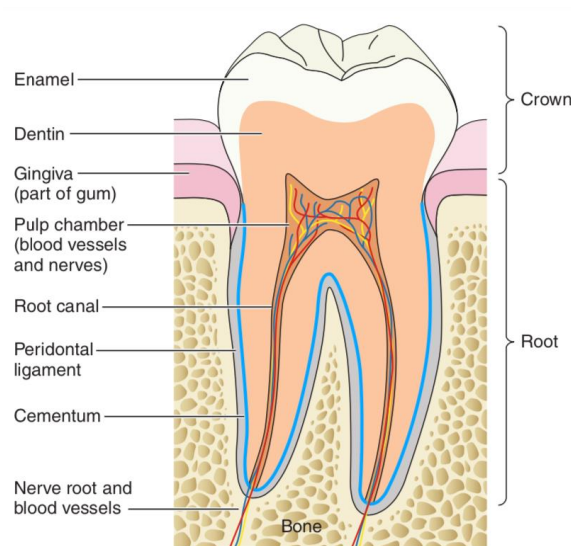
1 : La dent et sa formation : l'amélogénèse

1.1 L'organe dentaire

La cavité buccale est constituée par les dents et plusieurs tissus autour de la dent comme le ligament parodontal, la gencive et l'os. Les dents représentent environ 20% de la surface de la cavité buccale. Les dents remplissent plusieurs fonctions. La mastication est la principale fonction associée à la dentition humaine. Dans le règne animal, les dents ont des rôles importants en tant qu'arme d'attaque et de défense. Pour remplir la plupart de ces fonctions, les dents doivent être dures et très bien fixées aux os des mâchoires.

La dent est composée d'un émail dur, inerte et acellulaire formé par des cellules épithéliales appelées améloblastes et soutenu par un tissu conjonctif dur moins minéralisé, plus résilient et vital, la dentine (Figure 1) (38).

Figure 1 : Anatomie d'une molaire mandibulaire humaine



Source : Lacruz et al., «Dental enamel formation and implications for oral health and disease » 2017.

1.2 La formation de l'émail : l'amélogénèse

1.2.1 L'émail : un tissu minéralisé

Constitué à 96% de minéraux, 2% d'eau et 2% de matière organique, l'émail mature est le tissu le plus dur du corps humain. Il protège la dent des forces thermiques, chimiques et physiques. Grâce à cette barrière isolante, les tissus vitaux tels que la pulpe sont protégés de ces forces qui pourraient porter atteinte à leur intégrité. Le tissu de l'émail est un tissu dérivé de l'épithélium, contrairement à l'os et à la dentine qui dérivent de cellules mésenchymateuses (38).

1.2.2 L'amélogénèse

L'amélogénèse est un processus complexe qui se produit avant l'éruption des dents. Elle résulte d'une interaction épithélio-mésenchymateuse complexe entre l'organe de l'émail issu de l'ectoderme et le mésenchyme dentaire issu de la crête neurale (1–4). Ce processus de formation de l'émail est permis par les améloblastes, cellules dérivées de l'épithélium oral avec une origine ectodermique. À différents stades de l'amélogénèse, les améloblastes ont la capacité de sécréter les protéines de la matrice de l'émail et d'éliminer du matériel pour obtenir finalement un tissu minéralisé. Ces cellules hautement polarisées forment une monocouche unique en contact direct avec la surface de l'émail en formation. On distingue trois stades principaux : le stade de sécrétion, le stade de transition et le stade de maturation (Figure 2) (5).

Au cours du stade sécrétoire, les améloblastes sécrètent un échafaudage de protéines structurelles de la matrice de l'émail, principalement l'amélogénine (AMELX), l'améloblastine (AMBN) et l'énaméline (ENAM) (9). Grâce à ces sécrétions, des conditions de pH strictes sont établies et maintenues pour former les précurseurs des hydroxyapatites (cristaux d'émail) (39). A ce stade, les améloblastes présentent un double ensemble de JS, à la fois à leur pôle apical et à leur pôle basal.

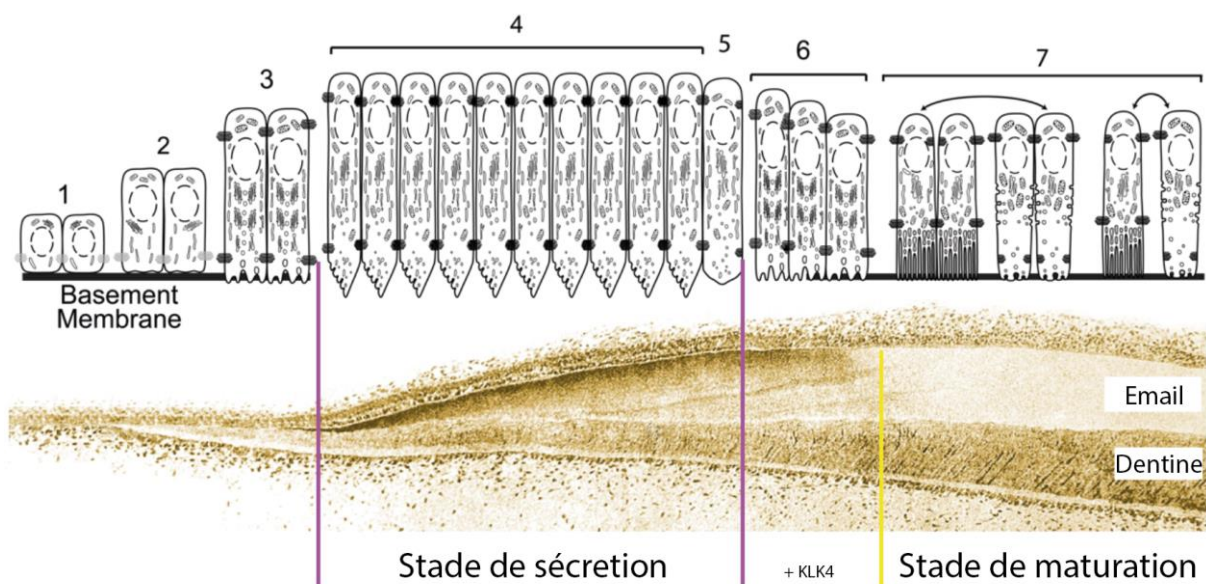
Au stade de la maturation, les améloblastes à bordure lisse suppriment leurs JS apicales, tandis qu'elles se reforment dans les améloblastes à bordure plissée (9,10,13).

Les protéines de la matrice formant l'échafaudage sont presque entièrement éliminées par deux protéases majeures, la sérine protéase Kallikrein-4 (KLK4), qui est sécrétée pendant la phase de transition et de maturation, et la métalloprotéase matricielle 20 (ou *enamelysin*) (MMP20) sécrétée pendant la phase de maturation, qui fournissent un espace pour permettre la croissance des cristaux d'hydroxyapatites carbonatées (40). Deux types d'améloblastes de maturation sont décrits selon des

critères morphologiques. Les améloblastes à bordure plissée présentent une membrane plasmique distale avec de multiples invaginations, tandis que les améloblastes à bordure lisse présentent une membrane distale lisse. Ces deux formes s'alternent au cours du processus de maturation et le pH de la matrice amélaire associée passe de 6,2 pour les améloblastes à bordure plissée à 7,2 pour les améloblastes à bordure lisse (9,11,12).

A la fin du processus de formation, l'émail est un tissu composé d'hydroxyapatite, une espèce minérale de la famille des phosphates dont la formule est $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, et de protéines matricielles avec des protéines structurelles comme l'amélogénine, l'améloblastine, l'énaméline et des protéases (MMP20 et KLK4).

Figure 2 : Illustration du processus d'amélogenèse



Source : Auteur d'après Hu et al., « Enamel formation and amelogenesis imperfecta » 2007.

1.2.3 L'amélogénèse imparfaite

L'amélogénèse imparfaite (AI) est une maladie génétique qui affecte la structure de l'émail de toutes les dents des deux dentitions. L'AI se manifeste par défauts amélaire plus ou moins sévères selon le gène altéré, qui nécessitent des restaurations complexes et altèrent considérablement la qualité de vie du patient (4,5,26–29). L'AI peut être diagnostiquée sous trois formes : hypoplasique, hypomature, et hypominéralisé. Elle est syndromique lorsqu'elle est associée à d'autres manifestations, ou bien non syndromique.

L'AI non syndromique est due à des mutations de gènes qui codent pour des protéines de la matrice extracellulaire spécifiques de l'émail (*AMELX*, *ENAM* et *AMBN*), ou des protéines impliquées dans la maturation de l'émail (*MMP20*, *KLK4* et *SLC24A4*), ou des fixations cellule-cellule et cellule-matrice (*ITGB6*, *COL17A1*, *LAMA3* et *LAMB3*) (26,30). L'AI syndromique est rencontrée chez les patients présentant des troubles génétiques liés au rein, à la peau et à d'autres organes (16,26,30,31). Ces troubles peuvent être dus à une mutation des protéines des jonctions serrées essentielles dans le processus d'amélogénèse : les claudines.

1.3 Protéines claudines et syndrome HELIX

1.3.1 Les protéines claudines

Les cellules épithéliales sont attachées les unes aux autres au niveau de leurs membranes latérales par un complexe de jonctions intercellulaires (41). Le complexe le plus apical des jonctions intercellulaires est la jonction serrée (JS), également appelée zonula occludens. Les JS jouent un rôle clé dans la barrière de diffusion paracellulaire. Elles déterminent la perméabilité épithéliale des petites molécules et de l'eau, et participent au contrôle de la diffusion des composants membranaires entre les régions basolatérales et apicales. Une perturbation de la fonction barrière dans les épithéliums en interface avec l'environnement peut être associée à des troubles gastro-intestinaux (42), rénaux (43) et cutanés (44).

Les JS sont composés de plusieurs protéines transmembranaires et associées à la membrane, dont les protéines occludines et claudines. Les claudines forment soit une barrière paracellulaire, soit des pores qui déterminent les propriétés de la JS. Les claudines régissent la perméabilité épithéliale des petites molécules et de l'eau (14).

Le transport minéral implique la perméabilité épithéliale qui est étroitement liée au type et aux propriétés de la JS. Au cours de l'amélogenèse, les JS sécrétoires des améloblastes sont responsables de l'accès paracellulaire restreint au compartiment de l'émail. La perméabilité paracellulaire de la couche des améloblastes dépend de la composition des JS reposant sur les protéines claudines. Ainsi, une combinaison de différentes claudines peut soit permettre un certain passage d'ions paracellulaires, soit restreindre ce passage.

À ce jour, 27 claudines ont été identifiées dont 11 claudines dans le germe dentaire à différents stades de développement (16,18,45).

L'expression de plusieurs claudines a été rapportée dans les JS des améloblastes sécréteurs (15), y compris les claudines 1, 3, 16 et 19 (10,16–18), alors que la claudine-16 n'a pas été trouvée dans les améloblastes de maturation (16). Il a été démontré que la claudine-10 est exprimée dans l'organe de l'émail et plus précisément dans le stratum intermedium, une couche de cellules épithéliales située immédiatement à côté du pôle basal de la couche d'améloblastes (19).

1.3.2 Mutation de CLDN10 et syndrome HELIX

Les mutations du gène *CLDN10* (gène 617579, locus 13q32.1) chez l'Homme est associé au syndrome HELIX (*Hypohidrosis, Electrolyte imbalance, Lacrimal gland dysfunction, Ichthyosis, and Xerostomia*). Cette maladie génétique autosomale récessive (OMIM 617671) a une prévalence inférieure à 1/1 000 000.

CLDN10 code pour deux isoformes à la suite d'un épissage alternatif : la claudine-10a (Cldn10a) et la claudine-10b (Cldn10b). La Cldn10a est exclusivement exprimée dans le rein, limitée au tubule proximal (21), tandis que la Cldn10b est détectable non seulement dans la branche ascendante large de l'anse de Henlé dans le rein (21) mais aussi dans d'autres épithélia (24,25). Ces deux variants diffèrent dans leur régulation sélective de la perméabilité ionique. La claudine-10a forme un canal anionique paracellulaire sélectif, tandis que la claudine-10b agit comme un canal cationique sélectif (22,23). Chez l'Homme, un variant homozygote de *CLDN10b* peut entraîner une perturbation de la sélectivité paracellulaire du Na⁺ et, de ce fait, induire des conséquences pathogènes, telles qu'une incapacité à transpirer, une réabsorption anormale des cations, une hypermagnésémie et des lésions rénales (33).

De même, dans une étude récente, il a été montré que des mutations dans *CLDN10b* chez l'Homme sont associées au syndrome HELIX et provoquent un dysfonctionnement des JS entraînant des anomalies du transport ionique rénal, de l'homéostasie des glandes ectodermiques et de l'intégrité de

l'épiderme (34). En outre, les patients atteints du syndrome HELIX présentent une hypohidrose, une perte rénale de NaCl avec un hyperaldostéronisme secondaire et une hypokaliémie, une hypolacrymie, une ichtyose, une xérostomie, un trouble de l'humeur et une usure sévère de l'émail, ce qui indique que Cldn10 pourrait jouer un rôle dans la formation de l'émail (34).

Il a été également rapporté que les patients présentaient une diminution de l'absorption de NaCl dans la branche ascendante large de l'anse de Henle et une diminution sévère de la sécrétion de salive. Les deux mutations ont entraîné une réduction ou une absence de Claudine 10 au niveau de la membrane plasmique des cellules épithéliales (34).

1.3.3 Problématique

Lors de l'étude susmentionnée (34), il était difficile de déterminer si cette usure sévère de l'émail résultait principalement d'une érosion due à une sécrétion salivaire déficiente (32), ou d'une fragilité de l'émail directement liée à une déficience en claudine-10, puisque la claudine-10 est exprimée dans le germe dentaire en formation (15,19). Dans ce travail de recherche, la dent 48 a été extraite pour des raisons orthodontiques chez une jeune femme adulte atteinte du syndrome HELIX. L'examen de l'émail de cette troisième molaire permanente retenue, qui était en position sous-muqueuse et, par conséquent, partiellement exposée à l'environnement buccal, a été utilisé pour explorer cette question.

2 : Matériels et méthodes

2.1 Échantillons

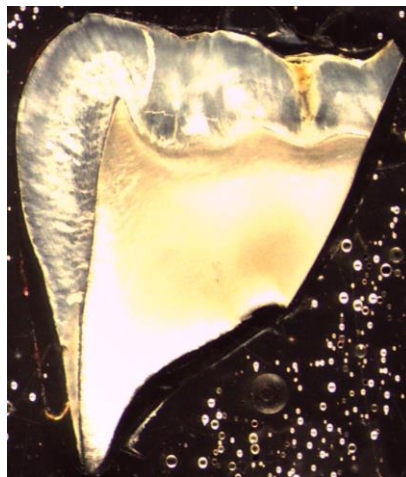
Une troisième molaire inférieure permanente droite (dent n°48) sous muqueuse a été prélevée chez une patiente de 19 ans présentant le syndrome HELIX. Cette patiente avait déjà été décrite comme le patient A-IV-2 (34). Cette famille présentait une variation faux-sens c.386C >T (NM_182848), p.S129L dans la claudine-10a (c.392C > T (NM_006984), et p.S131L dans la claudine-10b. Un examen par imagerie volumétrique par faisceau conique (CBCT) de la mâchoire inférieure a été réalisé pour préparer la chirurgie. Comme cette troisième molaire présentait des racines sévèrement courbées, le chirurgien a décidé de la séparer pour limiter les effets indésirables postopératoires. Trois troisièmes molaires incluses, appariées en fonction de l'âge, ont été rassemblées et ont été utilisées au hasard comme contrôle pour les différentes expériences. Toutes les dents ont été extraites à la demande d'un orthodontiste dans le cadre d'un plan de traitement et ont été prélevées avec le consentement éclairé des patients, conformément aux directives éthiques fixées par la loi française (accord IRB 00006477 et n° DC-2009-927, Cellule Bioéthique DGRI/A5). Toutes les dents ont été fixées dans de l'éthanol à 70% pendant une semaine.

2.2 Préparation des coupes de dents

Des sections de la couronne de la molaire du patient HELIX et de troisièmes molaires témoins ont été réalisées pour étudier la microanatomie des tissus dentaires par microscopie optique et électronique à balayage (MEB) et pour effectuer des analyses chimiques par microspectroscopie Raman, microanalyses par rayons X à dispersion d'énergie (EDX) et imageries par fluorescence X synchrotron (SXRF). Pour la molaire HELIX, étant donné que la moitié distale de la couronne se présentait sous la forme d'un fragment et était donc plus difficile à manipuler, bien qu'elle ait conservé l'émail et la dentine, la coupe a été réalisée sur ce fragment, ce qui a permis d'obtenir une coupe fine de la couronne vestibulo-distale. Une section vestibulo-linguale à travers les cuspidés mésiales a été réalisée sur les troisièmes molaires inférieures de contrôle. Pour la préparation des sections minces pour les analyses microanatomiques, Raman et SXRF, les dents ont été incorporées dans une colle cyanoacrylate et fixées avec de la cire sur une lame de verre. Nous avons utilisé une scie équipée d'un disque diamanté (Struers, Champigny-sur-Marne, France) sous un jet d'eau continu. Après la première coupe, la surface du bloc a été polie avec du papier abrasif en carbure de silicium (Grit 600/P1200) et du papier Chemomet® avec de la poudre d'aluminium de 1 µm (Bühler, Uzwil, Suisse). Cette surface a

été collée sur la lame avec de l'Araldite 2020® (Huntsman Corporation, The Woodlands, TX, USA). Le bloc a ensuite été sectionné en tranches d'environ 300 µm et poli (Grit 600/P1200) pour atteindre une épaisseur moyenne d'environ 160 µm pour la molaire HELIX et d'environ 60 µm pour la troisième molaire témoin. Le processus de polissage a été maintenu minimal pour la dent HELIX en raison de sa plus petite taille. Enfin, les sections ont été polies à nouveau avec du papier Chemomet avec de la poudre d'aluminium de 1 µm jusqu'à l'obtention d'une surface complètement plane. Pour la préparation des sections pour les analyses MEB et EDX, des sections de 1 mm d'épaisseur en miroir des troisièmes molaires de contrôle et de la dent HELIX ont été préparées avec une scie équipée d'un disque diamanté (Struers) sous un jet d'eau continu. Pour l'analyse MEB, après un polissage minutieux, les surfaces ont été nettoyées avec de l'hypochlorite de sodium à 5% sous activation ultrasonique pendant 2 min, rincées deux fois avec de l'eau distillée, mordancées avec de l'acide orthophosphorique à 36% (DeTrey® Conditioner 36, Dentsply Sirona, York, PA, USA) pendant 12 secondes, puis soigneusement rincées avec de l'eau distillée. Pour l'analyse EDX, après le polissage, les surfaces ont été nettoyées sous une lampe à ultraviolet.

Figure 3 : Coupe de dent HELIX (épaisseur : 160 µm) collée avec de l'Araldite® sur lame de verre (épaisseur : 955 µm) observée au stéréomicroscope



Source : Auteur, 2020.

2.3 Étude microanatomique des tissus dentaires

La section de la couronne HELIX a été montée sur une lame de verre pour observation et analyse. La section a été analysée en lumière incidente avec un stéréomicroscope Leica® M8 et en lumière transmise avec un photomicroscope Zeiss® Universal. Le microscope Zeiss® était équipé d'une caméra

Idea® connectée à un ordinateur utilisant le logiciel Spot (version 5.4). Les images ont été traitées avec le logiciel Nikon® ViewN2 et leur analyse a été réalisée avec ImageJ. L'analyse de la microanatomie dentaire permet de calculer le taux de sécrétion quotidien (DSR : *Daily Secretion Rate*) de l'émail et le temps de formation de la couronne grâce à la présence de lignes de croissance périodiques dans l'émail : les stries transversales, et les stries de Retzius (Annexe 1). Les stries transversales reflètent la variation circadienne de la sécrétion d'émail, leur espacement est indicatif de la quantité d'émail formée par jour et donne le DSR (46). Les stries de Retzius, qui correspondent à des étapes successives plus longues de la formation de l'émail, sont formées à intervalles réguliers. Leur périodicité est déterminée en comptant le nombre de stries transversales entre deux stries successives. Cette périodicité est supposée être constante pendant toute la durée de formation de la couronne d'une dent donnée. Selon la disposition des stries de Retzius dans l'émail, la couronne dentaire peut être divisée en une partie cuspidienne, située au niveau du tiers occlusal de la dent, dans laquelle les stries sont disposées en arcs successifs autour de la corne dentinaire et une partie latérale, qui se forme ultérieurement et jusqu'à l'achèvement de la couronne au niveau du collet (Annexe 1) (47). Dans l'émail latéral, les stries de Retzius s'effilochent et se terminent à la surface de l'émail plutôt que de s'arquer autour de la corne dentinaire. Le DSR a été obtenu dans la partie cuspidienne de la couronne près de la corne dentinaire apparente (Annexe 1). Une ligne suivant la direction d'un prisme d'émail entre la jonction émail-dentine (EDJ) et la surface externe de l'émail (OES) a ensuite été divisée en zones de 100 µm d'épaisseur pour calculer les changements de DSR au cours de la formation de la couronne (48,49). Dans chaque zone, l'espacement moyen entre les stries transversales a été mesuré. Cette opération a été effectuée plusieurs fois dans chaque zone, toujours sur un nombre minimum de trois stries transversales, afin d'obtenir un DSR moyen pour chaque zone, et enfin de calculer un DSR moyen global pour l'émail cuspidien. Le temps total de formation de l'émail cuspidien est égal à l'épaisseur de l'émail cuspidien divisée par l'espacement quotidien moyen des stries transversales. Pour décrire le développement de l'émail latéral, la hauteur de la couronne, prise entre la pointe cuspidienne et la jonction amélo-cémentaire (ECJ), a été divisée en déciles de hauteur de couronne (50). On a remarqué que dans les deux premiers déciles, les stries étaient difficiles à distinguer, de sorte que le temps de formation a été estimé en divisant la longueur du chemin prismatique entre l'émail cuspidien-latéral limite et les premières stries du troisième décile par le DSR de cette zone. Le nombre de stries de Retzius a été compté dans chaque décile et multiplié par leur périodicité. La périodicité a été obtenue en trois endroits. Le temps de formation de l'émail latéral est égal au nombre total de stries de Retzius multiplié par leur périodicité, soit 8 jours (Figure 12). Le temps de formation de la couronne a été obtenu par la somme des temps de formation de l'émail cuspidien et latéral.

2.4 Imagerie au microscope électronique à balayage (MEB) couplé à une sonde EDX

Pour l'imagerie MEB, des sections épaisses des troisièmes molaires HELIX et témoins ont été recouvertes d'une fine couche d'or (environ 30 nm) à l'aide d'une machine à pulvériser l'or Cressington 108 Auto. Pour les mesures EDX, les sections épaisses ont été recouvertes d'une fine couche de carbone (environ 20 nm) par évaporation à l'aide d'une coucheuse de carbone Cressington 208C. L'imagerie et l'analyse ont été réalisées à 15 kV à différents grossissements à l'aide d'un microscope Hitachi SU-70 équipé d'un canon à émission de champ. Tous les échantillons ont été évalués pour la teneur en Calcium (Ca), Phosphore (P) et Magnésium (Mg) (pourcentage atomique) dans les couches externes et internes de l'émail, et au moins trois mesures ont été effectuées pour chaque couche.

2.5 Microspectroscopie Raman

Les analyses Raman ont été réalisées à l'aide d'un microspectromètre Raman Senterra (Bruker Optics), en utilisant un laser émettant à 785 nm réglé pour fournir une puissance laser à l'échantillon d'environ 25 mW. La collecte des données était contrôlée par le logiciel OPUS 7.5 (Bruker Optics). Les mesures ont été collectées sur une fenêtre spectrale ($450\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$) avec une résolution spectrale d'environ 3 cm^{-1} , et chaque analyse était la coaddition de deux spectres accumulés avec un temps d'exposition pouvant atteindre 30 s pour chacun. Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un objectif 50× (Olympus, Tokyo, Japon), donnant une taille de spot analytique d'environ $12\text{ }\mu\text{m}$ de diamètre, avec la longueur d'onde d'excitation utilisée. Les analyses ont été effectuées directement sur les surfaces polies des sections minces. Pour la cartographie, l'échantillon a été déplacé par une platine contrôlée par ordinateur. Chaque surface a été scannée en déplaçant l'échantillon par pas d'environ $18\text{ }\mu\text{m}$. Les cartes ont été réalisées sur une surface de $700 \times 2150\text{ }\mu\text{m}$ pour l'échantillon témoin et de $1000 \times 1850\text{ }\mu\text{m}$ pour l'échantillon HELIX. Les cartes chimiques ont été générées en intégrant la surface de la bande centrée à 1070 cm^{-1} (I_{1070}) et la bande centrée à 960 cm^{-1} (I_{960}), attribuée à la vibration des groupes carbonate ($\nu(\text{CO}_3^{2-})$) et phosphate ($\nu(\text{PO}_4^{3-})$) dans la phase minérale, respectivement (51). Des rapports entre les deux cartes ont été effectués pour suivre la distribution chimique. Les cartes ont été représentées en utilisant le même schéma de couleurs. La largeur totale à mi-hauteur (FWHM) avec la position ajustée imposée a également été déterminée. Des cartes basées sur la largeur totale à mi-hauteur du $\nu(\text{PO}_4^{3-})$ (FWHM_{960}) pour les deux échantillons ont également été présentées avec une échelle de couleurs allant de 10 à 16 cm^{-1} . Les soustractions de la ligne de base, l'ajustement et la génération de cartes ont été gérés par le logiciel OPUS 8.7 (Bruker Optics).

Figure 4 : Microscope Raman Senterra II (Bruker Optics)



Source : Bruker Optics, 2021.

2.6 Acquisition et traitement des données via synchrotron à fluorescence X

L'analyse SXRF a été réalisée sur la ligne de faisceaux P06,(52,53) Petra III, à DESY (Deutsches Elektronen-Synchrotron, Hambourg, Allemagne), membre de l'Association Helmholtz HGF.

Figure 5 : La source de rayonnement synchrotron de 3^e génération à haute brillance de DESY : PETRA

III

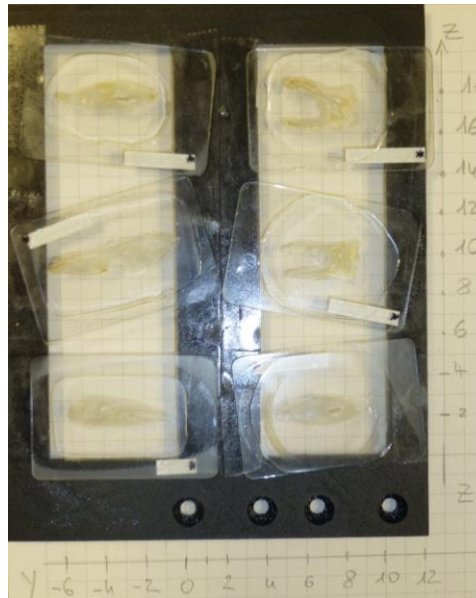
Avec une circonférence de 2,3 km, PETRA III est la plus grande et l'une des plus brillantes sources de lumière annulaire de stockage au monde.



Source : Deutsches Elektronen-Synchrotron DESY.

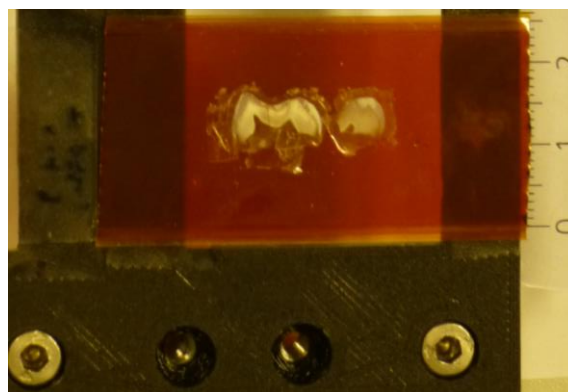
La troisième molaire HELIX et une troisième molaire de contrôle ont été scannées. La section mince de la molaire HELIX a été laissée montée sur un support de lame de verre, tandis que la molaire de contrôle a été montée sur une feuille de Kapton® suspendue.

Figure 6 : Sections de dents montées sur lame de verre



Source : Dr. Le Cabec, non publié, 2020.

Figure 7 : Section de molaire contrôle montée sur feuille de Kapton® suspendue



Source : Dr. Le Cabec, non publié, 2020.

L'anneau de stockage a fonctionné en mode 480 bouquets en mode remplissage complémentaire avec un courant moyen de $120 \text{ mA} \pm 0,5 \text{ mA}$. Le faisceau de rayons X primaire a été monochromatisé à 16,6 keV à l'aide d'un monochromateur Si111 à double cristal et focalisé à l'aide d'un système de miroir Kirkpatrick-Baez (JTEC, Japon) à environ $500 \times 500 \text{ nm}^2$. La configuration expérimentale comprenait

deux détecteurs de dérive en silicium Vortex EM (Hitachi High-Tech Science America, Inc.), dont le second était collimaté. Les deux détecteurs étaient positionnés symétriquement à des angles de diffusion de 135 degrés à une distance de 9 mm du point focal à la surface de l'échantillon. L'utilisation d'une géométrie de « rétrodiffusion » à deux détecteurs maximise l'angle solide pendant l'analyse d'échantillons polis minces (environ 110 µm d'épaisseur en moyenne dans cette étude), et permet de balayer une grande surface avec une résolution micrométrique en utilisant des temps d'arrêt de quelques millisecondes (54). Cette configuration a permis de capter les raies d'émission K α du Silicium (Si) au Strontium (Sr), avec une efficacité de détection variable. La déconvolution et l'intégration des pics spectraux ont été réalisées à l'aide du noyau de PyMca 5.5.0 (55). L'analyse des images a été effectuée dans HDIP v1.3.3.1073 (Teledyne CETAC Technologies, Bozeman, MT, USA). Les calculs de rendement en rayons X ont été effectués à l'aide d'un script interne en supposant une matrice d'hydroxyapatite (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂) de densité 2,85 g.cm⁻³ pour la phase émail et 1,6 g.cm⁻³ pour la phase dentine (56). Les fractions de masse élémentaire ont été déterminées en calculant une sensibilité de densité surfacique à partir de mesures de feuilles standard de Titane (Ti), Fer (Fe) et Cuivre (Cu) ayant une densité surfacique de 59,0, 55,0 et 47,9 µg.cm⁻², respectivement (Micromatter Technologies Inc., Canada), et en mesurant l'épaisseur des échantillons. L'épaisseur de la section de la dent a été mesurée sur toute la surface des échantillons en quatre positions pour HELIX et en cinq positions pour la dent témoin. L'épaisseur moyenne de la section de la dent (160 et 61 µm respectivement) a également été prise en compte dans les coefficients d'atténuation de la masse des rayons X de la phase hydroxyapatite pendant la correction de l'atténuation (57). Les lames de verre et les substrats en feuille de kapton ont été inclus dans le modèle d'échantillon global. La normalisation au flux de rayons X entrants a été appliquée. Dans les données étalonnées, les concentrations SXRF sont rapportées par fraction de masse (µg.g⁻¹, c'est-à-dire ppm), et/ou par densité surfacique (g.cm⁻³). Une stratégie de balayage multi-échelle a été utilisée pour optimiser l'efficacité. Tout d'abord, une vue d'ensemble rapide a été acquise à 100 µm (temps d'arrêt : 10 ms) pour vérifier que la section de la dent est bien centrée dans le champ de vision, et évaluer le signal global des tissus dentaires. Ensuite, une vue d'ensemble à moyenne résolution (MR) a permis de visualiser la variation élémentaire dans la section dentaire entière (c'est-à-dire l'émail et la dentine). La section de la troisième molaire HELIX a été scannée à 10 µm avec un temps d'arrêt de 3 ms (X = 6,31 mm × Y = 6,44 mm, t = 33 min). La section de la troisième molaire de contrôle a été scannée à 10 µm, avec un temps d'arrêt de 3 ms (X = 18,35 mm × Y = 7,99 mm, t = 1,3 h). Enfin, sur la base des observations préalables de la section de la dent HELIX au microscope et des scans MR, deux petites régions d'intérêt (ROI) ont été sélectionnées pour l'acquisition de scans haute résolution (HR) : à 1,5 µm (temps d'arrêt = 4 ms) : (1) à travers l'émail latéral juste en dessous de l'extrémité de l'émail cuspidé (ROI : X = 1,45 mm × Y = 0,37 mm, t = 18 min), et (2) à travers l'EDJ à peu près sous le centre du bassin occlusal (ROI : X = 1,21 mm × Y = 0,68 mm, t =

28 min). Aucun balayage HR n'a été acquis sur la molaire témoin, en raison d'un signal normal et monotone dans le balayage MR. La visualisation et l'analyse des données SXRF ont été effectuées dans HDIP. Les cartes élémentaires codées en couleur ont été enregistrées sous forme de fichiers Tiff 32 bits, ce qui a permis d'affiner le contraste et la luminosité dans ImageJ (58,59) pour mieux révéler le motif de stress. Il est à noter que pour débruiter les images, un filtre de Gauss 2D a été appliqué avec un noyau de $0,8 \times 0,8$.

2.7 Variations de la teneur en strontium

Puisque la chronologie de la formation de la couronne a été établie, toute variation de la concentration en Sr a pu se voir attribuer un moment relatif à l'initiation de la formation de la couronne. Chaque variation significative (c'est-à-dire enrichissement ou appauvrissement) de la teneur en Sr s'est vu attribuer une lettre, leur distance par rapport à l'EDJ a été mesurée, et leur ordre chronologique de formation a été calculé. La chronologie des changements de la teneur en Sr entre l'EDJ et la surface de l'émail le long d'un transect a été quantifiée en utilisant la même méthodologie que celle utilisée pour l'émail cuspidien, c'est-à-dire que la longueur cumulée du prisme entre les deux points de référence a été divisée par le DSR moyen de la zone concernée.

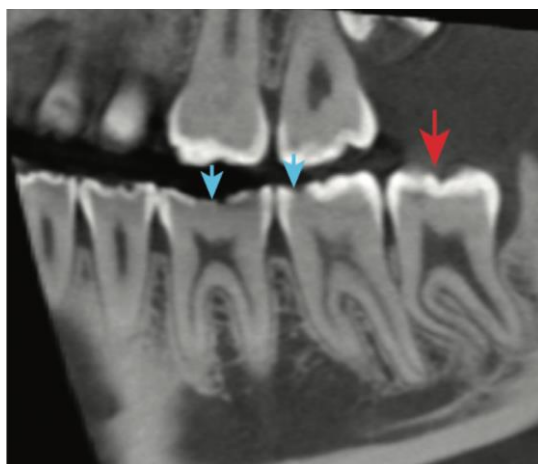
3 : Résultats

3.1 État physio-pathologique et phénotype du patient HELIX

La patiente HELIX est une femme Française de 19 ans (patiente A-IV-2) née à terme de parents consanguins et élevée en France (34). Elle présentait une xérose cutanée avec une kératose pilaire des joues, des bras, des cuisses avec une légère kératodermie palmo-plantaire, ainsi qu'une xérostomie. Comme présenté dans Hadj-Rabia et al. (34), elle avait un taux de calcium sérique normal, un taux de magnésium sérique élevé, une faible concentration de potassium sérique et une hypocalciurie. La patiente a suivi un traitement orthodontique fixe multi-attaches entre 12 et 14 ans et, au moment de l'examen dentaire, elle présentait un dispositif de rétention orthodontique métallique fixe à la mâchoire inférieure, de canine à canine. Comme le montrent l'examen clinique, l'orthopantomogramme (34) et l'examen CBCT (Figures 8,9 et 10) de la mâchoire inférieure droite, la patiente présentait une usure sévère de l'émail sur toutes ses dents en éruption (flèches bleues, Figure 8 et 9). La couronne de la troisième molaire inférieure était entièrement formée bien que retenue en position sous-muqueuse et partiellement en éruption dans la cavité buccale et présentait une morphologie normale (flèche rouge, Figure 8 et 9).

Figure 8 : Anatomie et microanatomie de la molaire HELIX (CBCT)

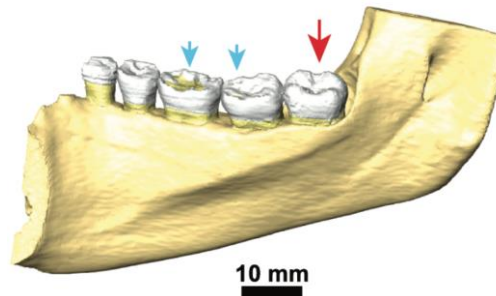
Coupe transversale du CBCT de la mâchoire inférieure droite de la patiente HELIX. La troisième molaire partiellement éruptée (flèche rouge) présente un émail non usé et normalement formé, tandis que les molaires éruptées sur arcade présentent une usure occlusale (flèches bleues).



Source : Auteur, 2022.

Figure 9 : Anatomie et microanatomie de la molaire HELIX (reconstruction 3D)

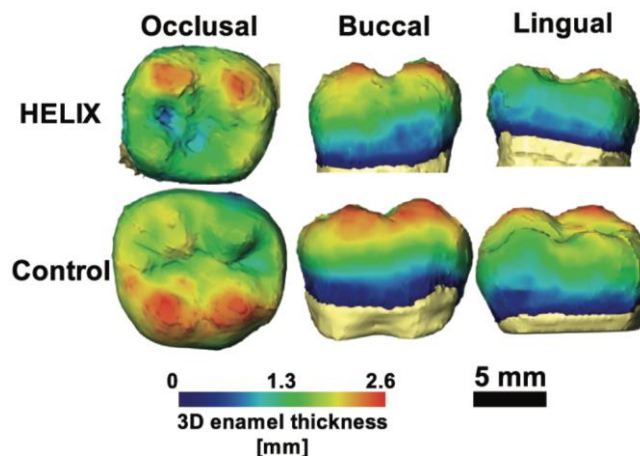
Reconstruction 3D de la mâchoire inférieure droite de la patiente HELIX. La troisième molaire partiellement sortie (flèche rouge) présente un émail non utilisé et normalement formé, tandis que les molaires sur l'arcade présentent une usure occlusale (flèches bleues).



Source : Auteur, 2022.

Malgré la résolution relativement faible du scanner CBCT (200 μm), les indices d'épaisseur de l'émail de la molaire HELIX ont pu être calculés sur une section virtuelle en 2D prise à travers les cuspidés mésiales (Figure 10). Ces indices se situaient dans la fourchette des valeurs publiées pour les troisièmes molaires permanentes de l'homme moderne (60,61), ce qui suggère que le volume d'émail formé n'a pas été perturbé par la déficience en claudine-10. En outre, le CBCT a montré que cette troisième molaire présentait une édification radiculaire presque complète et une lésion carieuse de l'émail située dans la fissure mésiale de la face occlusale (flèche rouge, Figure 8).

Figure 10 : Reconstitutions 3D des couronnes des troisièmes molaires, montrant que l'émail de la dent HELIX présente une distribution 3D de l'épaisseur de l'émail comparable à celle du témoin (*control*)



Source : Auteur, 2022.

3.2 Taux de sécrétion quotidien et temps de formation des couronnes dans la molaire HELIX

Le tableau 1 présente le DSR moyen pour chaque zone de 100 μm de la molaire HELIX. Comme le montre la figure 11, le DSR a augmenté de 1,96 $\mu\text{m}/\text{jour}$ dans la zone interne de l'émail près de l'EDJ à 4,62 $\mu\text{m}/\text{jour}$ dans la zone externe de l'émail près de la surface de l'émail. Les valeurs et le schéma de la DSR de cette troisième molaire HELIX étaient similaires à ceux rapportés pour toute dent humaine normale (62–64).

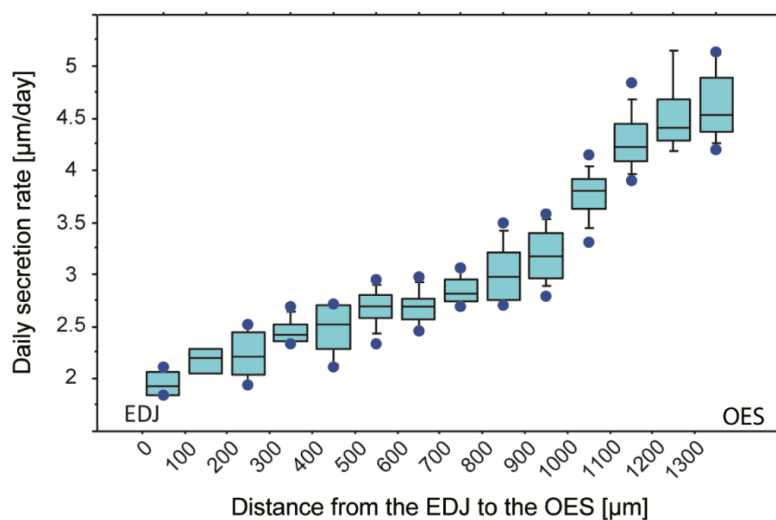
Tableau 1 : Taux de sécrétion quotidien (DSR) de la jonction émail-dentine (EDJ) à la surface externe de l'émail (OES)

| Zone de 100 μm (distance en mm) | EDJ-0.1 | 0.1-0.2 | 0.2-0.3 | 0.3-0.4 | 0.4-0.5 | 0.5-0.6 | 0.6-0.7 | 0.7-0.8 | 0.8-0.9 | 0.9-1 | 1-1.1 | 1.1-1.2 | 1.2-1.3 | 1.3-OES |
|--|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|-------|---------|---------|---------|
| DSR (en $\mu\text{m}/\text{jour}$) | 1.96 | 2.18 | 2.23 | 2.46 | 2.48 | 2.68 | 2.69 | 2.85 | 3.02 | 3.20 | 3.78 | 4.29 | 4.52 | 4.62 |

Source : Auteur, 2022.

Figure 11 : Détermination du taux de sécrétion quotidien (DSR) dans l'émail HELIX

Le DSR ($\mu\text{m}/\text{jour}$) (*Daily secretion rate [$\mu\text{m}/\text{day}$]*) augmente de la jonction émail-dentine (EDJ) à la surface externe de l'émail (OES).

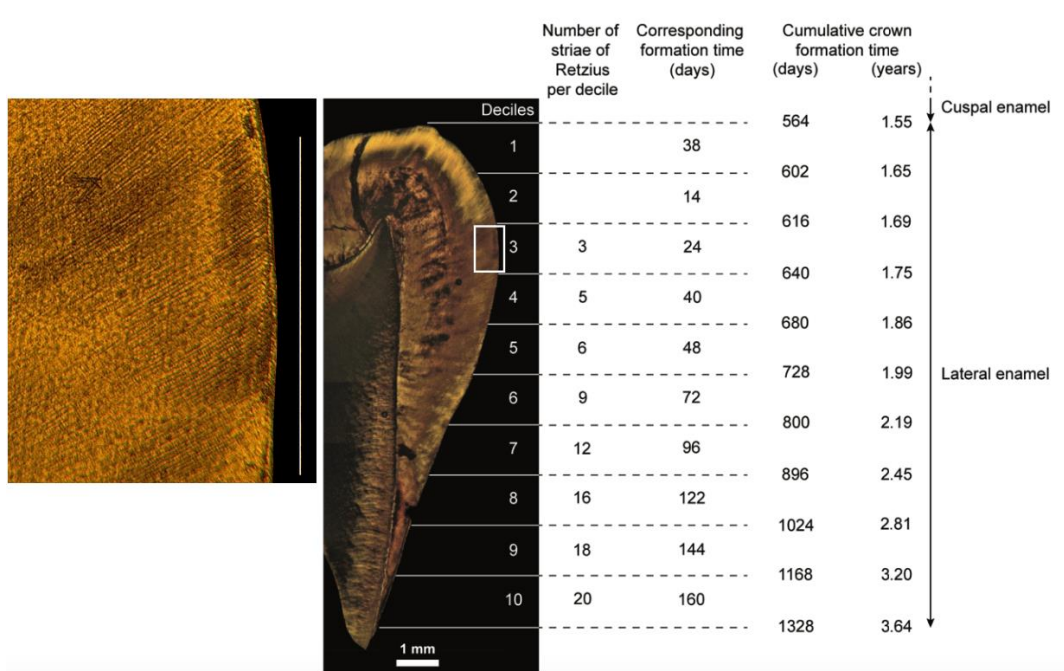


Source : Auteur, 2022.

Le temps total de formation de la couronne de la dent HELIX a ensuite été établi (Figure 12). Pour cette dent, nous avons déterminé que le temps de formation de l'émail cuspidien était de 564 jours. La périodicité des stries de Retzius était de 8 jours. Le nombre de stries dans chaque décile de l'émail latéral est indiqué dans la figure 12. Les deux premiers déciles correspondent à 52 jours, tandis que les déciles 3 à 10 contiennent 89 stries de Retzius formées sur 712 jours. Le temps de formation de la couronne était donc de 1328 jours (3,64 ans). Le nombre de stries augmente en direction de la ECJ, passant de trois stries dans le décile 3 (pointe de la cuspide) à 20 stries dans le décile 10 (ECJ), ce qui indique que le nombre de jours dans chaque décile augmente en direction la ECJ (figure 12). En d'autres termes, le taux d'allongement de la couronne a ralenti de la pointe de la cuspide à la jonction amélo-cémentaire. Le modèle d'espacement des stries de Retzius entre chacun des déciles, ainsi que le temps de formation au sein de chaque décile, et le temps global de formation de la couronne trouvé dans la troisième molaire HELIX étaient similaires à ceux déjà établis pour les troisièmes molaires saines de l'homme moderne (50).

Figure 12 : Quantification du temps de formation de la couronne HELIX

L'émail cuspidien (*cuspal enamel*) a mis 564 jours (1,55 an) à se former. Le nombre de stries de Retzius (*number of striae of Retzius per decile*) et les jours de formation correspondants (*corresponding formation time (days)*) sont donnés pour chaque décile de l'émail latéral (*lateral enamel*). Le temps total de formation de la couronne (*cumulative crown formation time*) est de 1328 jours (3,64 ans). La zone d'intérêt symbolisée par le rectangle blanc dans l'image du milieu est à plus fort grossissement dans l'image de gauche. Voir l'annexe 1 pour plus de détails sur la méthodologie.



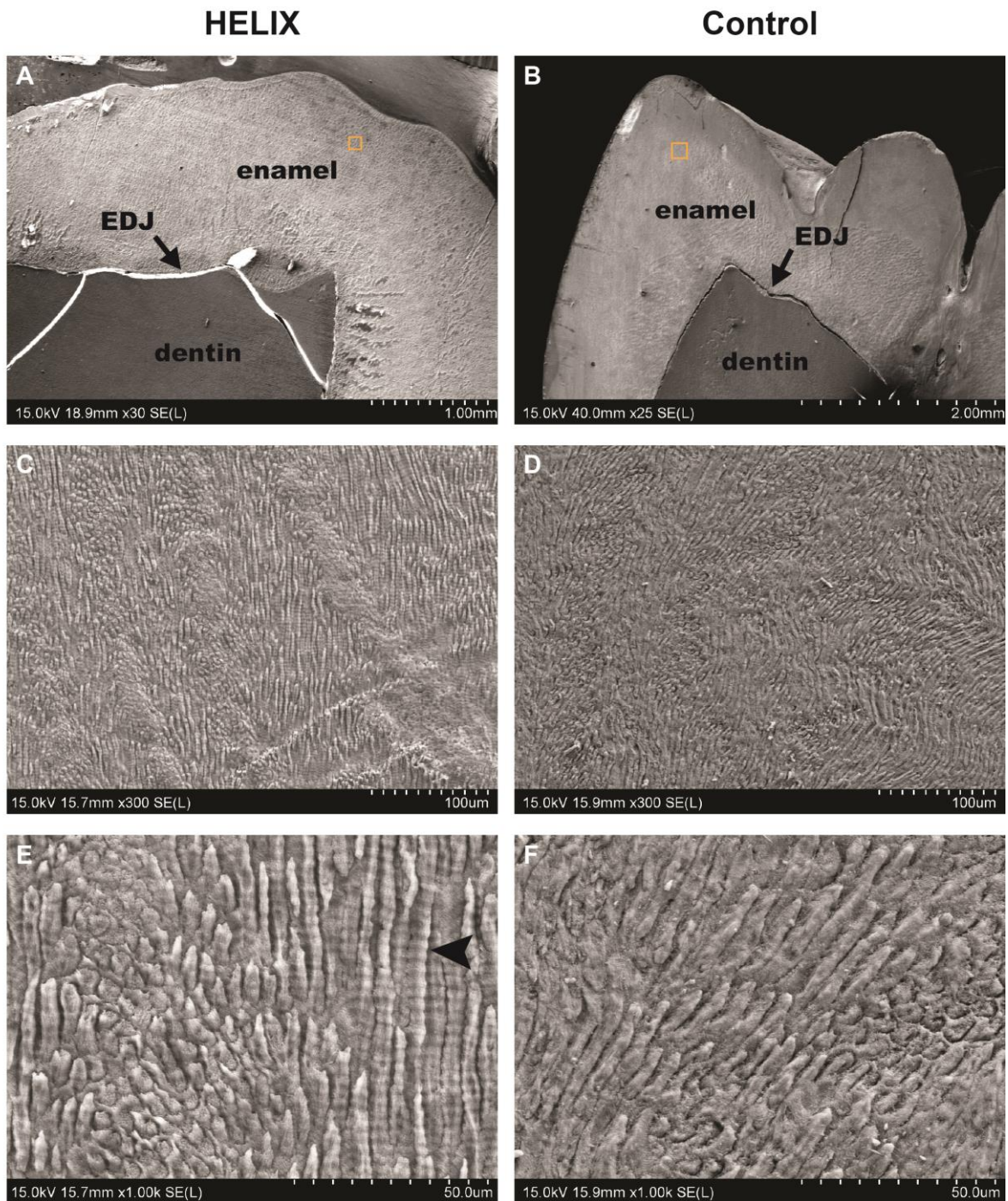
Source : Auteur, 2022.

3.3 Microstructure de l'émail de la dent HELIX

Nous avons ensuite cherché à déterminer si les caractéristiques microstructurales de l'émail étaient affectées par le syndrome HELIX. L'observation par MEB a montré que l'émail était correctement organisé dans le cas de la dent HELIX par rapport au contrôle (Figure 13 A et B). Les prismes d'émail étaient parfaitement formés et alignés dans les deux cas (Figure 13 C à F). De manière assez remarquable, les stries transversales, qui correspondent à la variation circadienne de l'apposition de l'émail, (46) étaient particulièrement bien distinguées dans les prismes de la dent HELIX (Figure 13 E, tête de flèche noire), ce qui peut suggérer une différence potentielle dans le contenu de l'émail dans HELIX. Cependant, nous ne pouvons pas exclure que cette variation puisse résulter du traitement de l'échantillon, même si les deux dents ont été préparées par le même opérateur, au même moment et dans les mêmes conditions (65).

Figure 13 : Caractéristiques de l'émail HELIX par MEB

(A-F) Aspects représentatifs de la microstructure de l'émail HELIX et de l'émail témoin imagés par MEB à différents grossissements (A, B : $\times 25-30$, C, D : $\times 300$, E, F : $\times 1000$, respectivement). Il n'y a pas de différence entre l'émail HELIX et l'émail témoin. Notez que dans l'émail HELIX, les stries transversales sont particulièrement bien distinguées (E, pointe de flèche noire). *enamel* : émail, *dentin* : dentine, EDJ : jonction émail-dentine.



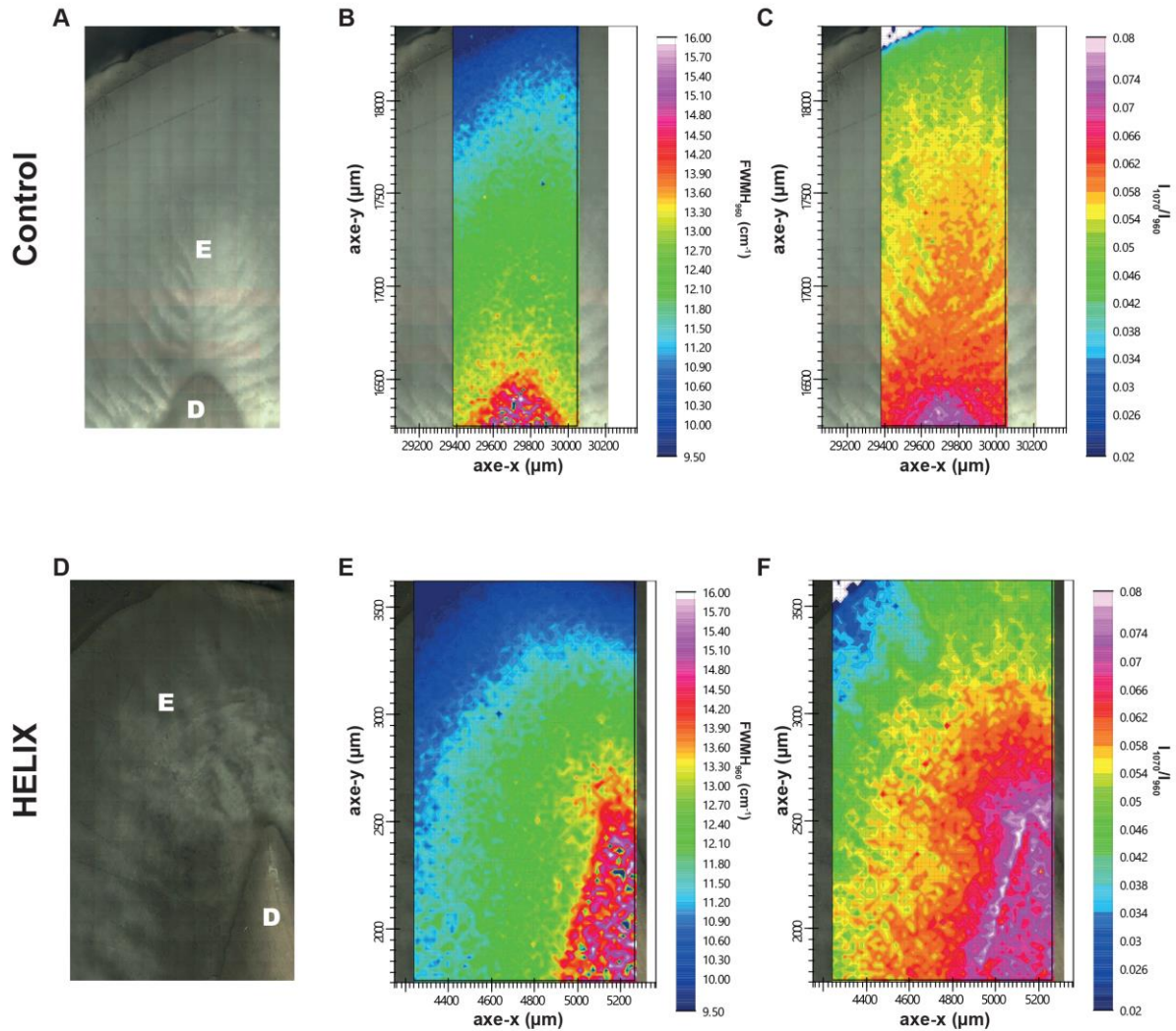
Source : Auteur, 2022.

3.4 Cristallinité et carbonatation de la phase minérale

Nous avons ensuite exploré la composition et la structure des phases minérales des tissus dentaires HELIX par microscopie Raman. Les échantillons d'émail de la dent témoin et de la dent HELIX ont été analysés en enregistrant des cartographies Raman basées sur la FWHM de la bande $\nu(\text{PO}_4^{3-})$ (Figure 14), indiquant la cristallinité du composant apatite de la dent, et sur le rapport entre la zone intégrée des bandes de vibration $\nu(\text{CO}_3^{2-})$ et $\nu(\text{PO}_4^{3-})$, indiquant le taux de carbonatation de ce composant apatite (66). La zone sélectionnée s'étendait de la couche d'émail externe au cœur de la dentine (Figure 14 A et D). Pour l'échantillon témoin, les plus grandes FWHM_{960} ont été trouvées dans la zone de la dentine et, après une couche intermédiaire, la partie de l'émail était caractérisée par une valeur FWHM_{960} assez homogène et plus petite (Figure 14 B). De même, le rapport I_{1070}/I_{960} diminuait de la dentine à l'émail mais la zone présentant des valeurs intermédiaires s'étendait de manière beaucoup plus importante dans ce dernier tissu (Figure 14 C). Ces résultats sont cohérents avec le fait que la phase minérale de l'émail est une hydroxyapatite hautement cristalline avec un faible taux de carbonatation, alors que la phase minérale de la dentine a un degré de substitution plus élevé et une cristallinité plus faible (67). Aucune différence significative dans l'évolution des deux valeurs FWHM_{960} (Figure 14 E) et I_{1070}/I_{960} (Figure 14 F) de la dentine à l'émail n'a pu être mise en évidence dans l'échantillon HELIX par rapport au contrôle, ce qui suggère l'absence de modification de la cristallinité et du degré de carbonatation de la phase minérale dans ces deux tissus.

Figure 14 : Caractérisation de la dent HELIX par microspectroscopie Raman

(A,D) Microscopie optique de la section imagée des échantillons témoins et HELIX. (B,E) Cartographie Raman des échantillons témoins et HELIX basée sur la largeur totale à mi-hauteur (FWHM) de la bande de vibration $\nu(\text{PO}_4^{3-})$ à 960 cm^{-1} . (C,F) Cartographie Raman des échantillons témoins et HELIX basée sur le rapport entre la surface intégrée des bandes de vibration $\nu(\text{CO}_3^{2-})$ et $\nu(\text{PO}_4^{3-})$ à 1070 et 960 cm^{-1} , respectivement. Abréviations : D, dentine ; E, émail.



Source : Auteur, 2022.

3.5 Analyses chimiques

Une étude de la composition chimique de l'émail a été réalisée pour déterminer si elle était altérée, ce qui indiquerait une maturation anormale et contribuerait à expliquer l'usure rapide de l'émail observée chez tous les patients atteints du syndrome HELIX (34). L'analyse EDX a révélé que le rapport Ca/P était légèrement inférieur dans l'émail HELIX, en particulier dans la couche externe, par rapport à l'émail témoin (couche externe de l'émail : 1,54 contre 1,58 ; couche interne : 1,59 contre 1,60, respectivement), ce qui est principalement dû à une teneur en calcium légèrement inférieure (Tableau 2 ; Annexes 2 et 3). Comme la plupart des patients atteints du syndrome HELIX présentent une hypermagnésémie, (32,34) le rapport (Ca + Mg)/P a également été calculé, révélant un schéma similaire dans les deux échantillons d'émail (tableau 2). Aucune différence n'a été trouvée pour la dentine, que ce soit par MEB (Annexe 4) ou par EDX (données non présentées).

Ensuite, une analyse multi-élémentaire des échantillons a été réalisée à l'aide du SXRF afin d'étudier d'autres modifications possibles de la composition chimique de l'émail induites par le syndrome HELIX (Figure 15).

Tableau 2 : Quantification atomique des éléments (en At (%)) chez HELIX et le témoin dans les couches internes et externes de l'émail par analyses aux rayons X à dispersion d'énergie (EDX)

| | | HELIX | | | Contrôle | | |
|----------------|---------------------|-------|------|-----|----------|------|-----|
| Couche externe | Élément | P | Ca | Mg | P | Ca | Mg |
| | Max | 13.7 | 21.0 | 0.2 | 13.7 | 21.6 | 0.2 |
| | Min | 13.5 | 20.9 | 0.1 | 13.5 | 21.4 | 0.1 |
| | Moyenne | 13.6 | 21.0 | 0.2 | 13.6 | 21.5 | 0.2 |
| | Déviati on standard | 0.1 | 0.1 | 0.0 | 0.1 | 0.1 | 0.0 |
| | Ca/P | 1.54 | | | 1.58 | | |
| | (Ca+Mg)/P | 1.55 | | | 1.59 | | |

| | | HELIX | | | Contrôle | | |
|----------------|---------------------|-------|------|-----|----------|------|-----|
| Couche interne | Élément | P | Ca | Mg | P | Ca | Mg |
| | Max | 13.6 | 21.4 | 0.5 | 14.0 | 22.4 | 0.4 |
| | Min | 12.7 | 20.2 | 0.4 | 13.8 | 22.1 | 0.4 |
| | Moyenne | 13.0 | 20.7 | 0.4 | 13.9 | 22.2 | 0.4 |
| | Déviati on standard | 0.5 | 0.7 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.0 |
| | Ca/P | 1.59 | | | 1.60 | | |
| | (Ca+Mg)/P | 1.62 | | | 1.62 | | |

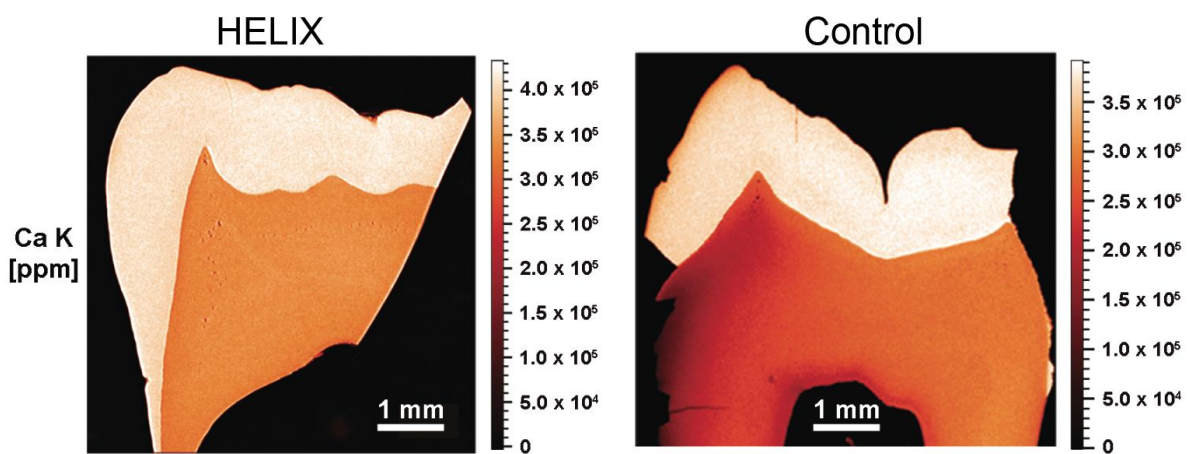
Source : Auteur, 2022.

3.5.1 Calcium

Dans la dent HELIX, les niveaux SXRF de calcium dans l'émail et la dentine sont uniformes et atteignent en moyenne $4,0 \cdot 10^5$ ppm et $3,4 \cdot 10^5$ ppm, respectivement (Figure 15, panneau gauche). Dans la dent témoin (troisième molaire permanente), les niveaux de calcium varient entre $3,6 \cdot 10^5$ et $3,85 \cdot 10^5$ ppm dans l'émail, et entre $2,0 \cdot 10^5$ et $2,8 \cdot 10^5$ ppm dans la dentine (Figure 15, panneau droit). Ces valeurs de Ca sont compatibles avec les valeurs publiées de l'émail et de la dentine imagées par SXRF, allant de $3,8 \cdot 10^5$ à $5,0 \cdot 10^5$ et de $3,1 \cdot 10^5$ à $3,7 \cdot 10^5$ ppm, respectivement (68–71). Les présents résultats montrent que la déficience en CLDN10 n'a pas modifié de manière significative le processus de minéralisation des tissus dentaires.

Figure 15 : Caractérisation SXRF de la molaire HELIX (Ca)

Caractérisation SXRF de la dent HELIX (à gauche) et de la dent témoin (à droite) pour la cartographie de Ca (aperçus SXRF à $10 \mu\text{m}$). Dans les couronnes molaires HELIX et témoin, Ca a une distribution similaire avec des plages de concentration comparables (en ppm).



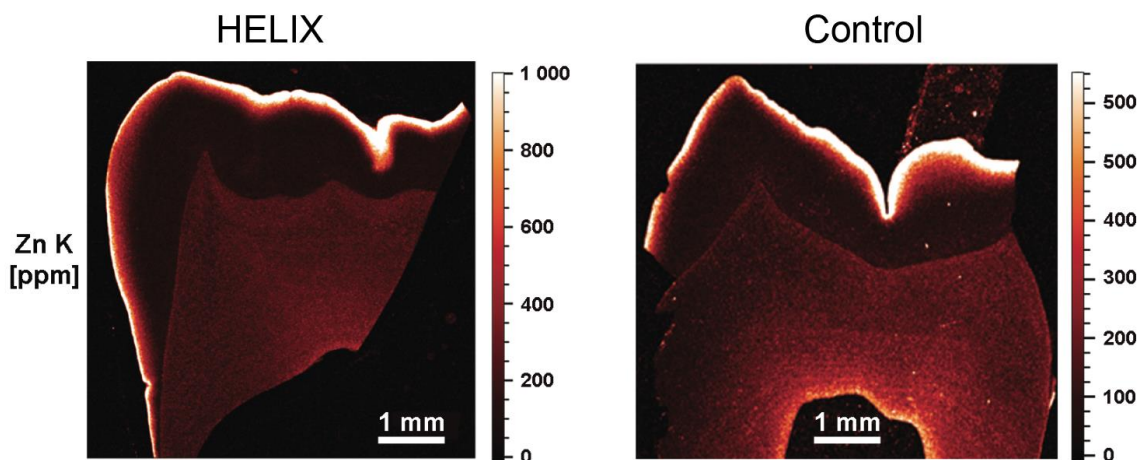
Source : Auteur, 2022.

3.5.2 Zinc

Les niveaux de zinc (Zn) imagés par SXRF dans l'émail interne sont relativement faibles. Ils augmentent selon un gradient abrupt vers l'OES, où les niveaux de Zn sont fortement enrichis. Dans la dent HELIX, l'OES au niveau de la face occlusale atteint $1,8 \cdot 10^3$ ppm, tandis qu'au niveau de la surface latérale de l'émail, il culmine à $1,2 \cdot 10^3$ ppm (Figure 16, panneau gauche). L'émail moyen et interne est à environ 100 ppm, tandis que la dentine est à environ 220 ppm. Dans l'échantillon témoin, bien que l'émail cuspidien ne soit pas entièrement conservé, les valeurs de Zn à l'OES culminent à environ $1,0 \cdot 10^3$ ppm sur la face occlusale des cuspides, tandis qu'elles sont légèrement inférieures sur la surface de l'émail latéral (600-800 ppm). Les zones internes et moyennes de l'émail contiennent environ 60 à 100 ppm de Zn, tandis que la dentine est à environ 200 ppm. L'enrichissement en zinc au niveau de l'OES a été précédemment décrit comme une caractéristique normale, potentiellement liée aux processus de minéralisation et de maturation de l'émail (68,72,73). Les valeurs SXRF des dents de lait humaines montrent des valeurs maximales allant de 400 à 500 ppm au niveau de l'OES (68). Rautray et al. (74) ont rapporté des valeurs de Zn sur de l'émail humain sain donnant une moyenne de 172,2 ppm, ce qui se situe dans le même ordre de grandeur que les valeurs moyennes et internes actuelles mesurées dans HELIX et le contrôle.

Figure 16 : Caractérisation SXRF de la molaire HELIX (Zn)

Caractérisation SXRF de la dent HELIX (à gauche) et de la dent témoin (à droite) pour la cartographie de Zn (aperçus SXRF à $10 \mu\text{m}$). Dans les couronnes molaires HELIX et témoin, Zn a une distribution similaire avec des plages de concentration comparables (en ppm).



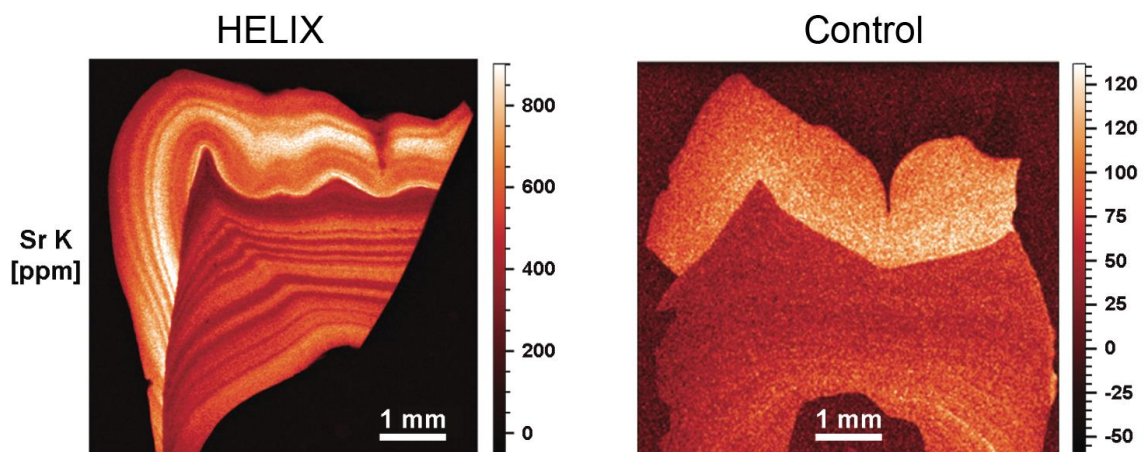
Source : Auteur, 2022.

3.5.3 Strontium

Dans la dent contrôle, la distribution du strontium (Sr) (Figure 17, panneau droit) a suivi les observations publiées précédemment (68). En moyenne, les niveaux de Sr dans l'émail variaient de 50 à 130 ppm (émail externe et interne, respectivement), ce qui est compatible avec une moyenne de 174,76 ppm calculée à partir des valeurs fournies chez Rautray et al. (74) Dans la dentine, les valeurs de Sr dans la dent témoin variaient entre 40 et 80 ppm. Dans l'échantillon HELIX (Figure 17, panneau gauche), un fort schéma de variation des concentrations de Sr était visible en utilisant le SXRF à la fois dans l'émail et la dentine, depuis les premiers stades de formation de la troisième molaire jusqu'à l'achèvement de la couronne et au-delà dans la dentine radiculaire.

Figure 17 : Caractérisation SXRF de la molaire HELIX (Sr)

Caractérisation SXRF de la dent HELIX (à gauche) et de la dent témoin (à droite) pour la cartographie Sr (aperçus SXRF à 10 µm). La couronne HELIX montre des niveaux de Sr qui sont six fois plus élevés que la couronne contrôle, avec des motifs marqués d'enrichissement et d'appauvrissement alternés en Sr dans l'émail et la dentine.

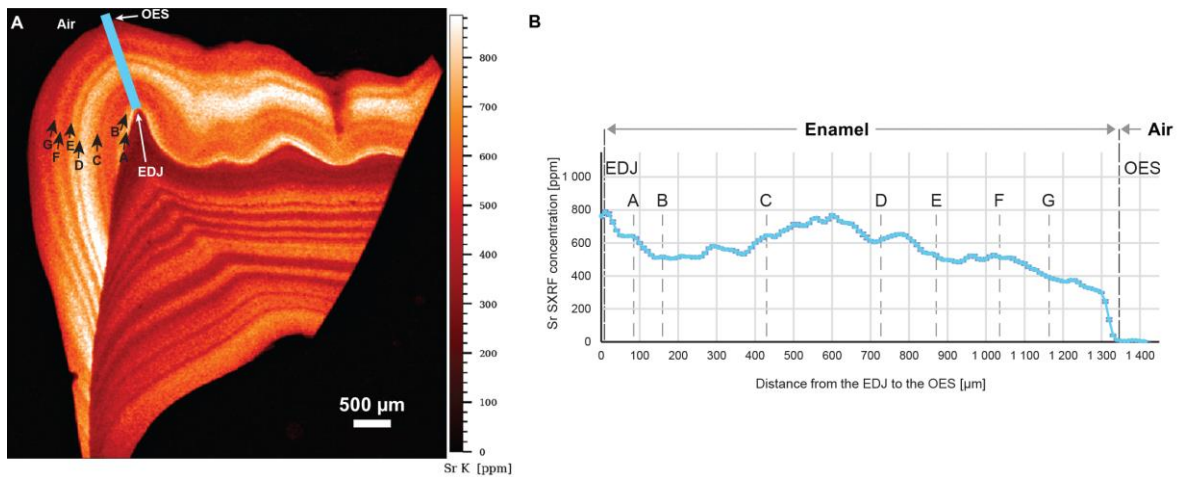


Source : Auteur, 2022.

Une alternance de fortes diminutions et d'enrichissements s'est produite avec une fréquence élevée. Les deux acquisitions HR SXRf à 1,5 μm ont confirmé que ces marques de Sr accentuées se produisaient simultanément dans l'émail et la dentine (Annexe 5). Comme les changements abrupts de la teneur en Sr suivaient la direction de la strie de Retzius (Figure 18 A), des recherches supplémentaires ont été effectuées pour déterminer si ces événements se produisent à des périodes spécifiques pendant la formation de la couronne, sans surimpression par des ingestions ultérieures de Sr (75). Dans les 1330 μm de l'émail cuspidien, ces multiples épisodes de variation de Sr ont été calculés et durent chacun de 33 à 121 jours, (Figure 18 B et Tableau 3). Au sein de l'émail, ces bandes de variations de Sr ont atteint un pic à 860 ppm (mesure directe dans HDIP v-1.3.3.1073, en dehors du transect bleu de la Figure 18 A) au milieu de l'émail cuspidien, tandis que les appauvrissements les plus forts descendaient jusqu'à approximativement 300-350 ppm, notamment au niveau de l'OES (Figure 17, panneau gauche). Dans la dentine, les valeurs étaient plus faibles avec des pics à 600-650 ppm et un creux à 280-340 ppm (Figure 17, panneau gauche). La variation de la concentration en Sr ainsi que le moment de leur apparition en jours ne suggèrent pas que ces changements suivent un schéma régulier et périodique. Ces résultats nous ont incités à interroger la patiente HELIX sur une exposition particulière au strontium à n'importe quel moment de sa croissance, y compris la période correspondant à la formation de la troisième molaire. Elle n'a pas signalé avoir suivi un régime alimentaire spécifique ou utilisé un dentifrice spécifique enrichi en ions de strontium pour prévenir l'hypersensibilité dentaire.

Figure 18 : Variations de la teneur en Sr dans l'émail cuspidien de la dent HELIX

(A) Carte Sr SXRF de la dent HELIX montrant la variation de la teneur en Sr dans l'émail et la dentine. Des points de données ont été collectés le long du transect bleu pour tracer les concentrations en Sr en fonction de la distance (voir B) entre la jonction émail-dentine (EDJ) et la surface externe de l'émail (OES). Des variations marquées de Sr suivant la direction des lignes de croissance de l'émail ont été attribuées aux lettres (de A à H ; flèches noires). Il n'y a pas de périodicité temporelle claire dans l'apparition de ces variations de Sr.



Source : Auteur, 2022.

Tableau 3 : Taux de sécrétion quotidien (DSR) de la jonction émail-dentine (EDJ) à la surface externe de l'émail (OES)

| Points d' intérêt | EDJ | A | B | C | D | E | F | G | H (OES) |
|--|-----|----|-----|-----|-----|-----|------|------|---------|
| Distance cumulée (en µm) | 0 | 71 | 158 | 418 | 728 | 878 | 1033 | 1167 | 1336 |
| Temps de formation cumulée de chaque variation marquée de Sr | 0 | 37 | 103 | 224 | 372 | 431 | 480 | 530 | 564 |

Source : Auteur, 2022.

3.5.4 Autres éléments

Les autres éléments présentant des raies $K\alpha$ dans la gamme d'énergie détectable, qui incluent Cuivre (Cu), Fer (Fe), Manganèse (Mn), Titane (Ti), Chrome (Cr), Soufre (S), Chlore (Cl), Argon (Ar) et Rubidium (Rb), n'ont pas donné lieu à des différences significatives détectables entre la dent HELIX et la dent témoin en termes de distribution élémentaire ou d'abondance (Annexe 6).

4 : Discussion

Le syndrome HELIX est une maladie très rare (OMIM 617671 ; prévalence : <1/1 000 000), qui se manifeste par des anomalies de l'homéostasie ionique rénale (entraînant une hypermagnésémie, une hypocalciurie et une hypokaliémie), de l'intégrité de l'épiderme et de l'homéostasie des glandes ectodermiques, y compris des glandes salivaires. Il a été précédemment rapporté que tous les patients atteints du syndrome HELIX présentaient une usure précoce et sévère de l'émail (34), compromettant leur santé orale et notamment leur capacité de mastication. Notre étude est basée sur l'observation d'une troisième molaire d'un patient atteint du syndrome HELIX, prélevée avant l'éruption complète de la dent et, par conséquent, avant que la couronne ne soit pleinement exposée aux défis de l'environnement de la cavité buccale, (76–78) et montre que l'émail était correctement formé et présentait une maturation normale. Le schéma général de l'amélogenèse semble correspondre à celui décrit pour les molaires permanentes humaines normales (62). Plus précisément, l'augmentation du gradient de DSR de l'EDJ à la surface dans l'émail cuspidien correspond à celui des troisièmes molaires permanentes normales. Le temps nécessaire à la formation de l'émail latéral se situe également dans les fourchettes rapportées pour les troisièmes molaires permanentes humaines, (50) et le temps total de formation de l'émail se situe dans les fourchettes rapportées dans la littérature (50,60,79,80). Il semble donc peu probable que le syndrome HELIX ait un quelconque impact sur l'amélogenèse. La structure de l'émail des échantillons HELIX et des échantillons témoins a été étudiée à l'échelle microscopique par MEB et par spectroscopie Raman. Bien que ces techniques aient déjà permis de caractériser clairement d'autres troubles dentaires, comme l'amélogenèse imparfaite (81,82) ou l'hypophosphatémie liée à l'X (83), aucune différence significative n'a pu être trouvée dans cette étude entre les molaires HELIX et les molaires témoins.

De même, la détermination par EDX de la teneur en Ca, P et Mg a conduit à des valeurs similaires pour les deux échantillons. Cependant, cette technique présente une limite de détection assez élevée (approximativement 1000 ppm), notamment pour les éléments légers. En revanche, la SXRF permet une quantification inférieure à 1 ppm et a déjà été appliquée pour l'analyse d'éléments à l'état de traces dans de nombreux tissus (84), y compris les dents (68,75). Ici, parmi les nombreux éléments collectés, le Sr s'est distingué comme le seul élément étudié montrant une nette différence de quantité et de distribution entre les deux échantillons. Non seulement sa concentration locale pouvait être six fois plus élevée dans l'émail de la dent HELIX par rapport à la dent témoin, mais il formait également des zones bien définies d'enrichissement et d'appauvrissement parallèles aux stries de Retzius,

attestant que ce signal chimique a été intégré aux tissus dentaires au cours du développement. Cependant, contrairement à ces marques périodiques de croissance, aucune périodicité n'a pu être trouvée dans l'apparition de ces bandes de Sr, suggérant que l'incorporation de Sr n'est pas liée à une étape spécifique et régulière de l'amélogenèse. En fait, nous pouvons également noter que les bandes de Sr sont également présentes de façon synchrone dans la dentine, suggérant que la présence de Sr est liée à un trouble global de l'homéostasie minérale plutôt qu'à une perturbation locale de l'amélogenèse. Les tissus dentaires minéralisés contiennent des oligo-éléments d'origine alimentaire et environnementale (85). Parmi eux, les ions strontium sont des cations divalents et peuvent donc facilement remplacer le Ca dans la structure de l'hydroxyapatite ou interagir avec la phase minérale (86). Il a été montré précédemment que la substitution du Ca par le Sr dans l'hydroxyapatite modifie sa solubilité (87). Cependant, cela a été démontré pour une quantité de Sr supérieure à 1% (87), ce qui n'est pas le cas dans l'analyse de la dent étudiée dans notre étude, où la substitution semble se produire à 0,1 %. Par conséquent, bien que nous ne puissions pas totalement exclure une modification de la solubilité de l'apatite avec un taux de substitution aussi faible, elle devrait être très mineure. *In vivo*, il a été constaté que, par traitement oral de doses croissantes de Sr chez les rats, il était possible d'obtenir un rapport molaire $Sr/(Sr + Ca) > 0,01$ dans le fémur sans altérer la structure osseuse (88). A titre de comparaison, le rapport molaire $Sr/(Sr + Ca)$ était ici d'approximativement 0,002, ce qui pourrait expliquer l'absence de différence nette dans la structure de l'émail entre la dent HELIX et la dent témoin dans cette étude. Par conséquent, il n'a pas été possible de détecter des variations spatiales de la quantité de Ca liées au Sr dans la carte SXRF du Ca. Une explication possible de cette adsorption élevée et aléatoire de Sr au sein de l'émail et de la dentine pourrait être un excès de consommation de strontium dans le régime alimentaire de la patiente ou par l'ingestion de dentifrice (89). Cependant, notre patiente HELIX, qui est née et a grandi en France, n'a signalé ni un régime alimentaire spécifique ni l'utilisation, à aucun moment de sa croissance, y compris la période correspondant à la formation de la troisième molaire, d'un dentifrice spécifique enrichi en ions strontium pour prévenir l'hypersensibilité dentaire.

La clairance rénale du Sr peut être établie à 2-3 ml/min chez les sujets normaux. C'est beaucoup plus faible que le débit de filtration glomérulaire normal (DFG), ce qui indique que le Sr excrété dans l'urine n'est qu'une fraction minuscule du Sr filtré : par conséquent, la majeure partie du Sr filtré au niveau du glomérule est réabsorbée le long du tubule rénal, comme le sont le Ca et le Mg (90,91). Les patients atteints du syndrome HELIX ont une excrétion urinaire de calcium et de magnésium très faible, malgré un taux sérique normal de Ca et un taux sérique élevé de Mg, ce qui indique une réabsorption tubulaire accrue de Ca et de Mg (32). Que le Sr soit également réabsorbé de manière excessive à travers l'épithélium tubulaire rénal est une hypothèse solide, bien que non documentée. Par conséquent, les

patients atteints du syndrome HELIX peuvent avoir une concentration sérique de Sr supérieure à la normale, d'autant plus que le taux sérique de Sr augmente lorsque le DFG diminue (90). Ainsi, un taux sérique de Sr supérieur peut entraîner un dépôt plus important de Sr dans les os et les dents. De futures études sont nécessaires pour déterminer si des niveaux anormaux de Sr sont également identifiés dans les os des patients atteints du syndrome HELIX et, plus largement, comment le dysfonctionnement rénal associé au syndrome HELIX a un impact sur les concentrations de Sr dans le plasma et l'urine. L'une des principales fonctions de l'organe de l'émail pendant la phase de maturation est de transporter de très grandes quantités d'ions minéraux, en particulier le calcium et le phosphate, des vaisseaux sanguins vers la matrice de l'émail. Ce processus critique est finement contrôlé par un grand nombre de canaux ioniques, de transporteurs et d'échangeurs (10,11,92,93). Dans le syndrome HELIX, l'une des conséquences du dysfonctionnement rénal est l'hypocalciurie (32). Le rôle précis du Mg dans l'amélogénèse n'est pas encore totalement compris, mais l'expression du transporteur de Mg CNNM4 dans les membranes cellulaires des améloblastes aux stades de transition et de maturation soutient que le Mg pourrait être retiré de la matrice de l'émail pour promouvoir la minéralisation (94). Il a en effet été régulièrement rapporté que la teneur en Mg de l'émail est inversement corrélée à l'étendue de la minéralisation (95,96). Ici, la teneur en magnésium s'est avérée normale dans l'émail de HELIX, ce qui suggère que l'hypermagnésémie trouvée chez les patients HELIX (32) pourrait ne pas avoir de conséquence directe sur la minéralisation de l'émail. L'hypokaliémie est une caractéristique fréquente des patients HELIX (32). Il a été démontré que les ions potassium sont importants pour la formation normale de l'émail, car plusieurs échangeurs d'ions ou cotransporteurs sont K⁺ dépendants (10,11,92,97). Par exemple, il a été démontré que l'altération de l'isoforme 4 de l'échangeur Na⁺/Ca²⁺ dépendant du K⁺ (SLC24A4) dans les améloblastes de maturation de la souris par un excès de fluorure dans l'eau potable entrave l'amélogénèse (97). De plus, les patients atteints de syndromes associés à l'hypokaliémie, comme le syndrome de Bartter, ont été signalés comme présentant une amélogénèse imparfaite (98,99). Il est donc probable que l'hypokaliémie mesurée chez les patients atteints du syndrome HELIX puisse contribuer à une plus grande fragilité de l'émail.

Conclusion

Nos données montrent que la formation de l'émail n'est pas significativement altérée par le déficit en *CLDN10*, désignant plutôt la xérostomie comme le principal responsable de l'usure de l'émail constatée chez les patients HELIX. Cependant, les concentrations anormales de Sr mesurées dans les tissus minéralisés dentaires suggèrent que le contenu minéral des dents pourrait refléter des épisodes répétés d'aggravation du dysfonctionnement rénal. On ne peut nier que de tels changements dans les concentrations de Sr, bien que très faibles, peuvent modifier la solubilité de l'émail et de la dentine. Ces événements soulignent la nécessité d'examiner davantage de dents des patients HELIX. La concentration sérique de strontium devrait également être surveillée. Quoi qu'il en soit, l'étude d'un modèle murin du syndrome HELIX pourrait fournir de nouvelles informations sur le rôle direct de la claudine-10 dans l'amélogénèse.

Bibliographie

1. Thesleff I. Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. *J Cell Sci.* 2003;116(Pt 9):1647-8.
2. Catón J, Tucker AS. Current knowledge of tooth development : patterning and mineralization of the murine dentition. *J Anat.* 2009;214(4):502-15.
3. Balic A, Thesleff I. Tissue interactions regulating tooth development and renewal. *Curr Top Dev Biol.* 2015;115:157-86.
4. Kovacs CS, Chaussain C, Osdoby P, Brandi ML, Clarke B, Thakker RV. The role of biomineralization in disorders of skeletal development and tooth formation. *Nat Rev Endocrinol.* 2021;17(6):336-49.
5. Hu JCC, Chun YHP, Al Hazzazi T, Simmer JP. Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs.* 2007;186(1):78-85.
6. Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. Dental enamel formation and implications for oral health and disease. *Physiol Rev.* 2017;97(3):939-93.
7. Moradian-Oldak J, George A. Biomineralization of enamel and dentin mediated by matrix proteins. *J Dent Res.* 2021;100(10):1020-9.
8. Habelitz S, Bai Y. Mechanisms of enamel mineralization guided by amelogenin nanoribbons. *J Dent Res.* 2021;100(13):1434-43.
9. Smith CE. Cellular and chemical events during enamel maturation. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1998;9(2):128-61.
10. Bronckers ALJJ. Ion transport by ameloblasts during amelogenesis. *J Dent Res.* 2017;96(3):243-53.
11. Lacruz RS, Smith CE, Kurtz I, Hubbard MJ, Paine ML. New paradigms on the transport functions of maturation-stage ameloblasts. *J Dent Res.* 2013;92(2):122-9.
12. Lacruz RS, Smith CE, Moffatt P, Chang EH, Bromage TG, Bringas P, et al. Requirements for ion and solute transport, and pH regulation during enamel maturation. *J Cell Physiol.* 2012;227(4):1776-85.
13. Bartlett JD, Smith CE. Modulation of cell-cell junctional complexes by matrix metalloproteinases. *J Dent Res.* 2013;92(1):10-7.
14. Günzel D, Yu ASL. Claudins and the modulation of tight junction permeability. *Physiol Rev.* 2013;93(2):525-69.
15. Hata M, Kawamoto T, Kawai M, Yamamoto T. Differential expression patterns of the tight junction-associated proteins occludin and claudins in secretory and mature ameloblasts in mouse incisor. *Med Mol Morphol.* 2010;43(2):102-6.
16. Bardet C, Courson F, Wu Y, Khaddam M, Salmon B, Ribes S, et al. Claudin-16 deficiency impairs tight junction function in ameloblasts, leading to abnormal enamel formation. *J Bone Miner Res.* 2016;31(3):498-513.
17. Bardet C, Ribes S, Wu Y, Diallo MT, Salmon B, Breiderhoff T, et al. Claudin loss-of-function disrupts tight junctions and impairs amelogenesis. *Front Physiol.* 2017;8.
18. Yamaguti PM, Neves F de AR, Hotton D, Bardet C, Dure-Molla M de L, Castro LC, et al. Amelogenesis imperfecta in familial hypomagnesaemia and hypercalciuria with nephrocalcinosis caused by CLDN19 gene mutations. *J Med Genet.* 2017;54(1):26-37.
19. Wang X, Chiba Y, Jia L, Yoshizaki K, Saito K, Yamada A, et al. Expression patterns of claudin family members during tooth development and the role of claudin-10 (cldn10) in cytodifferentiation of stratum intermedium. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:595593.
20. Van Itallie CM, Anderson JM. Claudins and epithelial paracellular transport. *Annu Rev Physiol.* 2006;68:403-29.

21. Prot-Bertoye C, Griveau C, Skjødt K, Cheval L, Brideau G, Lievre L, et al. Differential localization patterns of claudin 10, 16, and 19 in human, mouse, and rat renal tubular epithelia. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2021;321(2):F207-24.
22. Milatz S, Breiderhoff T. One gene, two paracellular ion channels-claudin-10 in the kidney. *Pflugers Arch.* 2017;469(1):115-21.
23. Breiderhoff T, Himmerkus N, Stuiver M, Mutig K, Will C, Meij IC, et al. Deletion of claudin-10 (Cldn10) in the thick ascending limb impairs paracellular sodium permeability and leads to hypermagnesemia and nephrocalcinosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(35):14241-6.
24. Günzel D, Stuiver M, Kausalya PJ, Haisch L, Krug SM, Rosenthal R, et al. Claudin-10 exists in six alternatively spliced isoforms that exhibit distinct localization and function. *J Cell Sci.* 2009;122(Pt 10):1507-17.
25. Inai T, Sengoku A, Guan X, Hirose E, Iida H, Shibata Y. Heterogeneity in expression and subcellular localization of tight junction proteins, claudin-10 and -15, examined by RT-PCR and immunofluorescence microscopy. *Arch Histol Cytol.* 2005;68(5):349-60.
26. Smith CEL, Poulter JA, Antanaviciute A, Kirkham J, Brookes SJ, Inglehearn CF, et al. Amelogenesis imperfecta : genes, proteins, and pathways. *Front Physiol.* 2017;8.
27. Chen CF, Hu JC, Bresciani E, Peters MC, Estrella MR. Treatment considerations for patient with amelogenesis imperfecta : a review. *Braz Dent Sci.* 2013;16(4):7-18.
28. Dashash M, Yeung CA, Jamous I, Blinkhorn A. Interventions for the restorative care of amelogenesis imperfecta in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;(6):CD007157.
29. Friedlander L, Berdal A, Boizeau P, Licht BA, Manière MC, Picard A, et al. Oral health related quality of life of children and adolescents affected by rare orofacial diseases : a questionnaire-based cohort study. *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14(1):124.
30. de La Dure-Molla M, Fournier BP, Manzanares MC, Acevedo AC, Hennekam RC, Friedlander L, et al. Elements of morphology : standard terminology for the teeth and classifying genetic dental disorders. *Am J Med Genet A.* 2019;179(10):1913-81.
31. Crawford PJ, Aldred M, Bloch-Zupan A. Amelogenesis imperfecta. *Orphanet J Rare Dis.* 2007;2(1):17.
32. Milatz S. A novel claudinopathy based on claudin-10 mutations. *Int J Mol Sci.* 2019;20(21):E5396.
33. Klar J, Piontek J, Milatz S, Tariq M, Jameel M, Breiderhoff T, et al. Altered paracellular cation permeability due to a rare CLDN10B variant causes anhidrosis and kidney damage. *PLOS Genet.* 2017;13(7):e1006897.
34. Hadj-Rabia S, Brideau G, Al-Sarraj Y, Maroun RC, Figueres ML, Leclerc-Mercier S, et al. Multiplex epithelium dysfunction due to CLDN10 mutation : the HELIX syndrome. *Genet Med.* 2018;20(2):190-201.
35. Vargas-Poussou R. Pathophysiological aspects of the thick ascending limb and novel genetic defects : HELIX syndrome and transient antenatal Bartter syndrome. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2022;37(2):239-52.
36. Alzahrani AS, Hussein M, Alswailem M, Mouna A, Albalawi L, Moria Y, et al. A novel claudin-10 mutation with a unique mechanism in two unrelated families with HELIX syndrome. *Kidney Int.* 2021;100(2):415-29.
37. Bongers EMHF, Shelton LM, Milatz S, Verkaart S, Bech AP, Schoots J, et al. A novel hypokalemic-alkalotic salt-losing tubulopathy in patients with cldn10 mutations. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(10):3118-28.
38. Nanci A. Ten Cate's oral histology - 8th Edition. Saint Louis : Elsevier, 2013. XIII-379 p.
39. Lacruz RS, Nanci A, Kurtz I, Wright JT, Paine ML. Regulation of pH during amelogenesis. *Calcif Tissue Int.* 2010;86(2):91-103.
40. Lu Y, Papagerakis P, Yamakoshi Y, Hu JCC, Bartlett JD, Simmer JP. Functions of KLK4 and MMP-20 in dental enamel formation. *Biol Chem.* 2008;389(6):695-700.

41. Farquhar MG, Palade GE. Junctional complexes in various epithelia. *J Cell Biol.* 1963;17:375-412.
42. Barmeyer C, Fromm M, Schulzke JD. Active and passive involvement of claudins in the pathophysiology of intestinal inflammatory diseases. *Pflugers Arch.* 2017;469(1):15-26.
43. Hou J. The kidney tight junction (Review). *Int J Mol Med.* 2014;34(6):1451-7.
44. Bäsler K, Brandner JM. Tight junctions in skin inflammation. *Pflugers Arch.* 2017;469(1):3-14.
45. Ohazama A, Sharpe PT. Expression of claudins in murine tooth development. *Dev Dyn.* 2007;236(1):290-4.
46. Lacruz RS, Hacia JG, Bromage TG, Boyde A, Lei Y, Xu Y, et al. The circadian clock modulates enamel development. *J Biol Rhythms.* 2012;27(3):237-45.
47. Ramirez Rozzi F. Introduction : enamel structure and development and its application in hominid evolution and taxonomy. *J Hum Evol.* 1998;35(4):327-30.
48. Dean MC. A comparative study of cross striation spacings in cuspal enamel and of four methods of estimating the time taken to grow molar cuspal enamel in Pan, Pongo and Homo. *J Hum Evol.* 1998;35(4-5):449-62.
49. Beynon AD, Dean MC, Leakey MG, Reid DJ, Walker A. Comparative dental development and microstructure of Proconsultheeth from Rusinga Island, Kenya. *J Hum Evol.* 1998;35(2):163-209.
50. Reid DJ, Dean MC. Variation in modern human enamel formation times. *J Hum Evol.* 2006;50(3):329-46.
51. Timchenko PE, Timchenko EV, Pisareva EV, Vlasov MY, Volova LT, Frolov OO, et al. Experimental studies of hydroxyapatite by Raman spectroscopy. *J Opt Technol.* 2018;85(3):130-5.
52. Boesenberg U, Ryan CG, Kirkham R, Siddons DP, Alfeld M, Garrevoet J, et al. Fast X-ray microfluorescence imaging with submicrometer-resolution integrating a Maia detector at beamline P06 at PETRA III. *J Synchrotron Radiat.* 2016;23(6):1550-60.
53. Schroer CG, Boye P, Feldkamp JM, Patommel J, Samberg D, Schropp A, et al. Hard X-ray nanoprobe at beamline P06 at PETRA III. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect Accel Spectrometers Detect Assoc Equip.* 2010;616(2):93-7.
54. Falkenberg G, Fleissner G, Fleissner G, Alraun P, Boesenberg U, Spiers K. Large-scale high-resolution micro-XRF analysis of histological structures in the skin of the pigeon beak. *X-Ray Spectrom.* 2017;46(5):467-73.
55. Solé VA, Papillon E, Cotte M, Walter Ph, Susini J. A multiplatform code for the analysis of energy-dispersive X-ray fluorescence spectra. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc.* 2007;62(1):63-8.
56. Djomehri SI, Candell S, Case T, Browning A, Marshall GW, Yun W, et al. Mineral density volume gradients in normal and diseased human tissues. *PLOS ONE.* 2015;10(4):e0121611.
57. Szczerbowska-Boruchowska M. Sample thickness considerations for quantitative X-ray fluorescence analysis of the soft and skeletal tissues of the human body – theoretical evaluation and experimental validation. *X-Ray Spectrom.* 2012;41(5):328-37.
58. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ : 25 years of image analysis. *Nat Methods.* 2012;9(7):671-5.
59. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji : an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods.* 2012;9(7):676-82.
60. Dean C, Zanolli C, Le Cabec A, Tawane M, Garrevoet J, Mazurier A, et al. Growth and development of the third permanent molar in *Paranthropus robustus* from Swartkrans, South Africa. *Sci Rep.* 2020;10(1):19053.
61. Smith TM, Olejniczak AJ, Reid DJ, Ferrell RJ, Hublin JJ. Modern human molar enamel thickness and enamel-dentine junction shape. *Arch Oral Biol.* 2006;51(11):974-95.
62. Mahoney P. Intraspecific variation in M1 enamel development in modern humans : implications for human evolution. *J Hum Evol.* 2008;55(1):131-47.
63. Lacruz RS, Dean MC, Ramirez-Rozzi F, Bromage TG. Megadontia, striae periodicity and patterns of enamel secretion in Plio-Pleistocene fossil hominins. *J Anat.* 2008;213(2):148-58.
64. Lacruz RS, Bromage TG. Appositional enamel growth in molars of South African fossil hominids. *J Anat.* 2006;209(1):13-20.

65. Li C, Risnes S. SEM observations of Retzius lines and prism cross-striations in human dental enamel after different acid etching regimes. *Arch Oral Biol.* 2004;49(1):45-52.
66. Bērziņš K, Sutton JJ, Loch C, Beckett D, Wheeler BJ, Drummond BK, et al. Application of low-wavenumber raman spectroscopy to the analysis of human teeth. *J Raman Spectrosc.* 2019;50(10):1375-87.
67. Ortiz-Ruiz AJ, Teruel-Fernández J de D, Alcolea-Rubio LA, Hernández-Fernández A, Martínez-Beneyto Y, Gispert-Guirado F. Structural differences in enamel and dentin in human, bovine, porcine, and ovine teeth. *Ann Anat Anat Anz.* 2018;218:7-17.
68. Dean MC, Spiers KM, Garrevoet J, Le Cabec A. Synchrotron X-ray fluorescence mapping of Ca, Sr and Zn at the neonatal line in human deciduous teeth reflects changing perinatal physiology. *Arch Oral Biol.* 2019;104:90-102.
69. Rautray TR, Das S, Rautray AC. In situ analysis of human teeth by external PIXE. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B Beam Interact Mater At.* 2010;268(14):2371-4.
70. Daculsi G, Bouler JM, LeGeros RZ. Adaptive crystal formation in normal and pathological calcifications in synthetic calcium phosphate and related biomaterials. *Int Rev Cytol.* 1997;172:129-91.
71. Lane DW, Peach DF. Some observations on the trace element concentrations in human dental enamel. *Biol Trace Elem Res.* 1997;60(1):1-11.
72. Humphrey LT, Dean MC, Jeffries TE, Penn M. Unlocking evidence of early diet from tooth enamel. *Proc Natl Acad Sci.* 2008;105(19):6834-9.
73. Müller W, Nava A, Evans D, Rossi PF, Alt KW, Bondioli L. Enamel mineralization and compositional time-resolution in human teeth evaluated via histologically-defined LA-ICPMS profiles. *Geochim Cosmochim Acta.* 2019;255:105-26.
74. Rautray TR, Dutta K, Das SL, Rautray AC. In situ analyses of gallstone inner layers by external PIXE. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B Beam Interact Mater At.* 2010;268(17):2773-6.
75. Dean MC, Le Cabec A, Van Malderen SJM, Garrevoet J. Synchrotron X-ray fluorescence imaging of strontium incorporated into the enamel and dentine of wild-shot orangutan canine teeth. *Arch Oral Biol.* 2020;119:104879.
76. Lamster IB, Asadourian L, Del Carmen T, Friedman PK. The aging mouth : differentiating normal aging from disease. *Periodontol 2000.* 2016;72(1):96-107.
77. Hara AT, Lussi A, Zero DT. Biological factors. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:88-99.
78. Buzalaf MAR, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci Rev FOB.* 2012;20(5):493-502.
79. Dean MC. Retrieving chronological age from dental remains of early fossil hominins to reconstruct human growth in the past. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2010;365(1556):3397-410.
80. Anemone RL, Mooney MP, Siegel MI. Longitudinal study of dental development in chimpanzees of known chronological age : implications for understanding the age at death of plio-pleistocene hominids. *Am J Phys Anthropol.* 1996;99(1):119-33.
81. Wang P, Anderson EJD, Muller EA, Gao F, Zhong Y, Raschke MB. Hyper-spectral raman imaging correlating chemical substitution and crystallinity in biogenic hydroxyapatite : dentin and enamel in normal and hypoplastic human teeth. *J Raman Spectrosc.* 2018;49(9):1559-67.
82. Aldred MJ, Crawford PJ, Rowe W, Shellis RP. Scanning electron microscopic study of primary teeth in X-linked amelogenesis imperfecta. *J Oral Pathol Med.* 1992;21(4):186-92.
83. Coyac BR, Falgayrac G, Penel G, Schmitt A, Schinke T, Linglart A, et al. Impaired mineral quality in dentin in x-linked hypophosphatemia. *Connect Tissue Res.* 2018;59(sup1):91-6.
84. Börjesson J, Mattsson S. Medical applications of X-ray fluorescence for trace element research. *Powder Diffr.* 2007;22(2):130-7.
85. MacDonald NS, Noyes P, Lorick PC. Discrimination of calcium and strontium by the kidney. *Am J Physiol-Leg Content.* 1956;188(1):131-6.
86. O'Donnell MD, Fredholm Y, de Rouffignac A, Hill RG. Structural analysis of a series of strontium-substituted apatites. *Acta Biomater.* 2008;4(5):1455-64.
87. Pan HB, Li ZY, Lam WM, Wong JC, Darvell BW, Luk KDK, et al. Solubility of strontium-substituted apatite by solid titration. *Acta Biomater.* 2009;5(5):1678-85.

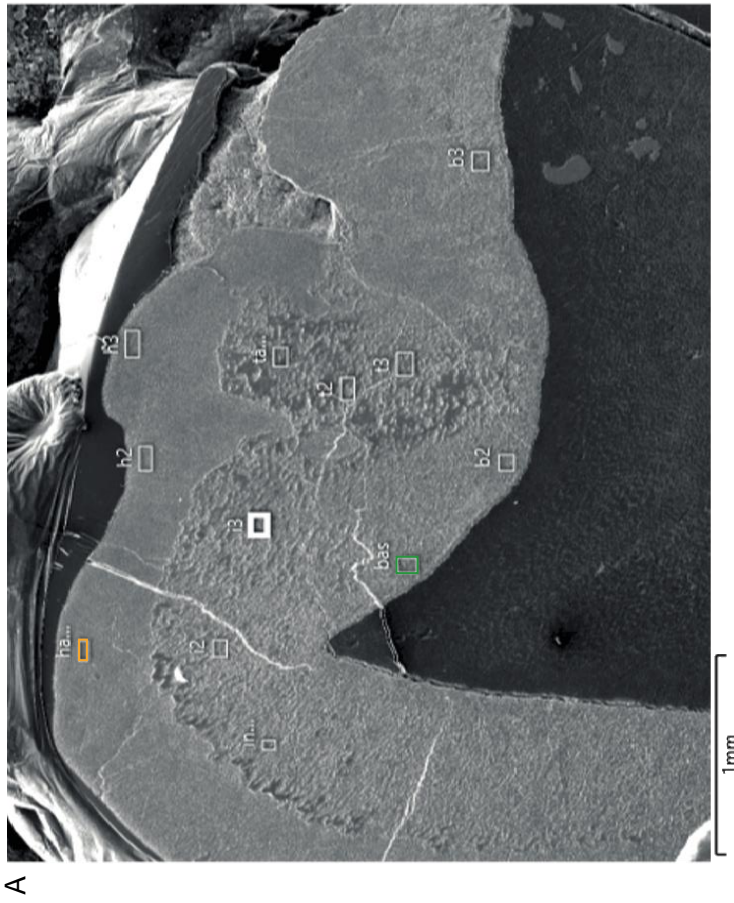
88. Dahl SG, Allain P, Marie PJ, Mauras Y, Boivin G, Ammann P, et al. Incorporation and distribution of strontium in bone. *Bone*. 2001;28(4):446-53.
89. Martins CC, Firmino RT, Riva JJ, Ge L, Carrasco-Labra A, Brignardello-Petersen R, et al. Desensitizing toothpastes for dentin hypersensitivity: a network meta-analysis. *J Dent Res*. 2020;99(5):514-22.
90. van den Berkhof YS, Gant CM, Maatman R, De Graaf A, Navis GJ, Bakker SJL, et al. Correlations between plasma strontium concentration, components of calcium and phosphate metabolism and renal function in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest*. 2018;48(9):e12987.
91. Vezzoli G, Baragetti I, Zerbi S, Caumo A, Soldati L, Bellinzoni P, et al. Strontium absorption and excretion in normocalciuric subjects : relation to calcium metabolism. *Clin Chem*. 1998;44(3):586-90.
92. Jalali R, Lodder JC, Zandieh-Doulabi B, Micha D, Melvin JE, Catalan MA, et al. The role of Na:K:2Cl cotransporter 1 (NKCC1/SLC12A2) in dental epithelium during enamel formation in mice. *Front Physiol*. 2017;8.
93. Yin K, Paine ML. Bicarbonate transport during enamel maturation. *Calcif Tissue Int*. 2017;101(5):457-64.
94. Parry DA, Mighell AJ, El-Sayed W, Shore RC, Jalili IK, Dollfus H, et al. Mutations in CNNM4 cause Jalili syndrome, consisting of autosomal-recessive cone-rod dystrophy and amelogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet*. 2009;84(2):266-73.
95. Jälevik B, Odelius H, Dietz W, Norén J. Secondary ion mass spectrometry and X-ray microanalysis of hypomineralized enamel in human permanent first molars. *Arch Oral Biol*. 2001;46(3):239-47.
96. Aoba T, Shimoda S, Moreno EC. Labile or surface pools of magnesium, sodium, and potassium in developing porcine enamel mineral. *J Dent Res*. 1992;71(11):1826-31.
97. Bronckers ALJJ, Jalali R, Lytton J. Reduced protein expression of the Na⁺/Ca²⁺+K⁺-exchanger (slc24a4) in apical plasma membranes of maturation ameloblasts of fluorotic mice. *Calcif Tissue Int*. 2017;100(1):80-6.
98. Khandelwal P, Sabanadesan J, Sinha A, Hari P, Bagga A. Isolated nephrocalcinosis due to compound heterozygous mutations in renal outer medullary potassium channel. *CEN Case Rep*. 2020;9(3):232-6.
99. Kumar ACV, Alekya V, Krishna MSVV, Alekya K, Aruna M, Reddy MHK, et al. Association of amelogenesis imperfecta and bartter's syndrome. *Indian J Nephrol*. 2017;27(5):399-401.

Table des figures

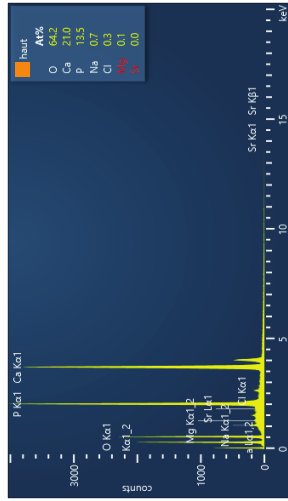
| | |
|---|----|
| Figure 1 : Anatomie d'une molaire mandibulaire humaine | 5 |
| Figure 2 : Illustration du processus d'amélogenèse | 7 |
| Figure 3 : Coupe de dent HELIX (épaisseur : 160 µm) collée avec de l'Araldite® sur lame de verre (épaisseur : 955 µm) observée au stéréomicroscope | 12 |
| Figure 4 : Microscope Raman Senterra II (Bruker Optics) | 15 |
| Figure 5 : La source de rayonnement synchrotron de 3 ^e génération à haute brillance de DESY : PETRA III | 15 |
| Figure 6 : Sections de dents montées sur lame de verre | 16 |
| Figure 7 : Section de molaire contrôle montée sur feuille de Kapton® suspendue..... | 16 |
| Figure 8 : Anatomie et microanatomie de la molaire HELIX (CBCT)..... | 19 |
| Figure 9 : Anatomie et microanatomie de la molaire HELIX (reconstruction 3D)..... | 20 |
| Figure 10 : Reconstitutions 3D des couronnes des troisièmes molaires, montrant que l'émail de la dent HELIX présente une distribution 3D de l'épaisseur de l'émail comparable à celle du témoin (<i>control</i>)..... | 20 |
| Figure 11 : Détermination du taux de sécrétion quotidien (DSR) dans l'émail HELIX..... | 21 |
| Figure 12 : Quantification du temps de formation de la couronne HELIX | 23 |
| Figure 13 : Caractéristiques de l'émail HELIX par MEB | 24 |
| Figure 14 : Caractérisation de la dent HELIX par microspectroscopie Raman | 26 |
| Figure 15 : Caractérisation SXRF de la molaire HELIX (Ca) | 28 |
| Figure 16 : Caractérisation SXRF de la molaire HELIX (Zn) | 29 |
| Figure 17 : Caractérisation SXRF de la molaire HELIX (Sr) | 30 |
| Figure 18 : Variations de la teneur en Sr dans l'émail cuspidien de la dent HELIX | 32 |

Table des tableaux

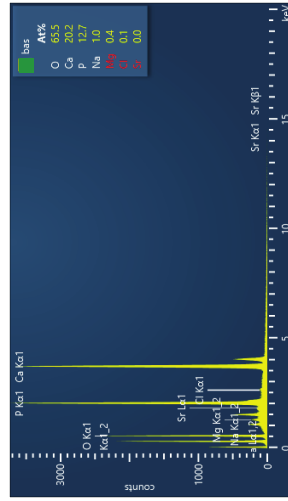
| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Taux de sécrétion quotidien (DSR) de la jonction émail-dentine (EDJ) à la surface externe de l'émail (OES) | 21 |
| Tableau 2 : Quantification atomique des éléments (en At (%)) chez HELIX et le témoin dans les couches internes et externes de l'émail par analyses aux rayons X à dispersion d'énergie (EDX) | 27 |
| Tableau 3 : Taux de sécrétion quotidien (DSR) de la jonction émail-dentine (EDJ) à la surface externe de l'émail (OES) | 32 |



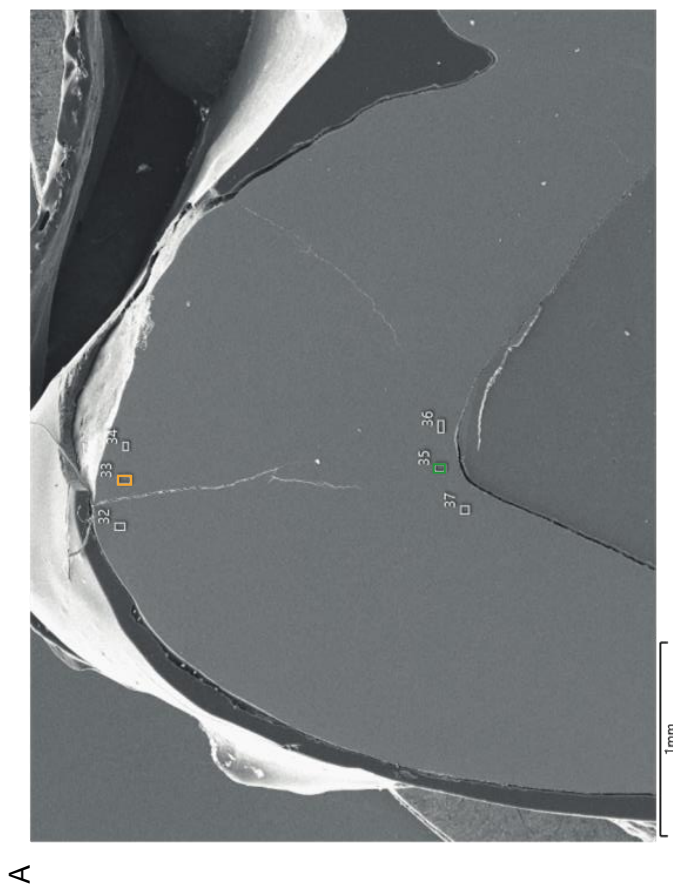
B



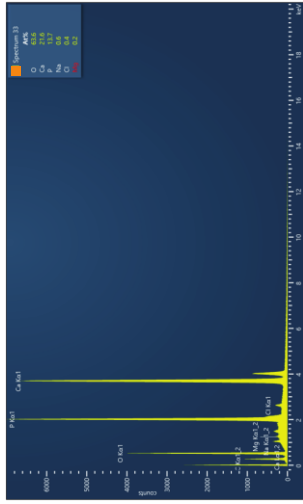
C



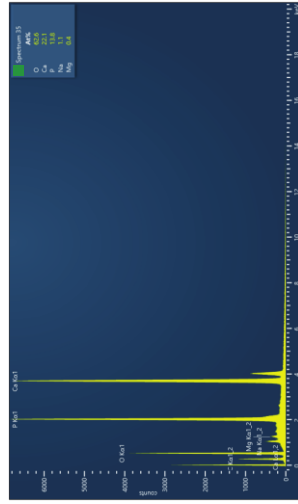
Annexe 2: Analyse des couches d'émail HELIX par EDX
 Spectres de masse atomique EDX de l'émail externe (B) et interne (C).
 Les zones d'intérêt sont indiquées (A) (jaune : externe, interne : vert).



B

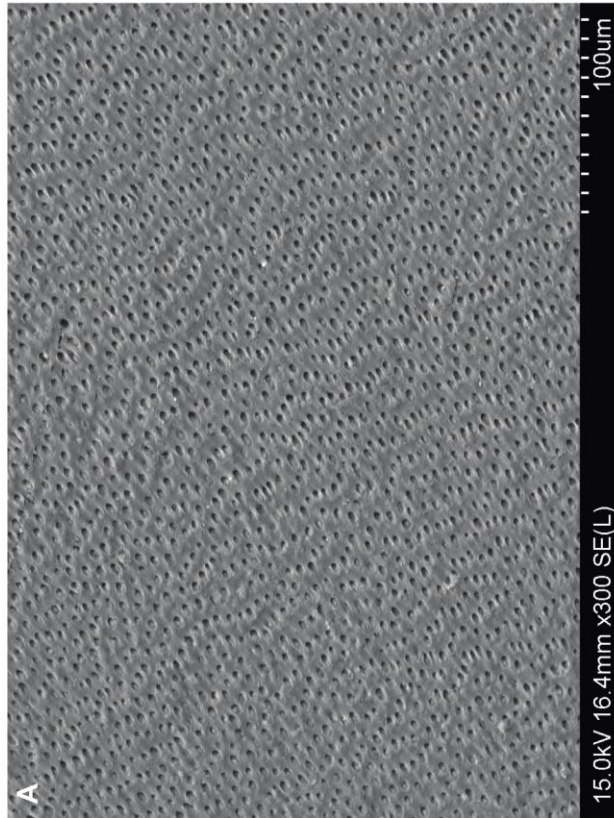


C

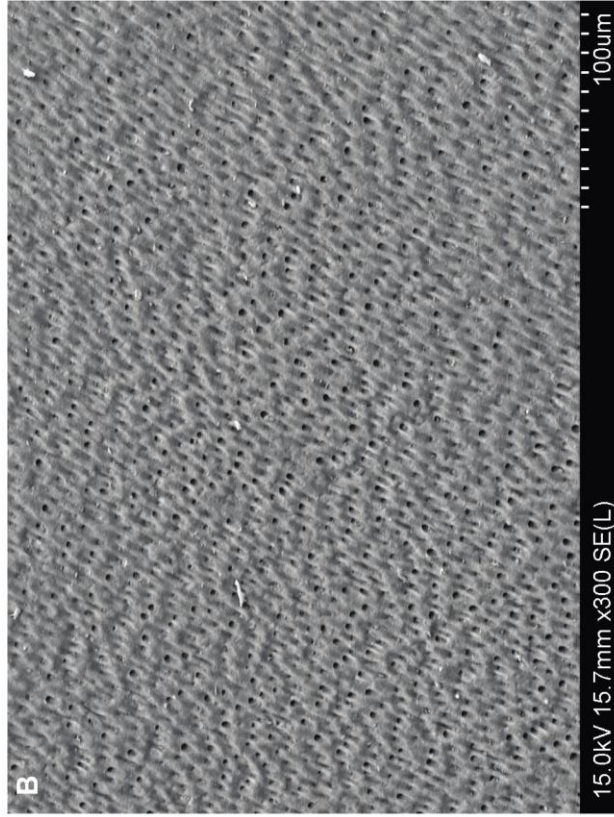


Annexe 3: Analyse des couches d'émail de contrôle par EDX
 Spectres de masse atomique EDX des couches d'émail externe (B) et interne (C).
 Les zones d'intérêt sont indiquées (A) (jaune : externe, interne : vert).

HELIX

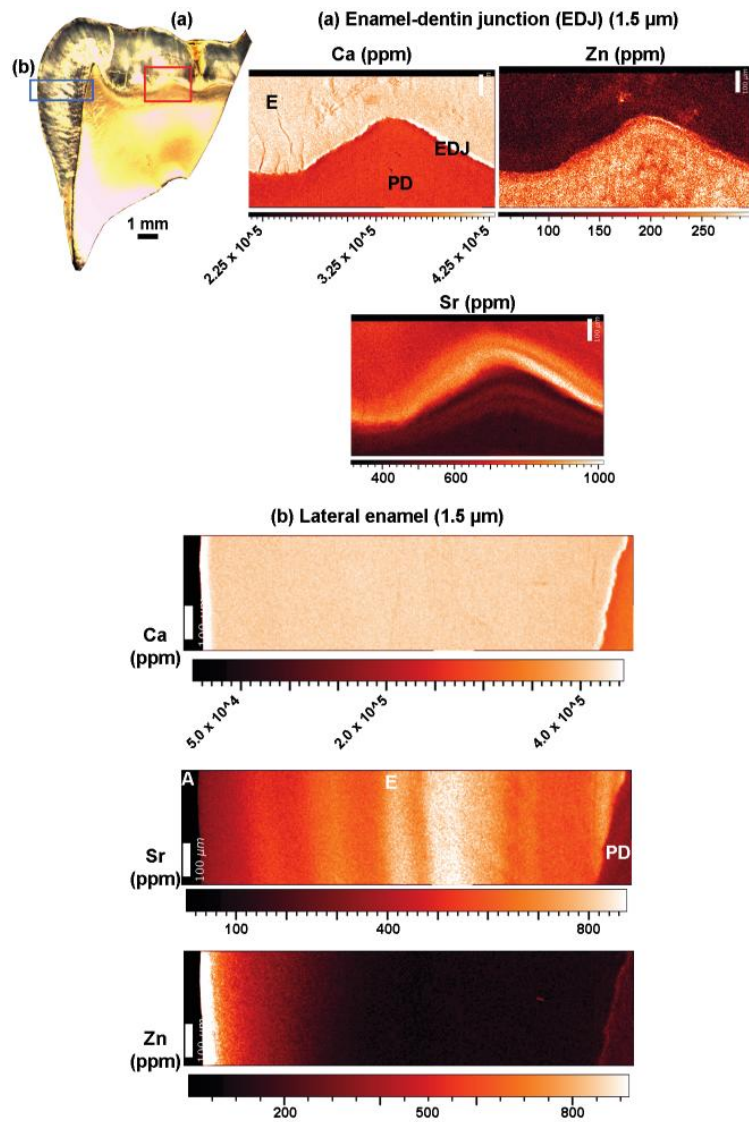


Control

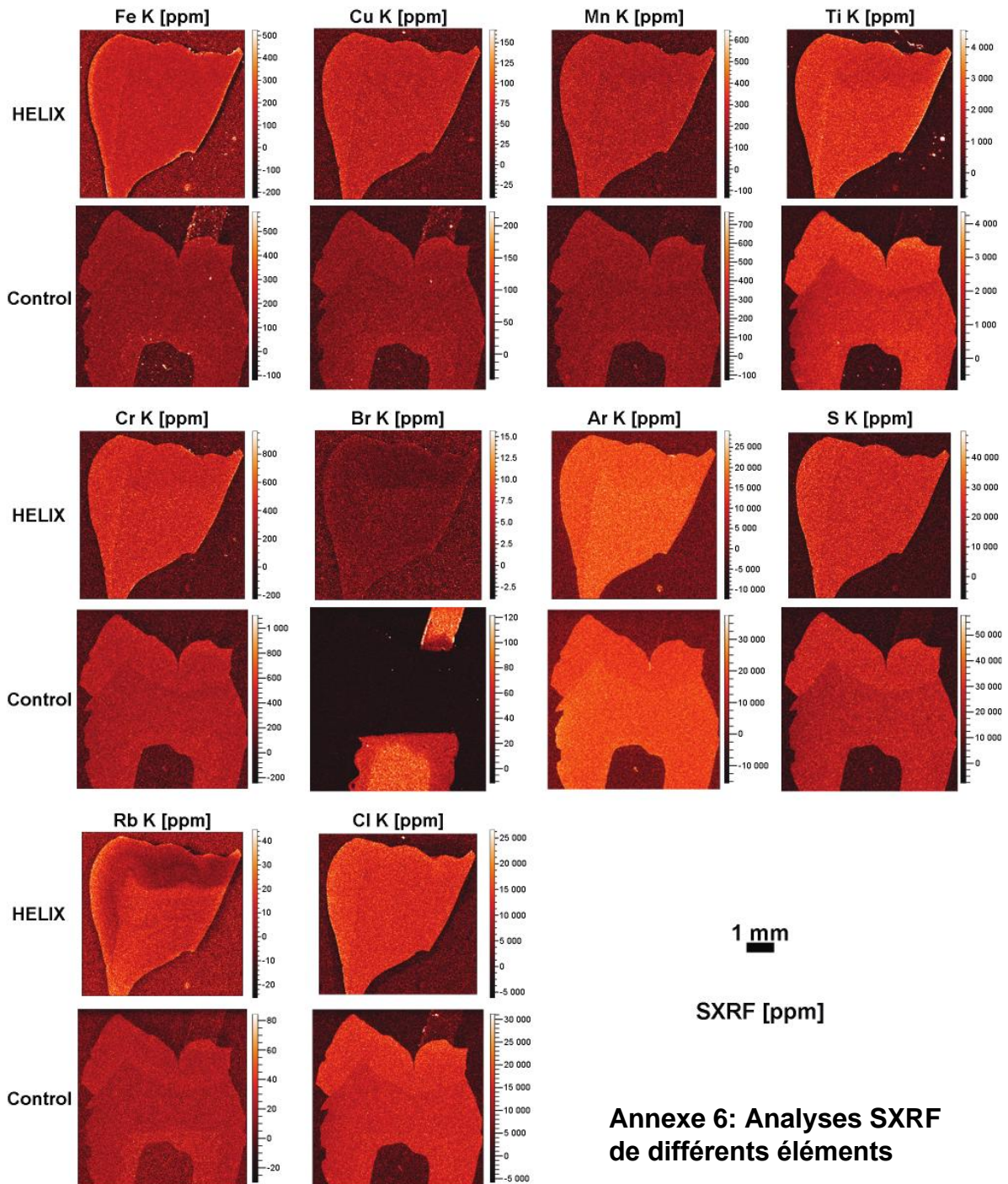


Annexe 2: Caractéristiques de la dentine HELIX par MEB

Aspects représentatifs de la microstructure de la dentine HELIX (A) et du contrôle (B) imagés par MEB à un grossissement de x300. Il n'y a pas de différence entre la dentine HELIX et la dentine de contrôle.



Annexe 5: Emplacement des scans SXRF ha ute résolution (1,5 μm de résolution) sur l'image en lumière transmise de la section de la dent HELIX (en haut à gauche), et cartes de Ca, Sr et Zn des scans haute résolution acquis au niveau de l'EDJ (a), et dans l'émail latéral (b). Les fines variations de Sr observées sur les cartes d'ensemble (Fig. 4) sont également détectables à plus haut e puissance, tant dans l'émail que dans la dentine. E : émail, A : air, PD : dentine primaire, EDJ : jonction émail-dentine. Dans toutes les cartes SXRF, la barre d'échelle est de 100 μm de long.



Annexe 6: Analyses SXRf de différents éléments

Vu, le Directeur de thèse

Vu, le Doyen de l'UFR d'Odontologie

Professeur Catherine CHAUSSAIN

Professeur Vianney DESCROIX

Vu, le Président d'Université Paris Cité
Professeur Christine CLERICI
Pour le Président et par délégation,

Le Doyen Vianney DESCROIX

Impact du déficit en Claudine 10 sur l'amélogénèse : leçon d'une dent HELIX

Nicolas Obtel. Impact du déficit en Claudine 10 sur l'amélogénèse : leçon d'une dent HELIX. 2022. 50 p. : ill., graph., tabl. Réf. bibliographiques p. 38-42

Sous la direction de Mme le Professeur Catherine Chaussain

Université Paris Cité
UFR d'Odontologie
1, rue Maurice Arnoux - 92120 Montrouge
5, rue Garancière - 75006 Paris