



Faculté de  
Chirurgie  
Dentaire  
UNIVERSITÉ DE LILLE



Université  
de Lille

**UNIVERSITÉ DU DROIT ET DE LA SANTÉ DE LILLE 2**  
**FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE**

---

[Année de soutenance : 2018]

N°:

**THÈSE**  
pour le  
**DIPLÔME D'ÉTAT**

**DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE**

Présentée et soutenue publiquement le 28 juin 2018

Par SOFIANN EL AYOUBI

Né le 02 août 1989 à Rouen, France

RELATIONS ENTRE GROSSESSE ET CÉMENT ACELLULAIRE : ÉTUDE PRÉLIMINAIRE

**JURY**

Président :

Monsieur le Professeur Thomas Colard

Assesseurs :

Madame le Docteur Mathilde Savignat

Monsieur le Docteur Coutel Xavier

Madame le Docteur Cécile Olejnik



Président de l'Université	:	Pr. J-C. CAMART
Directeur Général des Services de l'Université	:	P-M. ROBERT
Doyen	:	Pr. E. DEVEAUX
Vice-Doyens	:	Dr. E. BOCQUET, Dr. L. NAWROCKI et Pr. G. PENEL
Responsable des Services	:	S. NEDELEC
Responsable de la Scolarité	:	M.DROPSIT

### **PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'U.F.R.**

#### **PROFESSEURS DES UNIVERSITES :**

P. BEHIN	Prothèses
T. COLARD	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
E. DELCOURT-DEBRUYNE	Professeur Emérite Parodontologie
E. DEVEAUX	Dentisterie Restauratrice Endodontie <b>Doyen de la Faculté</b>
<b>G. PENEL</b>	Responsable du Département de <b>Biologie Orale</b>

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

<b>T. BECAVIN</b>	Responsable du Département de <b>Dentisterie Restauratrice Endodontie</b>
A. BLAIZOT	Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale.
<b>F. BOSCHIN</b>	Responsable du Département de <b>Parodontologie</b>
<b>E. BOCQUET</b>	Responsable du Département d' <b>Orthopédie Dento-Faciale</b>
<b>C. CATTEAU</b>	Responsable du Département de <b>Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale.</b>
A. de BROUCKER	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
T. DELCAMBRE	Prothèses
<b>C. DELFOSSE</b>	Responsable du Département d' <b>Odontologie Pédiatrique</b>
F. DESCAMP	Prothèses
A. GAMBIEZ	Dentisterie Restauratrice Endodontie
F. GRAUX	Prothèses
P. HILDEBERT	Dentisterie Restauratrice Endodontie
<b>J.M. LANGLOIS</b>	Responsable du Département de <b>Chirurgie Orale</b>
C. LEFEVRE	Prothèses
J.L. LEGER	Orthopédie Dento-Faciale
M. LINEZ	Dentisterie Restauratrice Endodontie
G. MAYER	Prothèses
L. NAWROCKI	Chirurgie Orale Chef du Service d'Odontologie A. Caumartin - CHRU Lille
C. OLEJNIK	Biologie Orale
P. ROCHER	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
L.ROBBERECHT	Dentisterie Restauratrice Endodontie
<b>M. SAVIGNAT</b> <b>Biomatériaux</b>	Responsable du Département des <b>Fonction-Dysfonction, Imagerie,</b>

T. TRENTESAUX

Odontologie Pédiatrique

**J. VANDOMME**

Responsable du Département de **Prothèses**

**Réglementation de présentation du mémoire de Thèse :**

Par délibération en date du 29 octobre 1998, le Conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire de l'Université de Lille 2 a décidé que les opinions émises dans le contenu et les dédicaces des mémoires soutenus devant jury doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'ainsi aucune approbation, ni improbation ne leur est donnée.

## **Remerciements**

*Aux membres du jury,*

**Monsieur le Professeur Thomas COLARD**

**Professeur des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD**

*Sous-Section Sciences Anatomiques et Physiologiques, Occlusodontiques, Biomatériaux, Biophysique et Radiologie.*

- Docteur en Chirurgie Dentaire
- Docteur au Museum National d'Histoire Naturelle en Anthropologie Biologique

*Vous me faites l'honneur de Présider mon jury de thèse et je vous en donne toute ma gratitude. Je vous remercie de m'avoir énormément aidé pendant ce travail mais surtout d'être le seul à avoir réellement piqué ma curiosité à maintes reprises pendant mon cursus. Vous m'avez fait découvrir plusieurs domaines comme la paléanthropologie, la médecine légale ou même la balistique en laboratoire ! En quittant Lille, je savais que je ne viendrai plus toutes les semaines au labo ; c'est le meilleur souvenir, et de loin, que je garde de l'Université ; j'en parlerai encore pendant longtemps, avec joie et fierté. J'espère continuer de garder un œil dans votre univers hors du commun après ce travail. J'admire, l'enseignant, le chercheur et l'homme que vous êtes.*

*Veillez croire, Professore, en mon profond respect.*

**Madame le Docteur Mathilde SAVIGNAT**

**Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD**

*Section Réhabilitation Orale*

*Département Sciences Anatomiques*

- Docteur en Chirurgie Dentaire
- Docteur en Odontologie de l'Université de Lille 2
- Master Recherche Biologie Santé, spécialité Physiopathologie et Neurosciences
- Responsable du département des Sciences Anatomiques

*Vous m'avez fait l'honneur d'être ma directrice de thèse et je vous en remercie sincèrement.*

*Je garde un bon souvenir des TP que vous avez dirigés et surtout de la dissection avec mon frère*

*que vous aviez très généreusement bien voulu assister !*

*Je vous souhaite le meilleur,*

*Soyez assurée de ma sincère reconnaissance.*

**Madame le Docteur Cécile OLEJNIK**

**Maitre de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD**  
*Sous - Section Sciences Biologiques*

- Docteur en Chirurgie Dentaire
- Doctorat de l'université de Lille 2 (mention odontologie)

*Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Je me rappellerai de votre  
gentillesse et de votre disponibilité en clinique.*

*Je suis heureux de vous avoir eu comme enseignante au cours de mes études.*

*Je vous souhaite la plus grande réussite pour tous vos projets,*

*Veillez croire en ma sincère reconnaissance.*

**Monsieur le Docteur Xavier COUTEL**

**Assistant Hospitalo-Universitaire des CSERD**

*Sous-section Sciences Biologiques*

- Docteur en Chirurgie Dentaire

*Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail en signant pour le jury. J'ai apprécié votre grande disponibilité et votre gentillesse au cours de cette thèse et de mes études. J'espère que tous vos projets aboutiront au meilleur, Veuillez croire en ma sincère reconnaissance.*



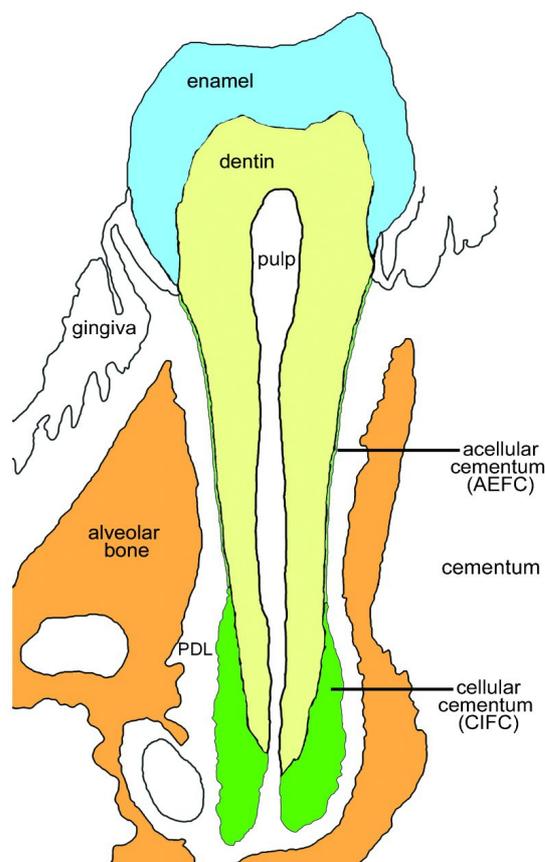
## Table des matières

1. INTRODUCTION.....	13
1.1 La Cémentation.....	13
1.1.1 La formation du Cément cellulaire.....	16
1.1.2 La formation du Cément acellulaire.....	17
1.1.3 Origine des cellules créatrices du ciment acellulaire à fibre extrinsèque (AEFC).....	18
1.2 Au cœur du ciment acellulaire.....	20
1.2.1 La composition du ciment acellulaire.....	20
1.2.1.1 Des composants spécifiques au ciment ?.....	21
1.3 Le rôle central des pyrophosphates dans la régulation du ciment.....	22
1.3.1 Le mécanisme.....	22
1.3.2 Les liens entre Pyrophosphates et les autres régulateurs.....	23
1.3.3 Le ciment acellulaire à fibres extrinsèques comme choix pour la recherche.....	25
1.3.3.1 La justification par l'archéozoologie.....	25
1.3.3.2 L'alternance des bandes, un phénomène encore incompris.....	26
1.3.3.3 La microstructure du ciment est-elle responsable de l'alternance ?.....	27
1.4 La TCA chez l'Homme, son utilité et ses limites.....	29
1.5 Le métabolisme phosphocalcique.....	31
1.5.1 Généralités.....	31
1.5.2 Régulation.....	32
1.5.3 Les maladies impactant le métabolisme phosphocalcique.....	33
1.6 Grossesse, allaitement et métabolisme phosphocalcique.....	34
1.6.1 La grossesse et l'allaitement, une période de changements.....	35
2. MATÉRIELS ET METHODES.....	37
2.1 Préparation des échantillons.....	37
2.2 La spectrométrie de vibration par diffusion Raman.....	39
2.2.1 Principes.....	39
2.2.2 Fonctionnement.....	42
2.2.3 Technique d'analyse.....	46
3. RÉSULTATS.....	47
3.1 Échantillon A3.....	47
3.1.1 Comparaison entre BTA et Raman pour A3.....	50
3.2 Échantillon A9.....	51
3.2.1 Comparaison entre BTA et Raman pour A9.....	55
3.3 Comparaison avec les données civiles et d'histoire de vie.....	55
3.3.1 Avec le calcul des anneaux.....	55
3.3.2 Avec les distances.....	56
4. DISCUSSION.....	58
5. CONCLUSION.....	62

# 1. INTRODUCTION

## 1.1 La Cémentogénèse

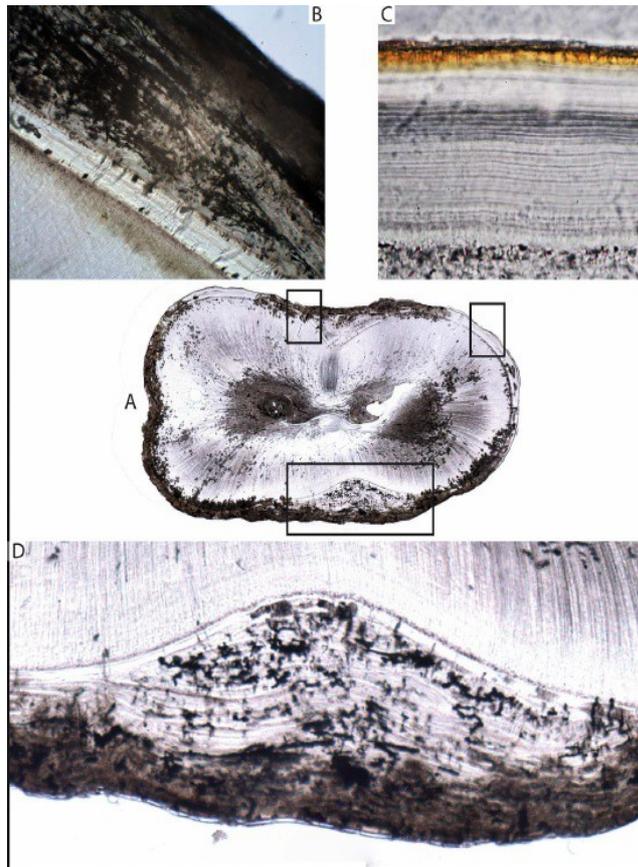
Le cément est un tissu conjonctif calcifié qui entoure la dentine radulaire, il fait partie des trois tissus minéralisés de l'organe dentaire (Illustration 1). Il appartient cependant



*Illustration 1: Schéma d'une dent et de son système d'attache. PDL = ligament parodontal. En vert le cément cellulaire à fibres intrinsèques (CIFC) et en orange le cément acellulaire à fibres extrinsèques (AEFC). Source : Foster 2012*

au parodonte car il forme un site d'attachement pour les fibres du ligament parodontal qui fixent la dent à l'os alvéolaire. Ces fibres de collagène sont classées en deux

groupes, les fibres de Sharpey ou extrinsèques et les fibres intrinsèques qui sont propres au cément. Les fibres intrinsèques sont parallèles à la surface du cément et perpendiculaires aux fibres extrinsèques. Le cément est composé à 65 % de calcium et de phosphate, principalement sous forme d'hydroxyapatite, 23 % de substances organiques, surtout collagène et 12% d'eau. Il est moins minéralisé que l'émail ou la dentine mais possède le taux de minéralisation que l'os. Le cément se classe grossièrement en deux catégories, le cément acellulaire (primaire) qui fournit l'attache de la dent au ligament et le cément cellulaire (secondaire) qui subit des remodelages permanents permettant de s'adapter aux mouvements physiologiques de la dent. Les différentes couches s'apposent avant, pendant et après l'éruption de la dent sur l'arcade dentaire tout au long de la vie,(Bosshardt et Schroeder 1996; Auriol et al. 2008).



*Illustration 2: (A) Coupe transversale d'une molaire avec des exemples de (B) CMSC, (C) AEFC, (D) CIFC. Source : Naji 2014*

Il existe également le ciment secondaire cellulaire à fibres intrinsèques et à fibres mixtes, le ciment acellulaire afibrillaire, le ciment intermédiaire et le ciment stratifié mixte ( Illustration 2) (Yamamoto et al. 2016). Succinctement, le ciment acellulaire à fibre extrinsèque (AEFC) se trouve principalement dans la moitié supérieure de la racine, mais il peut s'étendre plus loin apicalement. La partie apicale des racines et la furcation des pluriradiculées sont enduites par le ciment cellulaire stratifié mixte (CMSC), qui se compose d'une alternance de couches d'AEFC et de ciment cellulaire à

fibre intrinsèque (CIFC) ou de ciment acellulaire à fibre intrinsèque (AIFC) (Yamamoto et al. 2016).

### **1.1.1 La formation du Cément cellulaire**

Le ciment cellulaire apparaît lorsque la dent devient fonctionnelle. Il se forme plus rapidement et est moins minéralisé que le ciment primaire. Il se retrouve au tiers apical des molaires et des prémolaires. Parallèlement à la surface de la racine se trouve une matrice organique, formée de protéines non collagène et de fibrilles de collagène. Les cémentoblastes se trouvant étalés sur cette matrice vont minéraliser cette surface en sécrétant des vésicules matricielles. Cette minéralisation se produit grâce aux cristaux d'apatite qui se forment dans ces vésicules. Avant la minéralisation, cette substance intermédiaire est appelée « cémentoïde » à l'instar de la substance ostéoïde dans l'os. Les cémentoblastes se transforment en cémentocytes lorsqu'ils se retrouvent emprisonnés dans des lacunes créées par leurs propres sécrétions lors de la minéralisation, d'où le nom de ciment cellulaire. Il continue de se déposer en englobant les fibres de Sharpey et en les minéralisant de manière partielle. Ce phénomène semble dépendre des ajustements du ligament parodontal, comme une réponse (Bosshardt and Schroeder 1996; Auriol et al. 2008; Yamamoto et al. 2016). Le ciment cellulaire est subdivisé en ciment cellulaire à fibres intrinsèques dont le mécanisme cellulaire est proche de celui des cellules osseuses (Cool et al. 2002) et qui commence avant l'organisation du ligament parodontal, et en ciment cellulaire à fibres mixtes riche en cémentocytes, qui commence après organisation du ligament parodontal. Il ne semble

pas avoir de rôle essentiel dans l'attache de la dent, il fait en effet souvent défaut aux dents monoradiculées (Schroeder 1992; Schroeder 1993).

### **1.1.2 La formation du Cément acellulaire**

C'est le type ciment qui va nous intéresser dans cette étude, car sa formation est lente, homogène et continue. Il commence dès que les fibroblastes du sac folliculaire provenant de la fragmentation de la crête épithéliale de Hertwig atteignent la surface radiculaire. Ces fibroblastes deviennent de grandes cellules richement pourvues d'organites impliqués dans la sécrétion protéique : les cémentoblastes. La surface radiculaire est alors recouverte d'une couche hyaline encore non minéralisée. Les cémentoblastes, via leurs prolongements cytoplasmiques, y déposent des fibres collagènes de façon perpendiculaire à cette surface radiculaire (Bosshardt 2005). En répétant cette opération, les fibres de collagènes vont épaissir et allonger le ciment acellulaire en formant des trousseaux fibreux. Elles sécrètent également des protéines analogues à celles du tissu osseux (en particulier des sialoprotéines, ostéocalcines). Les cémentoblastes qui ont sécrété ce type de ciment restent à sa périphérie, d'où le nom de ciment acellulaire. Ce ciment se retrouvera sur les deux tiers coronaires de la racine. (Bosshardt and Schroeder 1996; Auriol et al. 2008).

La première couche de ciment acellulaire consiste en un regroupement de fibres de collagène non calcifiées. Elles se calcifient par la suite par des cristaux d'hydroxapatite, en changeant d'orientation, ce qui serait à l'origine d'effets d'optiques d'alternances, visibles au microscope (Auriol et al. 2008).

Le ciment acellulaire à fibres intrinsèques se forme avant la différenciation du ligament parodontal. Du collet au tiers supérieur de la racine, les cémentoblastes synthétisent la substance fondamentale et les fibres de collagène sur 15 à 20  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Une fois cette épaisseur atteinte, les connexions entre fibres du ligament parodontal et frange fibreuse du ciment ont lieu (Yamamoto et al. 2016).

Le ciment acellulaire à fibres extrinsèques se produit après le ciment acellulaire à fibres intrinsèques. Il se situe du collet aux deux tiers coronaires sur les pluri-radiculées et sur toute la hauteur de la dent sur les monoradiculées, d'une épaisseur de 50  $\mu\text{m}$  à 200  $\mu\text{m}$  du collet à l'apex (Bosshardt and Schroeder 1996; Auriol et al. 2008)

### **1.1.3 Origine des cellules créatrices du ciment acellulaire à fibre extrinsèque (AEFC)**

L'AEFC est formé par une classe particulière de cellules qui ressemblent à des fibroblastes (Bosshardt and Schroeder 1996). Cependant les cellules progénitrices de l'AEFC et les fibroblastes n'ont pas la même origine. Il n'a jamais été démontré d'interactions épithelio-mésenchymateuses réciproques entre les cellules cémento-progénitrices et la gaine de Hertwig. Cette interaction est cependant retrouvée entre odontoblastes et cellules de la gaine de Hertwig pendant la formation de la racine. Par ailleurs, l'origine précise des cémentoblastes et le rôle des couches cellulaires internes et externes de la gaine de Hertwig dans l'initiation de la cémentogénèse restent encore un mystère (Bosshardt and Schroeder 1996; Bosshardt 2005; Auriol et al. 2008 ; Yamamoto et al. 2016).

Le sac folliculaire et le mésenchyme péri-folliculaire sont d'origine mésenchymateuse, donc dérivés de la crête neurale. La grande majorité des recherches indique que les cellules du sac folliculaire donnent naissance à des cémentoblastes et probablement aussi à une partie des fibroblastes du ligament parodontal. Le ligament parodontal est porteur de cellules souches qui peuvent se différencier en cémentoblastes, ostéoblastes ou fibroblastes (Bosshardt 2005). Chez l'homme, la formation de l'AEFC est caractérisée par un développement continu. Il n'existe pas de preuves qui indiqueraient un comportement migratoire des cellules du sac folliculaire vers la surface dentinaire. Chez le rat, une fenestration de la gaine de Hertwig permet aux pré-cémentoblastes de rentrer en contact avec la matrice dentinaire, ce phénomène n'a jamais été observé chez l'Homme. Les cellules folliculaires migratoires, chez le rongeur, pourraient n'intervenir que dans l'attachement des fibres parodontales à la racine et non dans la formation du ciment en soi (Bosshardt and Schroeder 1996). Des difficultés sont rencontrées avec le modèle du rongeur. En effet les séquences de différenciation des cémentoblastes, la formation du ciment pré-fonctionnel et l'attachement des fibres desmodontales se produisent en même temps; ils sont donc difficilement distinguables (Bosshardt and Schroeder 1996).

Malgré les nombreux efforts pour les comprendre, le ciment et sa formation restent très mystérieux : « *Despite all the progress on understanding cementum, additional fundamental questions remain, including on the origin of cementoblasts, the factors directing cementum formation, potential functions for cementocytes and prospects for directing cementum regeneration* » (Foster 2017).

## **1.2     *Au cœur du ciment acellulaire***

### **1.2.1    La composition du ciment acellulaire**

Les recherches pour la composition des tissus comme le ciment se font par immunohistochimie. La matrice du ciment est composée d'eau, de minéraux, de collagène et de macromolécules non collagéniques. Elle sert également de réservoir pour les facteurs de croissance et les cytokines (Zeichner-David 2006). Grâce à des analyses biochimiques, la composition de l'AEFC est connue. Comme pour l'os ou la dentine, environ 60-65% de l'AEFC est inorganique et consiste en des nano-particules minérales comme les cristaux d'hydroxyapatite, et à moindre échelle, des phosphates de calcium amorphes. La matrice organique restante est principalement composée de collagène de type 1 (Saygin, Giannobile, and Somerman 2000; Colard et al. 2016).

L'expression des protéines collagéniques qui stimulent la migration cellulaire, la prolifération, la synthèse des protéines et la minéralisation au cours de la formation des racines a été rapportée par plusieurs chercheurs. Des protéines multifonctionnelles telles que la fibronectine et la laminine sont présentes dans les premiers stades du développement de la racine (Zeichner-David 2006). Elles auraient des rôles de chimiotactisme et d'adhésion. D'autres protéines comme l'ostéopontine, l'ostéonectine, la tenascine, les sialoprotéines osseuses, des protéines de la matrice-émail ont également été signalées dans le ciment. En particulier, les sialoprotéines et l'ostéopontine se trouvent dans la jonction cémento-dentinaire. Ces dernières sont les protéines non collagéniques les plus importantes du ciment (Zeichner-David 2006; Auriol 2008), elles se trouvent principalement dans les espaces inter-fibrillaires. Elles sont donc en plus grande quantité dans l'AEFC de part la largeur plus importante de ses

espaces inter-fibrillaires à l'intérieur de sa matrice (Bosshardt 2005). Les cémentoblastes synthétisent et sécrètent également plusieurs glycosaminoglycanes : chondroïtine 4-sulfate, chondroïtine-6-sulfate, dermatane sulfate et chondroïtine non sulfatée (Yamamoto et al. 2004). Les odontoblastes, les ostéoblastes et les cémentoblastes expriment plusieurs protéines de la matrice cémentaire, comme l'ostéopontine (OPN), les sialoprotéines osseuses (BSP), l'ostéonectine, l'ostéocalcine ou la protéine-matrice dentine 1 (DMP-1) (Zeichner-David 2006). La présence de l'ostéocalcine reste controversée car elle n'a pas été retrouvée à chaque fois dans le même type de ciment. Certains l'ont trouvée dans le ciment cellulaire à fibres intrinsèques (Bronckers et al. 1994; Kagayama et al. 1997), d'autres dans le ciment acellulaire à fibres extrinsèques (Tenorio, Cruchley, and Hughes 1993; Kagayama et al. 1997).

#### **1.2.1.1 Des composants spécifiques au ciment ?**

Plusieurs protéines ont été évoquées comme spécifiques au ciment, par exemple CEM-1. Cependant rien n'est prouvé car la caractérisation et l'expression unique par les cémentoblastes de ces protéines n'ont pas été déterminées (Zeichner-David 2006). Pour étudier la cémentogénèse, il faudrait trouver des biomarqueurs spécifiques des cellules cémentoblastiques. Deux protéines ont été identifiées et pourraient servir de biomarqueurs spécifiques : GLUT-1 et CP 23 ou CAP (Zeichner-David 2006).

Le transporteur GLUT-1 est produit en grande quantité par les cémentoblastes et les cémentocytes, à l'inverse des cellules ostéoblastiques qui n'en produisent pas. Il pourrait

donc être utilisé pour différencier les lignées cémentoblastiques et ostéoblastiques (Zeichner-David 2006).

La protéine CP 23 a été isolée et semble prometteuse (Alvarez-Pérez et al. 2006). En effet, elle est exprimée in vitro par 98% des cémentoblastes et 15% des cellules du ligament parodontal in vitro. Bien que sa fonction est inconnue, elle pourrait être utilisée comme marqueur des cémentoblastes. La protéine de CP-23 est également exprimée par les cellules de la gaine de Hertwig (Alvarez-Pérez et al. 2006).

La CAP est une cellule collagénique qui sert dans l'attachement des cellules du mésenchyme à la matrice extracellulaire (K. Handa et al. 2002). Elle n'est retrouvée que dans le ciment (K. Handa et al. 2002). Un modèle prometteur pour étudier la cémentogénèse, notamment sur des follicules dentaires bovins, pourrait utiliser CAP comme biomarqueur pour la cémentogénèse (K. Handa et al. 2002).

Actuellement les protéines OPN et surtout BSP, bien que non spécifiques au ciment, sont les biomarqueurs les plus utilisés pour étudier la cémentogénèse (Ao et al. 2017).

### **1.3 *Le rôle central des pyrophosphates dans la régulation du ciment.***

#### **1.3.1 Le mécanisme**

L'homéostasie du phosphate inorganique (Pi) et des pyrophosphates (PPi) est essentielle au développement et à la maintenance des tissus durs de la cavité orale et du squelette en général (Foster et al. 2008).

La minéralisation des tissus durs se fait par le dépôt d'hydroxyapatite (HAP). Le PPi est connu pour être un inhibiteur de la précipitation de HAP (Fleisch and Bisaz 1962;

Fleisch, Russell, and Straumann 1966). Le PPi étant composé lui-même de Pi et de calcium ionique, il joue donc un rôle de régulateur central dans la minéralisation.

### **1.3.2 Les liens entre Pyrophosphates et les autres régulateurs.**

Les PPi semblent jouer un rôle central dans la cémentogénèse avec d'autres intervenants dont principalement les protéines qui sont au cœur de la minéralisation du squelette et des dents (Ao et al. 2017).

Cette famille de protéines appelée SIBLING (Small Integrin-Binding Ligand N-linked Glycoprotein) se compose principalement de la sialoprotéine osseuse (BSP), l'ostéopontine (OPN) et d'autres protéines comme DMP1 (Dentin Matrix Protein-1), DSP (Dentin Sialoprotein), DPP (Dentinephosphoprotein), MEPE (Matrix Extracellular Phosphoprotein) et ENAM (Enamelin) (Fisher et al. 2001; Fisher and Fedarko 2003).

OPN semble jouer un rôle important dans la minéralisation du ciment. Il inhibe la cristallisation du calcium via ses métabolites phosphorylés (Wang et al. 2008) et la précipitation des PPi en régulant indirectement l'expression de certains gènes associés aux PPi comme ANK, ENPP1 et TNAP (Ao et al. 2017). TNAP par exemple, déphosphoryle OPN et donc abaisse son pouvoir inhibiteur (Narisawa, Yadav, and Millán 2013).

BSP est la protéine la plus étudiée à ce jour. Plusieurs études ont montré sans équivoque son importance majeure dans la minéralisation des tissus durs. C'est une phosphoprotéine acide avec des propriétés de nucléation de l'HAP, de fixation aux cellules et liaison avec le collagène. Les modèles in vivo dans lesquels BSP a été retiré

du génome (*BSP null*) montrent une déficience des tissus minéralisés et notamment du ciment acellulaire (Soenjaya et al. 2015). Ceci marque un point important car le manque de ciment acellulaire conduit inévitablement à une déficience de l'attache parodontale engendrant potentiellement une cascade de malformations ou de déficits généraux dus à l'inefficacité de la mastication. Ao (Ao et al. 2017), renforce encore l'idée d'une implication de BSP dans la régulation des gènes associés au PPI. Ses résultats supposent que BSP et PPI dirigent ensemble la cémentogénèse mais que PPI n'est pas le chef d'orchestre.

Le rôle des protéines ENAM (Gullard et al. 2016), DPP et DSP (Chen et al. 2016) dans la minéralisation des tissus durs et la croissance dentocraniofaciale a été étudié *in vitro*. Elles semblent avoir un rôle dans la régulation de la minéralisation du squelette. Leur impact précis sur la cémentogénèse est pour le moment encore inconnu mais fait l'objet de recherches à venir.

Ces découvertes récentes ouvrent la voie à la compréhension de la cémentogénèse. Au vu des résultats encourageants sur les modèles *in vivo* et des technologies nouvelles, nul doute que les chercheurs vont accentuer leurs efforts futurs vers les liens entre Pi, PPI, protéines SIBLING et les rôles de BSP/OPN dans la cémentogénèse.

### 1.3.3 Le ciment acellulaire à fibres extrinsèques comme choix pour la recherche.

#### 1.3.3.1 La justification par l'archéozoologie.

Les archéozoologistes sont les premiers à s'être intéressés au ciment comme vecteur d'informations sur les sujets étudiés. Le ciment subit un cycle annuel d'évolution mais est soumis à des variations de vitesse de croissance à l'instar du tissu osseux. Cette évolution est marquée par une apposition de bandes cémentaires ( Illustration 3) à croissance rapide ou « zones » et lente ou « annuli » en alternance (Rendu 2007). Cette alternance donne un enregistrement saisonnier et est reconnue comme valable par la communauté scientifique.



*Illustration 3: Lignes incrémentales du ciment visibles sur coupe transversale de ciment dentaire humain au microscope à lumière polarisée avec un grossissement x20. Les flèches blanches indiquent les lignes incrémentales opaques et les flèches noires les lignes incrémentales translucides. La flèche rouge indique la limite de coupe de la racine.*

Source : Ralston Claira, USA ;

La constitution et la structure du ciment vont être modifiées par des changements dans la vitesse de formation des dépôts cémentaires. Le ciment dentaire est formé par la minéralisation des fibres desmodontales pendant la durée de la vie. Cette formation se déroule à un rythme périodique conduisant à des altérations dans l'orientation des cristaux minéraux qui peuvent être vues comme l'alternance de couches sombres et claires respectives, en images microscopiques, de ciment acellulaire à fibres extrinsèques. La régularité de la périodicité comme un rythme circannuel est bien documentée (Rendu 2007).

C'est le ciment acellulaire qui a été choisi par les scientifiques comme gold standard pour les études. En effet Lieberman (Lieberman and Meadow 1992; Lieberman 1993), en particulier, suggère que le ciment acellulaire possède une fonction de maintenance et de croissance pour garder la dent dans l'alvéole tandis que les dépôts de ciment cellulaire semblent ponctués de phases de repos des cémentocytes, ces derniers pourraient être déclenchés par des facteurs non saisonniers. En conclusion, chez le mammifère, le ciment acellulaire est plus sujet aux changements saisonniers de diététique et à la condition physique en général (Lieberman 1993). Une part importante des études ont été conduites sur les animaux, néanmoins elles ont poussé la cémento-chronologie chez l'homme à suivre les mêmes indications.

### **1.3.3.2 *L'alternance des bandes, un phénomène encore incompris***

Le phénomène d'alternance des bandes est aujourd'hui validé mais les causes restent à ce jour non élucidées. La méconnaissance de la cémentogénèse et l'ignorance du déterminisme génétique et environnemental sont ici les deux principaux freins à la compréhension de ce phénomène. De nombreux auteurs ont débattu pour mettre à jour

une pléiade de phénomènes impactant l'alternance des bandes. Des études sur les mammifères montrent que des facteurs exogènes (variations du cycle circadien, pluviométrie, température etc.), des facteurs endogènes (cycles hormonaux et reproductifs) en passant par les facteurs biomécaniques intrinsèques à l'appareil manducateur ont tous leur importance. (Grue and Jensen 1979; Burke and Castanet 1995; Cool et al. 2002; Rendu 2007).

### ***1.3.3.3 La microstructure du ciment est-elle responsable de l'alternance ?***

Pour connaître la raison de l'apparence des couches de ciment, Cool (Cool et al. 2002) a réalisé une analyse microscopique de la microstructure du ciment. Contre toute attente ce n'est pas le plan de coupe qui est responsable de la biréfringence du ciment mais la phase minérale. Ceci a été confirmé par analyse au microscope à balayage électronique. Ce dernier n'a également montré aucun changement dans les densités de calcium, phosphate ou soufre dans la largeur du ciment. En effet, si les couches du ciment sont causées par les fluctuations d'apposition de la matrice et comme la minéralisation se poursuit à un taux uniforme, des variations logiques dans les proportions de soufre auraient du être attendues. Cependant, soufre, calcium et phosphate ont été retrouvés avec une répartition homogène dans l'ensemble du ciment, suggérant ainsi que les couches de croissance contrastées du ciment sont probablement causées par des différences structurelles. Dès lors, il est possible de dire que l'orientation et/ou la taille des cristaux semblent responsables de l'apparition de couches de ciment (Cool et al. 2002).

De plus, l'observation des fibres de collagène dans le ciment a montré que l'orientation du collagène n'a pas changé entre les couches adjacentes dans le ciment. Cette observation sert à renforcer l'argument selon lequel les cristaux minéraux sont responsables des couches observées dans le ciment.

Dans le tissu osseux, il a été observé des divergences entre les lamelles sombres et claires en ce qui concerne les orientations des faisceaux de collagène et de cristaux d'apatite (Ascenzi et al. 2003).

Colard (Colard et al. 2016) indique, lui, que l'alternance des bandes pourrait être « *en partie liée à la composition minérale/organique, avec un rapport minéral/organique plus élevé dans les lignes sombres par rapport aux lignes brillantes.* »

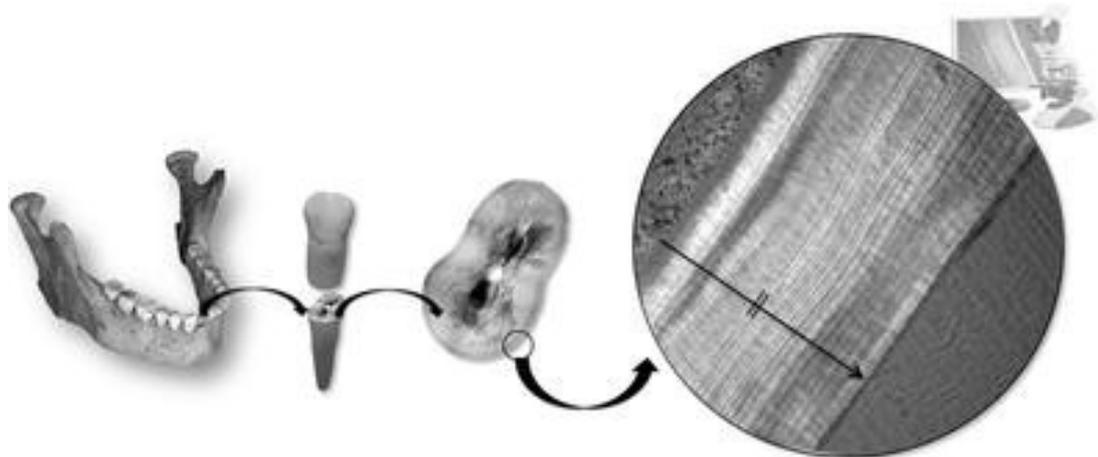
Dans les dernières publications utilisant le synchrotron pour étudier le ciment acellulaire de différents mammifères dont l'Homme, des résultats intéressants concernant le calcium, le phosphore, le strontium et le zinc sont ressortis. Le calcium, le phosphore et le zinc atteignent des pics de valeur qui correspondent à l'intensité de diffraction de l'hydroxyapatite carbonatée observée en microscopie optique. Ces résultats suggèrent donc que l'alternance des bandes serait liée aux changements de teneurs en calcium, phosphore ou zinc, c'est à dire à la composition intrinsèque de l'hydroxyapatite carbonatée et non de différences dans l'orientation des fibres collagènes (Naji et al. 2017).

Le ciment est le tissu minéralisé qui retient le plus le zinc. Ce dernier se retrouve en plus grande concentration pendant les phases actives de minéralisation du ciment (Stock et al. 2017; Dean et al. 2018). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le zinc

réduit la solubilité de l'hydroxyapatite. Naturellement présent pour répondre aux stress imposés par le remodelage permanent du système d'attache de la dent, le ciment se doit de résister à la résorption dictée par les ostéoclastes (Dean et al. 2018).

#### **1.4 La TCA chez l'Homme, son utilité et ses limites.**

La cémentochronologie ou méthode TCA ( Illustration 4) est une méthode de comptage qui permet d'estimer l'âge au décès d'un individu. Comme décrit plus haut, elle est basée sur le ciment acellulaire, et conçue à l'origine pour regrouper des informations sur des populations animales anciennes quand les phénomènes taphonomiques rendent très difficiles les observations. Les anthropologistes l'ont introduite au début des années 80 par Stott et al. (1982). Elle n'a cessé d'évoluer autour de débats sur sa mise en œuvre et autour de sa justification scientifique. Aujourd'hui la méthode est standardisée avec le protocole certifié ISO-9001 (Colard et al., 2015). Plusieurs études contradictoires ont été publiées sur la TCA. La précision dans l'estimation de l'âge au décès varie d'un auteur à l'autre et les techniques utilisées sont souvent différentes. En premier lieu, la TCA ne permet pas d'identifier formellement un individu (Wittwer-Backofen, Gampe, and Vaupel 2004). La TCA n'est également pas la seule méthode pour estimer l'âge au décès, elle n'est apparue qu'après les méthodes dites « classiques » comme l'usure des facettes articulaires par exemple (Wittwer-Backofen, Gampe, and Vaupel 2004).



*Illustration 4: Représentation schématique de la procédure. Du matériel archéologique à l'image au microscope.*

*Source : Colard 2015*

Aujourd'hui elle est reconnue comme une méthode efficace en paléanthropologie (Naji et al. 2014; Colard et al. 2015), là où les méthodes classiques sont freinées par les phénomènes taphonomiques et/ou en cas de pathologie osseuse décelée par le paléanthropologue (Bertrand et al. 2016). Ceci s'explique simplement car les dents sont moins exposées que le reste du corps et restent protégées de l'extérieur par leurs cryptes osseuses (Meinl et al. 2008). Dans les cas où les squelettes sont très fragmentés, elle est même la seule technique de choix (Jankauskas, Barakauskas, and Bojarun 2001). Cependant dans les cas où le matériel anthropologique reste bien conservé, les techniques anatomiques et la TCA ont des résultats comparables (Gauthier and Schutkowski 2013).

Ainsi TCA et méthodes traditionnelles devraient être utilisées en concomitance dès que possible (Colard et al. 2015).

Les différents facteurs pouvant impacter les résultats tels que le sexe, les maladies parodontales ou le type de dent ont été des sujets de controverse (Wittwer-Backofen, Gampe, and Vaupel 2004; Dias, Beaini, and Melani 2010). Il a été relayé que le sexe et les maladies parodontales n'influencent pas les résultats de la TCA (Aggarwal, Saxena, and Bansal 2008). La non-ingérence de ces différents aspects a poussé les auteurs à voir la TCA comme une méthode valable pour apprécier l'estimation de l'âge au décès et à pouvoir appliquer cette méthode à une population générale (Aggarwal, Saxena, and Bansal 2008). Une autre étude relate au contraire que l'estimation de l'âge au décès dans un contexte exempt de maladie parodontale donne une précision de l'âge de +/- 1,6 ans mais donne une précision de +/- 22,6 ans dans le cas d'une maladie parodontale (Dias, Beaini, and Melani 2010). Au final, Bertrand (Bertrand et al. 2016) ne conseille pas la TCA dans les cas de maladies parodontales chroniques et/ou sévères.

Pour notre étude, des images en microscopie à lumière transmise utilisées pour la TCA, servent de bases référentielles.

## **1.5 *Le métabolisme phosphocalcique.***

### **1.5.1 Généralités.**

Calcium (Ca) et Phosphate (P) interviennent à différents niveaux du corps humain et notamment dans la minéralisation osseuse. Plus de 99 % du Ca et environ 85 % du P se trouvent dans les cristaux d'hydroxyapatite formant les tissus durs. Ils représentent respectivement 1,43 % et 0,79 % du poids total d'un homme de 70kg. Ces masses mettent en exergue leurs importances majeures dans le métabolisme. Le phosphate sera

retrouvé dans le plasma sous une forme dite inorganique alors que le calcium présente différentes formes (calcium ionisé, calcium lié aux protéines ou lié à l'albumine).

Le produit phosphocalcique (phosphatémie multipliée par la calcémie) est un paramètre important en médecine. En effet, une augmentation du produit peut engendrer des calcifications extraosseuses, et *a contrario*, une diminution provoquerait une altération de la minéralisation (Courbebaisse and Souberbielle 2011).

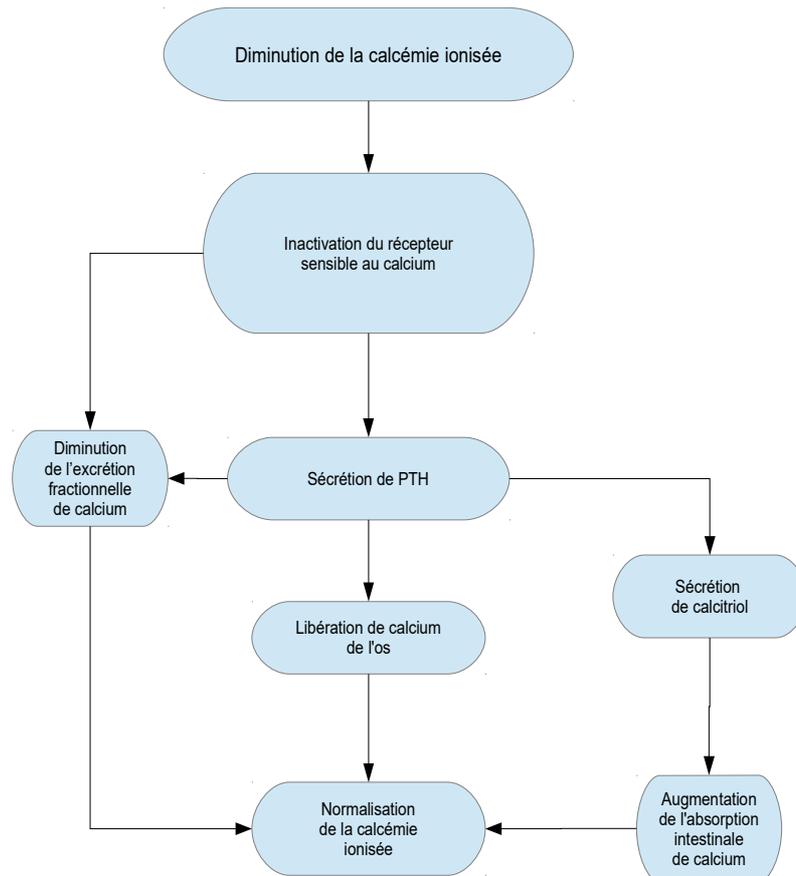
### **1.5.2 Régulation**

Pour le calcium, seul le calcium ionisé est régulé et ce dans une fourchette de valeurs très étroite. La balance calcique est calculée grâce à la différence entre entrée et sortie de calcium dans le liquide extra-cellulaire. Elle varie sous les influences de trois organes que sont l'os, le rein et l'intestin.

Le mécanisme est complexe ( Illustration 5) et se régule autour de trois systèmes résumés comme suivant (Courbebaisse and Souberbielle 2011) :

- Un système régulé comprenant la balance calcique et représenté par le calcium ionisé.
- Un système de stockage : le squelette est un réservoir où l'organisme vient puiser le calcium dont il a besoin.
- Un système régulateur sous l'action des hormones calciotropes (parathormone et 1-25 dihydroxyvitamine D<sub>3</sub> ou calcitriol). A la surface des reins et des glandes parathyroïdiennes, des récepteurs sensibles au calcium détectent les variations de calcium ionisé et engendrent sa régulation via les hormones calciotropes.

Le phosphatémie est également régulée, presque exclusivement par le rein, dans une fourchette de valeurs plus large. Le mécanisme de régulation n'est pas réellement connu à ce jour (Courbebaisse et al. 2011).



*Illustration 5: Schéma de la régulation du métabolisme phosphocalcique par les hormones calcitropes (PTH = parathormone). Source : Courbebaisse 2011*

### 1.5.3 Les maladies impactant le métabolisme phosphocalcique.

Un grand nombre de maladies impacte ou est impacté par une modification anormale du métabolisme phosphocalcique. La formation d'hydroxyapatite étant directement en lien

avec le calcium et le phosphate, toute perturbation de ce métabolisme encore méconnue pourrait impacter la formation des tissus minéralisés donc du ciment dentaire.

Les différentes pathologies ou états pathologiques sont listés ci dessous :

- Ostéoporose (Drake et al. 2015)
- Fractures osseuses (Dhiman et al. 2018)
- Carence en vitamine D et rachitisme dans l'enfance (rachitisme vitamino-résistant, ostéomalacie) (Doppelt 1984; Ward et al. 2007)
- Carence en fer, anémie, malnutrition (Zhao et al. 2014)
- Maladie de Paget (Langston and Ralston 2004)
- Dysplasie fibreuse (Imel and Econs 2007)
- Hyperparathyroïdie primaire, insuffisance rénale chronique associée à une hyperparathyroïdie secondaire, hyperparathyroïdie tertiaire (Courbebaisse and Souberbielle 2011).
- calcémies malignes et paranéoplasiques

## **1.6 *Grossesse, allaitement et métabolisme phosphocalcique.***

Pouvoir retracer les événements majeurs, pathologiques ou physiologiques, d'un individu, en analysant ses tissus durs, est un objectif majeur des paléoanthropologues. Le ciment, de par sa nature et sa physiologie, est un tissu dur qui pourrait contenir beaucoup d'informations sur la vie d'une personne.

La reproduction, processus constitutif intrinsèque à toute forme de vie, fait l'objet de recherches depuis toujours. En prenant en compte l'hypothèse qu'un changement du métabolisme phosphocalcique entraînerait une modification dans la formation des cristaux d'hydroxyapatite, il se pourrait, dès lors, qu'une visualisation sur le ciment soit envisageable.

### **1.6.1 La grossesse et l'allaitement, une période de changements.**

L'homéostasie du calcium est significativement altérée pendant la grossesse et l'allaitement. La mère s'adapte différemment pendant ces deux périodes alors que les demandes en calcium sont similaires (Kovacs 2005). Pendant la grossesse, la part de calcium transférée au fœtus correspond à 2-3 % du calcium total de la mère (Salari and Abdollahi 2014). Un fœtus à moyen terme contient environ 30g de calcium, 20g de phosphore et 0,8g de magnésium. Environ 80% du minéral s'accumule au cours du troisième trimestre et pendant les 6 dernières semaines de grossesse, 300 à 350mg de calcium sont transférés par jour. Le nouveau-né a besoin de 200mg de calcium par jour dans le lait pendant les 6 premiers mois et de 120 mg de calcium dans le lait pendant les 6 mois suivants (Kovacs 2016).

Pendant l'allaitement, 210 mg de calcium sont transférés chaque jour dans le lait maternel (Kovacs 2017) et cette demande de calcium est satisfaite par une perte de 5 à 10% de la teneur en minéraux squelettiques pendant les 6 mois de lactation (Kovacs 2005). Cette demande peut augmenter jusqu'à 500-1200 mg en cas grossesse gémellaire ou de triplés (Kovacs 2017).

Automatiquement, les mécanismes de régulation se mettent en place. La réserve rénale, l'absorption intestinale, et plus important ici, la résorption osseuse sont stimulées. A tel point que la densité minérale osseuse se voit diminuer d'environ 3 %. Cette perte est compensée par la mise en place d'une pléiade de mécanismes et d'ajustements tels que les changements dans la PTH, le poids corporel ou encore le taux de dihydroxyvitamine D<sub>3</sub> (Salari and Abdollahi 2014).

La PTHrP (PTH regulated peptide) est sécrétée dans les tissus maternels et foetaux. Elle a plusieurs actions comme augmenter la dihydroxyvitamine D<sub>3</sub>, supprimer la PTH, contrôler le transport du calcium placentaire et protéger le squelette maternel (Salari and Abdollahi 2014; Kovacs 2016; Kovacs 2017). Peu d'éléments sur la régulation du calcium pendant la grossesse sont connus. Il semble cependant clair que la PTHrP joue un rôle important.

L'impact de la lactation sur le squelette n'est pas uniforme (Kovacs 2017). Le fait que le ciment soit touché par la lactation est donc une hypothèse tout à fait intéressante, néanmoins il ne serait donc pas touché de la même façon que l'os.

## 2. MATÉRIELS ET METHODES

Cette étude préliminaire porte sur deux échantillons dentaires, issus de deux femmes dont les antécédents médicaux et d'histoire de vie étaient connus. Pour chaque échantillon, une image en microscopie à lumière transmise et une analyse en microspectrométrie Raman du ciment acellulaire ont été effectuées.

**L'objectif principal de ce travail était d'observer les relations entre des anneaux élargis correspondant aux périodes de grossesses observées en lumière polarisée et les variations physico-chimiques observées sur les spectres Raman.**

### 2.1 Préparation des échantillons

Pour réaliser les échantillons, les dents ont été incluses dans de la résine pour être coupées puis montées sur lames et lamelles. Le protocole utilisé était celui certifié ISO-9001 (Colard et al., 2015).



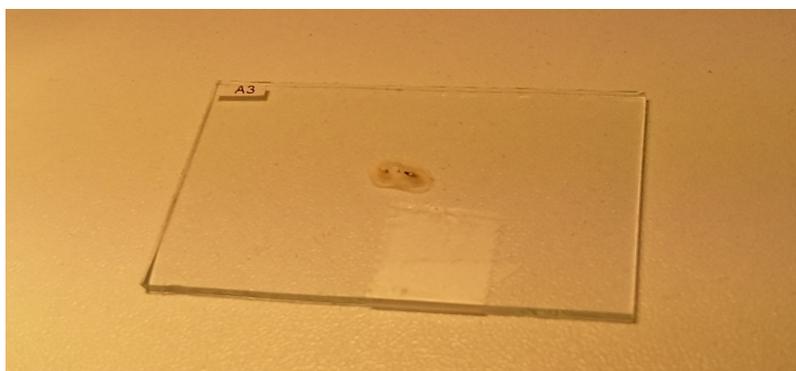
*Illustration 6: Scie Isomet de Buehler®*

L'inclusion s'est fait à l'aide de moules dans lesquels de la résine araldite 20/20 était coulée. Le temps de polymérisation total était de 24 heures.



*Illustration 7: Coupe au tiers médian en cours d'exécution*

Les coupes ont ensuite été réalisées au niveau du tiers médian de la racine (Illustration 7) avec une scie de précision (isomet de Buehler® (Illustration 6)) pour obtenir des coupes transversales de 100 $\mu$ m.



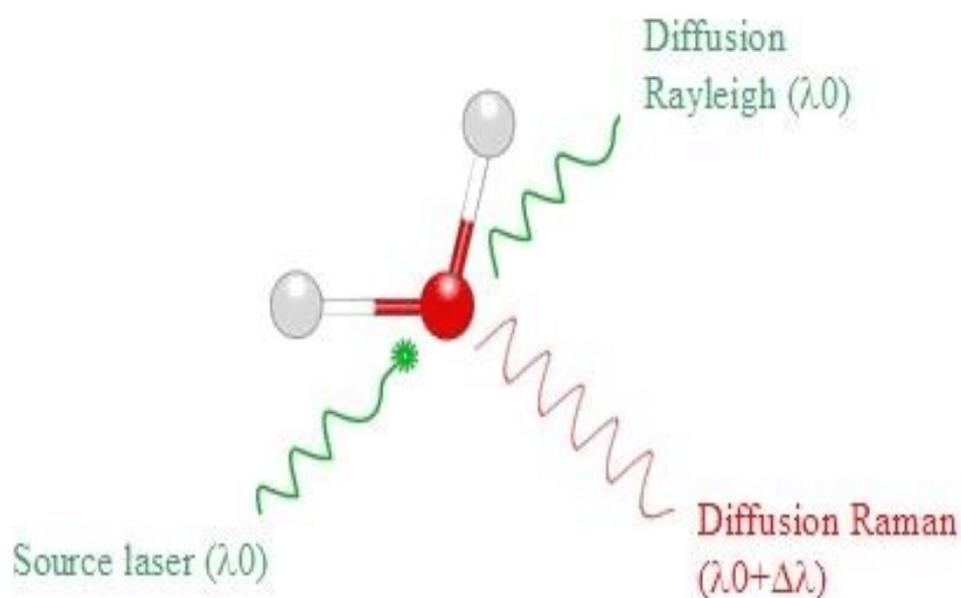
*Illustration 8: Photo de la lame préparée avant son passage au spectromètre.*

Une fois les coupes terminées, elles ont été polies puis nettoyées avec de l'alcool. Elles étaient ensuite collées sur une lame (Illustration 8). Une photo de la coupe au microscope était finalement réalisée sur une zone où les anneaux cémentaires étaient visibles.

## 2.2 La spectrométrie de vibration par diffusion Raman

### 2.2.1 Principes

La microspectrométrie Raman est une spectrométrie vibrationnelle. Elle permet d'analyser la composition d'échantillons en sondant les vibrations des molécules. Ici l'analyse porte sur les molécules d'hydroxyapatite carbonatée et sur la trame organique



*Illustration 9: Schéma des interactions entre source laser et molécule donnant lieu aux diffusions Raman. Source : Le Pogam 2016.*

composée essentiellement de collagène de type I. Elle peut donner des informations avec une précision d'un micron sans détruire l'échantillon.

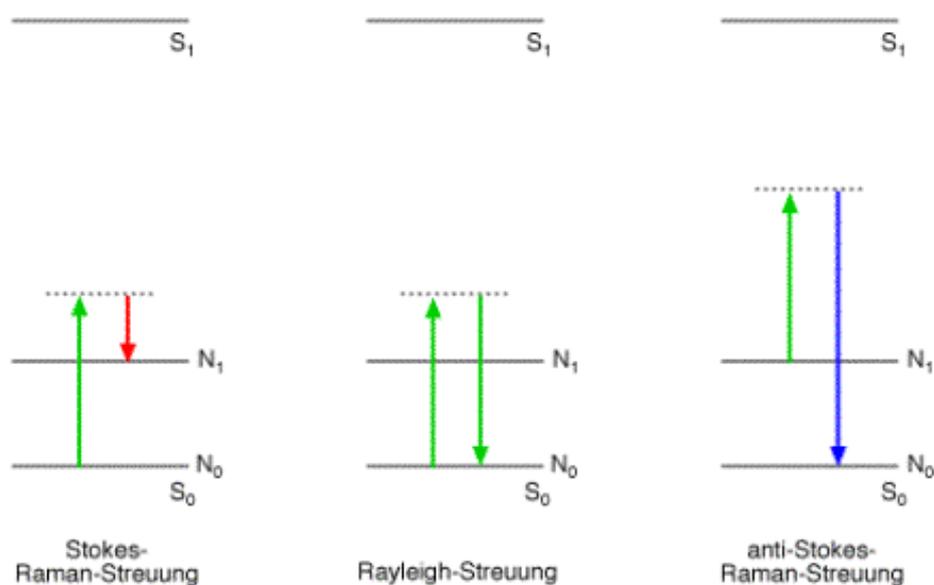
La technique se base sur l'interaction entre la lumière et la matière. Le principe est donc d'analyser la lumière diffusée par un échantillon quand il est soumis à un rayonnement monochromatique de type LASER ( Illustration 9).

Les photons incidents utilisés ici ont une énergie très supérieure à l'énergie de vibration. Il y aura donc diffusion. Par analogie, la spectroscopie infrarouge utilise des photons dont l'énergie correspond à un niveau de vibration particulier, ils seront absorbés, donc sans diffusion. Deux types de diffusions peuvent se produire ( Illustration 10) :

- Rayleigh (=élastiques) si les photons incidents et diffusés sont de même énergie (flèche verte).
- Raman (=inélastiques) si les photons incidents et diffusés sont d'énergies différentes, avec plus précisément :
  - Un effet Stokes si le photon diffusé est d'énergie plus faible que celle du photon incident. Le photon incident lègue alors à la molécule au repos une quantité d'énergie qui correspond à la transition de l'état vibrationnel fondamental à l'état excité. Plus précisément, si l'énergie vibratoire de la molécule est augmentée après collision avec le laser, l'énergie des photons diffusés est alors diminuée de la même quantité et, par conséquent, peut être détectée à des longueurs d'onde plus grandes (flèche rouge).
  - Un effet anti-Stokes peut se produire. Dans ce cas, la molécule excitée cède au photon incident une quantité d'énergie permettant le retour de l'état excité

à l'état fondamental. La molécule doit donc déjà être dans un état vibrationnel avant la collision. Plus précisément, si l'énergie vibratoire de la molécule est diminuée après la collision alors l'énergie des photons diffusés est augmentée de la même quantité et, par conséquent, peut être détectée à des longueurs d'onde plus faibles (flèche bleue).

C'est la diffusion Raman Stokes qui contient l'information sur la composition et sur la structure des molécules.



*Illustration 10: Diagrammes représentant le niveau d'énergie des diffusions Raman et Rayleigh.  $N_0$ ,  $S_0$  : États fondamentaux vibrationnels et électroniques.  $N_1$ ,  $S_1$  : premiers états excités vibrationnels et électroniques. Lignes pointillées : États virtuels. Source : [www.raman.de](http://www.raman.de).*

Les spectres d'un même élément se ressemblent. Un spectre d'os sera très ressemblant à un spectre de dent du fait de leurs compositions similaires ; cependant chaque molécule possède un spectre propre (Penel et al. 2005).

## 2.2.2 Fonctionnement

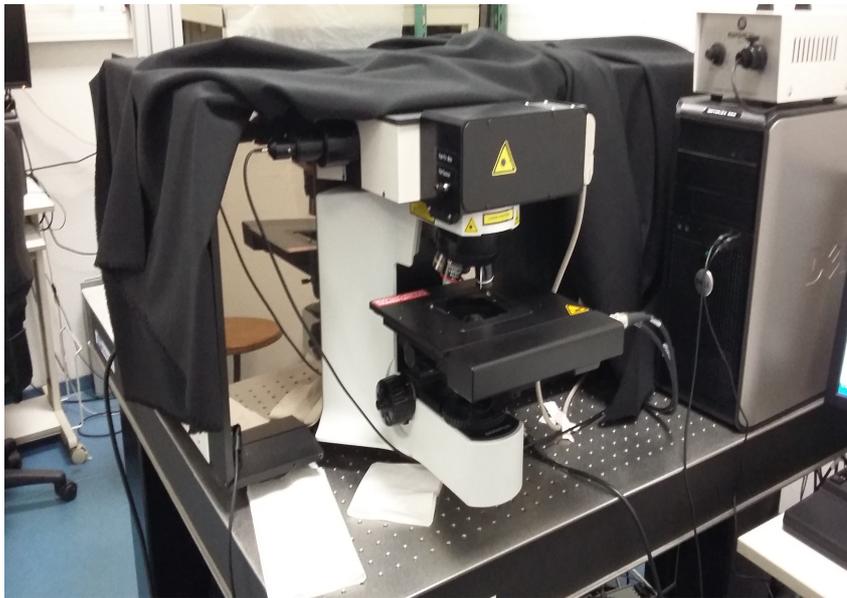
L'instrument utilisé ici est un microspectromètre confocal OMARS89® ( Illustration 11) (Jobin-Yvon, France, Villeneuve d'Ascq) équipé d'un laser hélium-néon ( $\lambda=632,8$  nm).



*Illustration 11: microscope intégré au spectromètre et réglé avec un zoom x100.*

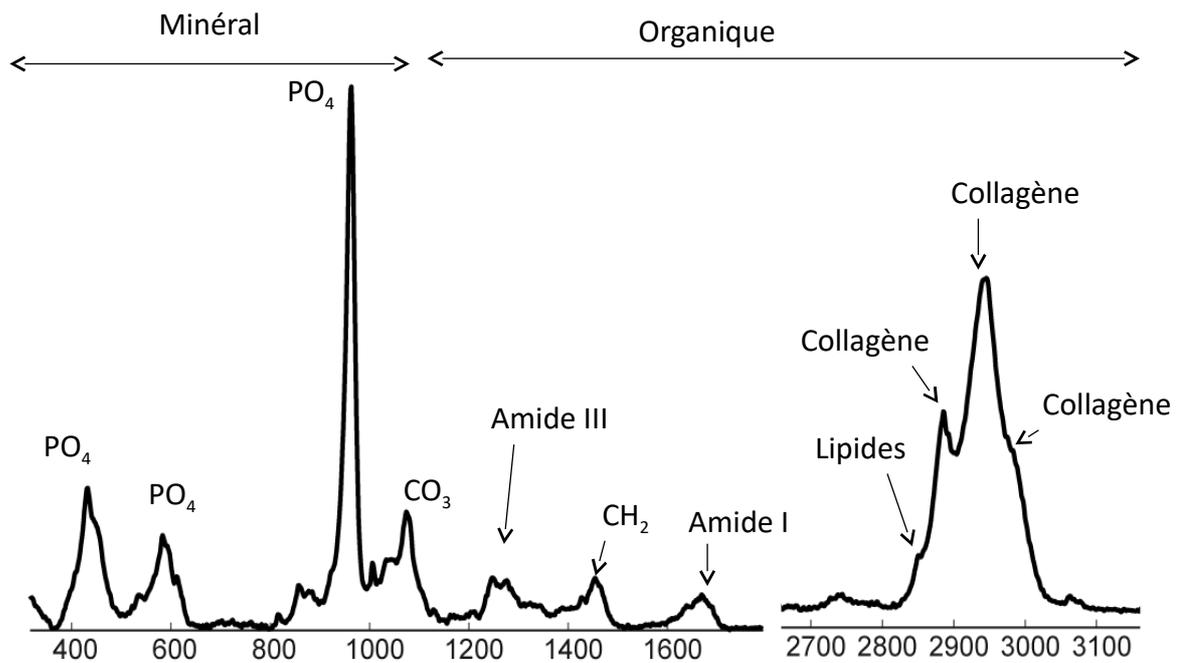
L'objectif x100 du microscope ( Illustration 12) permet d'avoir une taille de spot proche du micromètre. La zone à analyser et les paramètres du Raman sont prédéfinis dans le logiciel LabSpec.

Deux modes sont disponibles. Le mode ponctuel permet de choisir un endroit précis manuellement. Le mode « imagerie Raman » permet de sélectionner une zone délimitée. L'échantillon est fixé avec un point de cire pour éviter tout mouvement pendant l'analyse. Un faisceau LASER d'une longueur d'onde de 632 nm est guidé jusqu'à



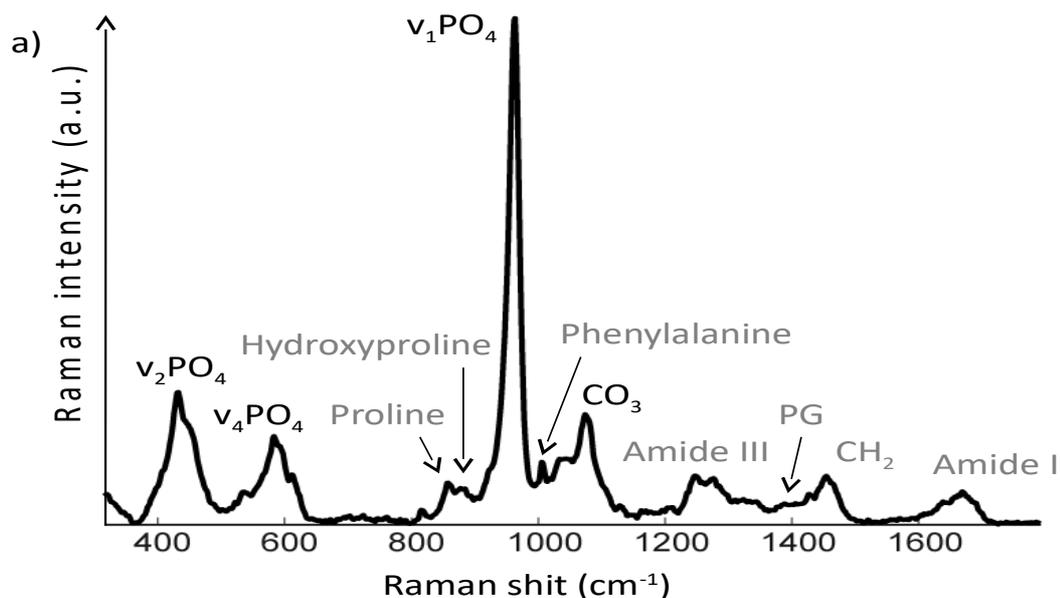
*Illustration 12: Photo du microspectromètre confocal OMARS89®*

l'échantillon par un dispositif optique. L'échantillon diffuse ensuite la lumière. Un filtre Notch filtre les diffusions Rayleigh et seules les diffusions Raman Stokes sont gardées. Ces dernières sont ensuite décomposées en longueur d'onde individuelles via un Réseau (fonctionnant comme un prisme) pour être enregistrées sur le capteur CCD. Le réseau permet d'avoir un domaine spectral d'analyse allant de  $800\text{ cm}^{-1}$  à  $1700\text{ cm}^{-1}$ , avec une résolution de  $2\text{ cm}^{-1}$ . Le détecteur CCD a une taille de  $1024 \times 256$ .



*Illustration 13: Spectre typique d'un tissu minéralisé caractérisé par sept bandes principales (960, 1046, 170, 1244, 1270, 1350 et 1669  $\text{cm}^{-1}$ ). Les 4 premières bandes correspondent à la phase minérale, les 3 suivantes à la phase organique.*

Le spectre Raman est ainsi collecté et envoyé vers l'ordinateur. Grâce au logiciel LabSpec, les données sont acquises puis les spectres sont traités pour devenir lisibles en éliminant la fluorescence (Illustrations 13 et 14).



*Illustration 14: Spectre de ciment acellulaire.*

Les analyses portent sur trois paramètres étudiés via le logiciel MatLab : le rapport minéral/organique, le taux de carbonate ou carbonatation et la cristallinité. Ces trois rapports de bandes sont choisis car les travaux qui ont déjà été effectués dessus ont été validés (Falgayrac et al. 2010).

- Le rapport minéral/organique s'obtient en faisant  $v_1\text{PO}_4 / \text{CH}_2$  : plus il est élevé plus la part minérale est importante et l'image tendra vers le blanc.

- Le taux de carbonate s'obtient en faisant  $v_1\text{CO}_3/v_1\text{PO}_4$  : Plus il est élevé, plus la part du carbonate par rapport au phosphate est importante et l'image tendra vers le blanc.
- La cristallinité est l'inverse de la largeur à mi hauteur du  $v_1\text{PO}_4$  (1/largeur mi hauteur). Il donne une idée sur l'organisation des molécules de  $\text{PO}_4$ . Sur le spectre plus la bande est fine plus les molécules sont bien organisées.

### 2.2.3 Technique d'analyse

Les résultats sont interprétés par trois observateurs dont deux expérimentés et un débutant. Les observateurs ont travaillé à l'aveugle, sans connaître la date de prélèvement, le nombre et âges des grossesses et les antécédents médico-chirurgicaux.

Les images Raman ont été acquises sur les coupes transversales de plusieurs échantillons. Deux échantillons ont été sélectionnés en fonction de la qualité de leurs images: A3 et A9. A partir des images et du logiciel, les paramètres physico-chimiques (PCP) ont été évalués et leurs distributions spatiales reconstruites. Pour chaque échantillon une image en lumière transmise d'une coupe de ciment correspondant est analysée. Seules ces dernières ont été interprétées par les trois observateurs.

## 3. RÉSULTATS

### 3.1 Échantillon A3

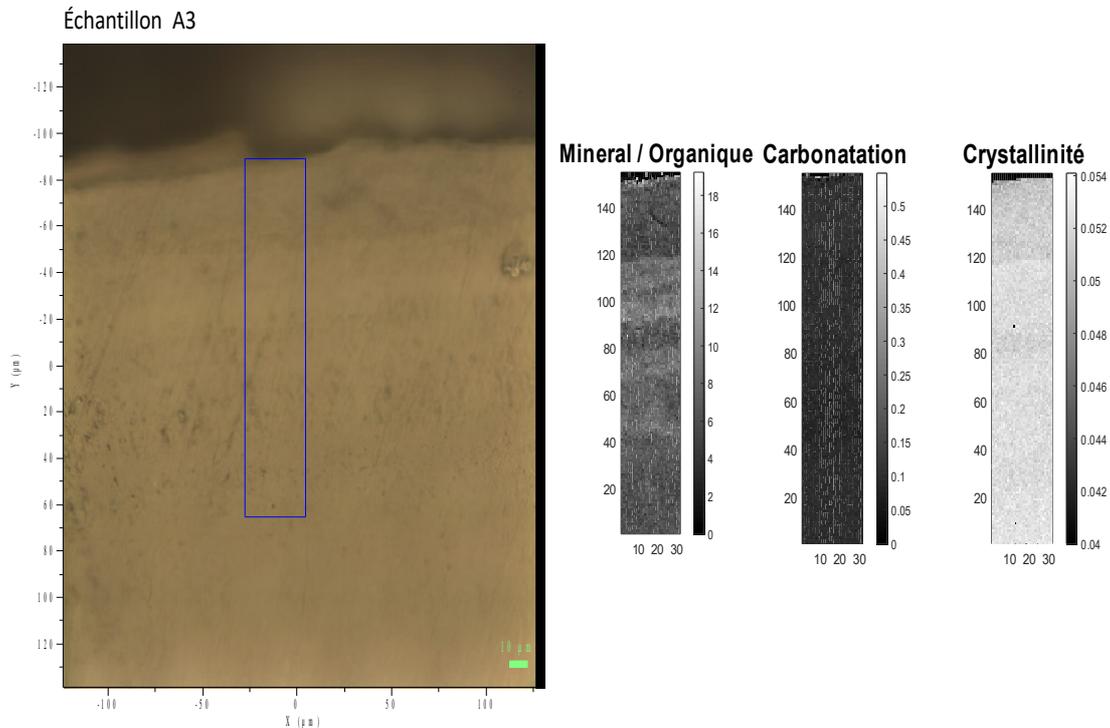


Illustration 15: Figures de gauche à droite : l'image optique x100 de l'échantillon ; le rapport d'intensité minérale / organique ; la carbonatation de type B ; la cristallinité. Le cadre bleu représente la zone étudiée par le spectromètre.

Visuellement, les variations de luminosité sur l'image en réflexion sont symétriques aux variations visibles dans le rapport minéral/organique et aux variations de cristallinité (Illustration 15). Une bande se distingue facilement du reste de l'image (bande 1) et une autre est plus discrète (bande 2). La largeur du ciment est de 150µm pour cet échantillon. Pour calculer la position des bandes sur le ciment, le logiciel imageJ a été utilisé. Une droite perpendiculaire aux bandes, prenant son départ au niveau de la couche granuleuse de Tomes et arrivant à l'extrémité externe du ciment a été tracée et

ce sur chaque image (Illustrations 15 et 16) ; elle représente la largeur du ciment. Différentes droites prenant le même point de départ et la même direction mais s'arrêtant au niveau des bandes visibles sont ensuite tracées. Il en résulte un ratio en pourcentage définissant la position de la bande sur le ciment.

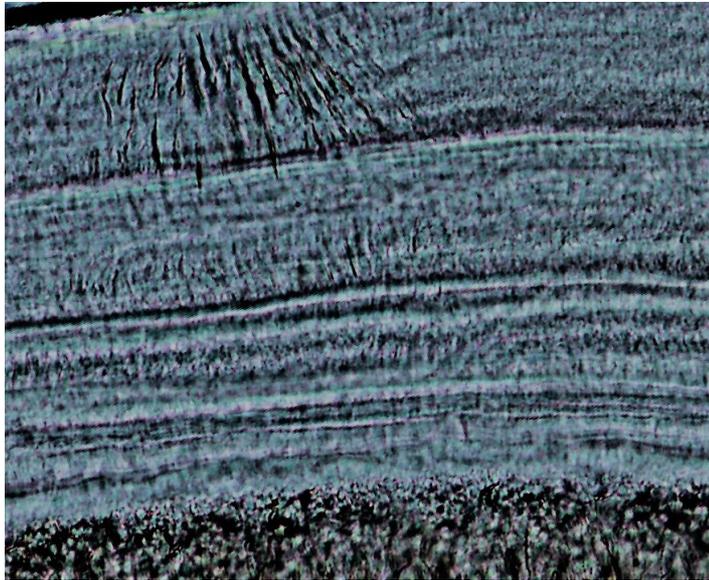
**Bande 1 :**

- Bande de 10  $\mu\text{m}$  allant de 40 à 50 $\mu\text{m}$  sur l'image en réflexion.
- En partant de la couche granuleuse de Tomes, cette bande se situe à 44% de la largeur total du ciment.
- Elle correspond à une augmentation du rapport minéral/organique allant de 45 à 55 $\mu\text{m}$ .
- La cristallinité et la carbonatation de type B ne donnent pas d'informations précises sur cette bande

**Bande 2 :**

- Bande de 35 $\mu\text{m}$  allant de -10 à -45 $\mu\text{m}$  sur l'image optique.
- En partant de la couche granuleuse de Tomes, cette bande se situe entre 58 et 75 % de la largeur total du ciment.
- Elle correspond à une augmentation du rapport minéral/organique allant de 90 à 115 $\mu\text{m}$ .
- La carbonatation de type B ne donne aucune information.

- La cristallinité croît symétriquement à l'augmentation du rapport minéral/organique.



*Illustration 16: Coupe transversale de ciment acellulaire sur l'échantillon A3, lumière transmise, x40.*

Sur l'image en lumière transmise (Illustration 16), les résultats pour chaque observateur sont :

- **Observateur 1 (expérimenté) :**
  - 39 anneaux comptés.
  - 3 anneaux élargis correspondant aux anneaux 8, 16 et 27.
    - ils sont appelés BTA 1, BTA 2 et BTA 3<sup>1</sup>
- **Observateur 2 (expérimenté) :**

---

1 : BTA pour Broad Transluscent Annulation.

- 38 anneaux comptés
  - 3 anneaux élargis correspondant aux anneaux 7/8, 16 et 27
- 
- **Observateur 3 (débutant) :**
    - 22 anneaux comptés dont 10 anneaux élargis

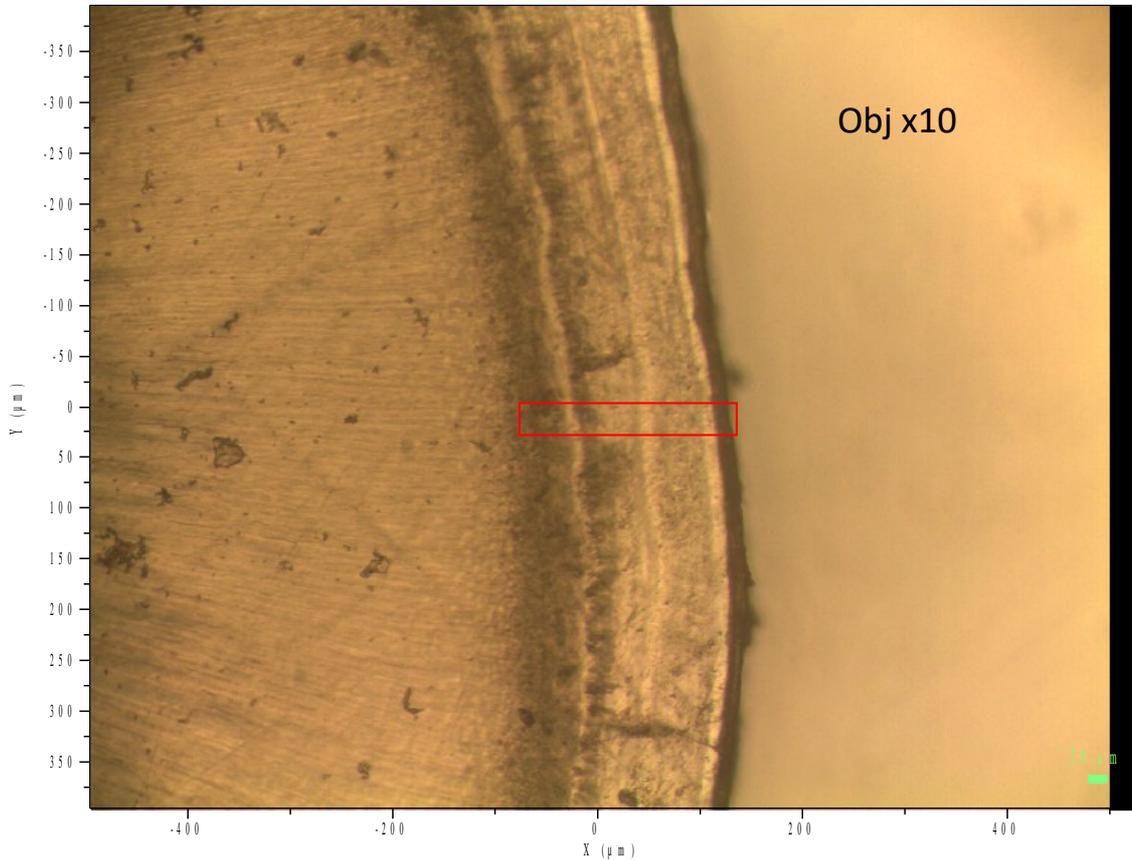
Les trois anneaux élargis visibles sont situés respectivement à 20 %, 39 % et 68 % de la largeur du total du ciment.

### **3.1.1 Comparaison entre BTA et Raman pour A3**

En comparant l'image en lumière transmise (Illustration 16) et l'image en réflexion (Illustration 15) obtenue avec le microscope du spectromètre et grâce au logiciel ImageJ, il est possible d'observer que :

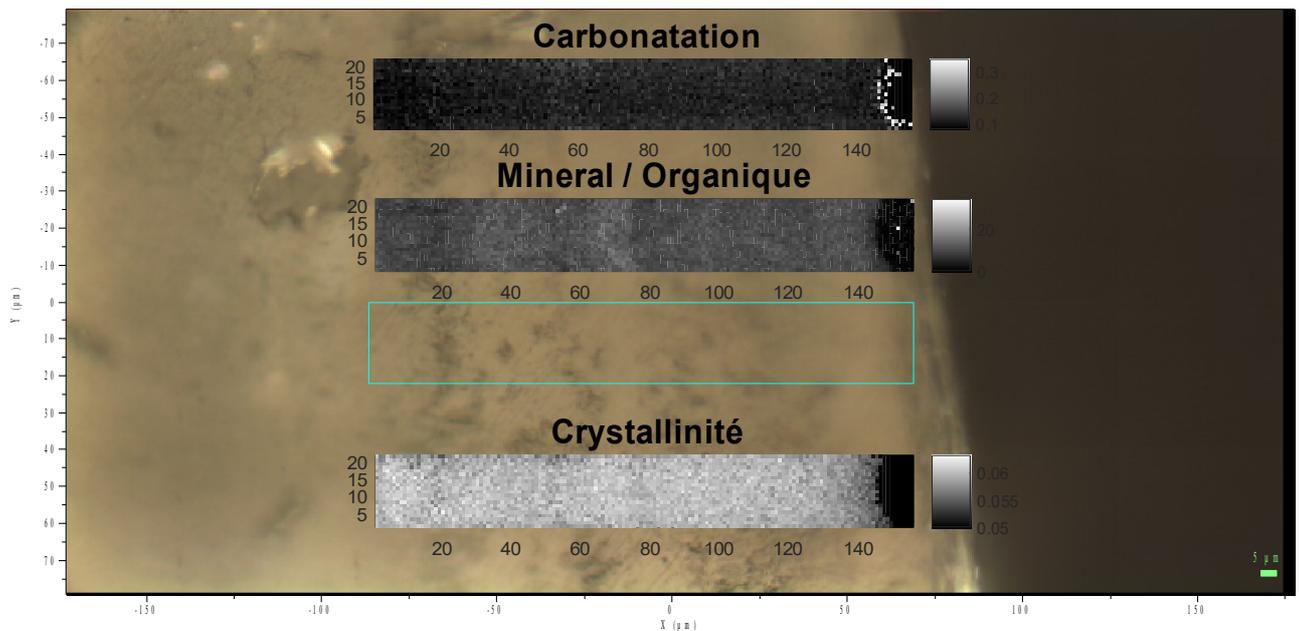
- La bande 1 correspond à l'anneau 27. Elle est cependant plus large que l'anneau et en englobe plusieurs.
- La bande 2 correspond au site de l'anneau 16 avec une marge d'erreur de 5%.
- L'anneau 8 n'est visible que sur l'image en lumière transmise.

### 3.2 Échantillon A9



*Illustration 17: Photo de l'image optique x10 de l'échantillon A9*

Sur cette image (Illustration 17), il existe deux zones d'intérêt : la bande claire au milieu du ciment et la bande claire à l'extrémité externe du ciment. Une image en lumière transmise avec un plus fort grossissement permet de compter les anneaux pour mieux se repérer (Illustration 19).



*Illustration 18: Photo de l'image en lumière réfléchi de l'échantillon A9 x100 avec les résultats obtenus au Raman superposés.*

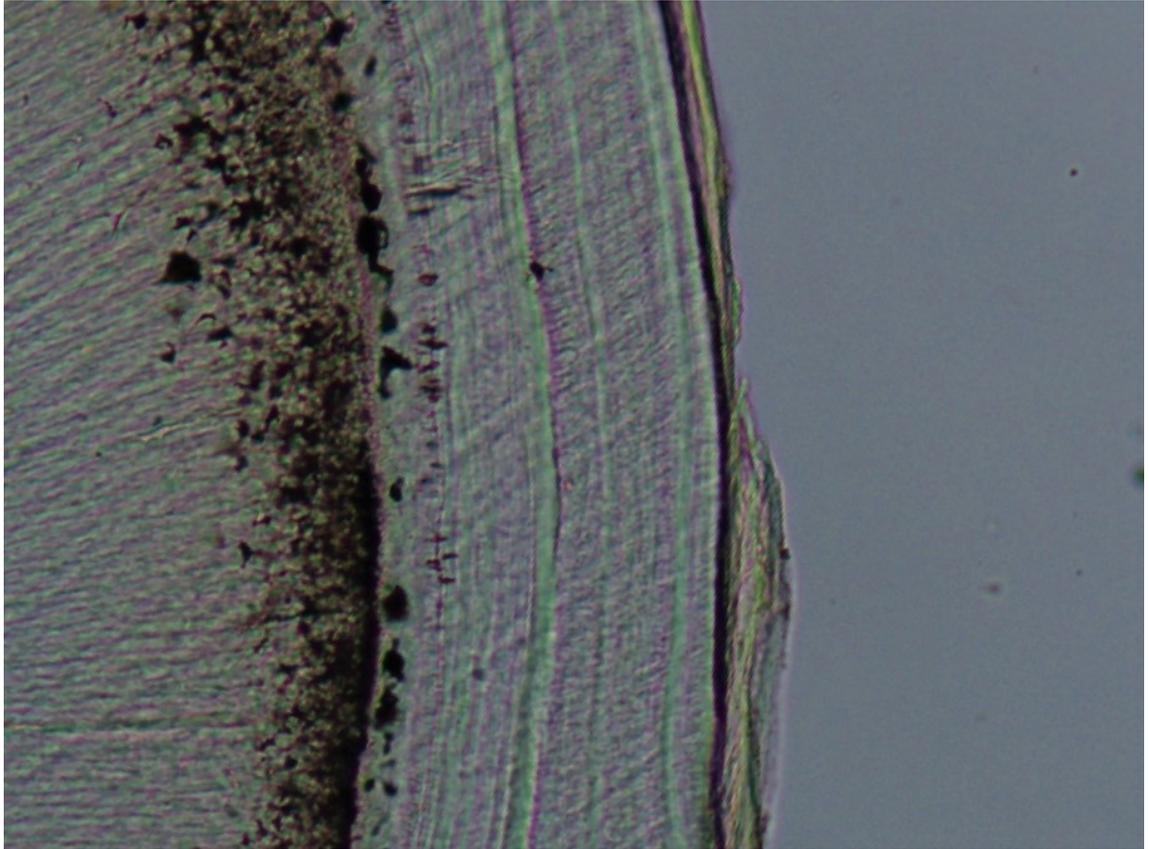
La largeur de la bande cimentaire est d'environ 140  $\mu\text{m}$ . La position des bandes a été recherchée avec la même technique que pour l'échantillon A3 ; donc toujours en partant de la couche granuleuse de Tomes vers le bord externe. Il est possible d'observer sur l'image (Illustration 18) que :

La zone centrale du ciment montre une bande (**bande 1**) de 10  $\mu\text{m}$  située entre -10 et -20.

- Elle correspond à une nette augmentation du rapport minéral/organique situé entre 65 et 75 $\mu\text{m}$ .
- La position de la bande se situe à **47 %** de la largeur totale du ciment.
- La cristallinité et la carbonatation de type B ne montrent pas de variations particulièrement visibles à cet endroit.

La zone à l'extrémité externe (à droite) montre une bande (**bande 2**) de 15 $\mu\text{m}$  située entre 50 et 65 $\mu\text{m}$ .

- Elle correspond à une légère augmentation du rapport minéral/organique entre 130 et 140 $\mu\text{m}$ .
- Elle se situe à **92 %** de la largeur totale du ciment.
- La cristallinité et la carbonatation de type B ne donnent pas d'informations lisibles.



*Illustration 19: Photo du ciment acellulaire de A9 en lumière transmise. x10. Les anneaux élargis sont bien visibles sur cette coupe*

L'analyse de l'image en lumière transmise (Illustration 19) donne, pour chaque opérateur, les résultats suivants :

- **Observateur 1 :**
  - 48 anneaux comptés.
  - 3 anneaux élargis que sont les anneaux 17, 27 et 41.
    - Ils sont appelés BTA 1, BTA 2 et BTA 3

- **Observateur 2 :**
  - 44 anneaux comptés.
  - 3 anneaux élargis que sont 16/19 (en fonction du point de départ), 26 et 40.
- **Observateur 3 :**
  - 56 anneaux comptés dont 8 élargis.

Les trois anneaux élargis retenus, sont respectivement positionnés à **47 %**, **66 %** et **88 %** de la largeur totale du ciment sur l'image en lumière transmise (19).

### **3.2.1 Comparaison entre BTA et Raman pour A9**

En comparant l'image en lumière transmise et l'image obtenue en réflexion avec le microscope du spectromètre il est possible d'observer que :

- Les anneaux 17 et 41 correspondent précisément aux bandes élargies visibles de l'illustration 16 avec des marges d'erreur respectives de 2 et 4 %.
- L'anneau 27 ne se retrouve pas sur l'image de l'illustration 16.

## **3.3 Comparaison avec les données civiles et d'histoire de vie**

### **3.3.1 Avec le calcul des anneaux.**

L'échantillon A3 est issu d'une première molaire mandibulaire droite (46) chez une femme de 42 ans avec deux grossesses à 28 et 37 ans. L'échantillon A9 est issu d'une

première prémolaire mandibulaire droite (44) chez une femme de 66 ans avec une grossesse à 27 ans. Les âges d'éruption moyens sont ajoutés aux calculs des anneaux. Il faut donc rajouter 6 ans pour l'échantillon A3 et 10/11 ans pour l'échantillon A9. L'apparition des anneaux élargis correspond à des âges présumés de la vie. Les tableaux suivants récapitulent les données après ajustage avec les âges présumés d'éruption.

- **Pour A3 :**

Observateur\Age présumé	Individu	BTA 1	BTA 2	BTA 3
1	44 ans	13 ans	21 ans	32 ans
2	43 ans	13 ou 14 ans	21 ans	32 ans

- **Pour A9 :**

Observateur\Age présumé	Individu	BTA 1	BTA 2	BTA 3
1	58 ans	27 ans	37 ans	51 ans
2	54 ans	26 à 29 ans	36 ans	50 ans

### 3.3.2 Avec les distances.

Il est également possible d'utiliser les distances pour voir s'il existe une relation entre BTA et âge des grossesses. Cette dernière devrait être plus précise. En effet la comparaison des distances qui partent d'un même point peut venir palier les difficultés liées au comptage des anneaux. Mais ceci suppose une croissance cémentaire (taux d'apposition du ciment) homogène dans le temps.

La position spatiale de la BTA sur le ciment, représentée par un pourcentage, est définie en faisant le rapport suivant : *(Distance entre couche granuleuse de Tomes et BTA) / (Largeur totale du ciment)*, est notée X.

Pour voir si l'âge d'une grossesse correspond à une BTA, le calcul suivant est réalisé :

$$(Age\ au\ moment\ de\ l'extraction - Age\ présumé\ d'éruption) * X.$$

**Pour A3 :**

<b>Zone</b>	<b>BTA 2 (= bande 1)</b>	<b>BTA 3 (= bande 2)</b>
<b>Age correspondant</b>	16 ans	Entre 21 et 27 ans

Les BTA 2 et 3 observées sur la coupe en lumière transmise correspondent respectivement aux âges 16 et entre 21 et 27 ans.

**Pour A9 :**

<b>Zone</b>	<b>BTA 1 (= bande 1)</b>	<b>BTA 3 (= bande 2)</b>
<b>Age correspondant</b>	27 ans	51,5 ans

Les BTA 1 et 3 observées sur la coupe en lumière transmise correspondent respectivement aux âges 27 et 51,5 ans.

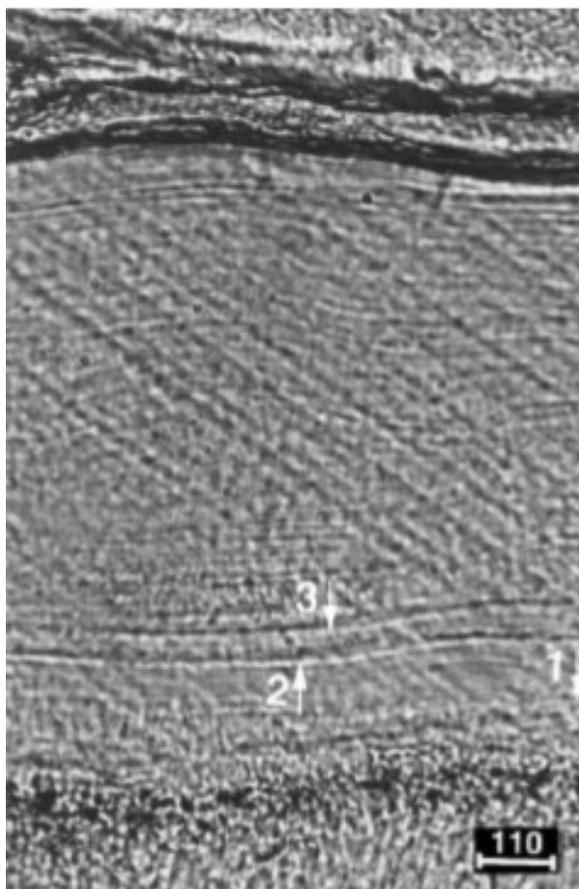
## 4. DISCUSSION

Notre étude avait pour but de mettre en corrélation des données morphologiques et chimiques du ciment avec l'âge connu d'une grossesse. L'échantillon A3 provenait d'une femme de 42 ans ayant eu 2 grossesses à 27 et 37 ans. L'analyse utilisant le comptage des anneaux n'a donné aucune corrélation entre âge des grossesses et BTA. Cependant, l'analyse avec les distances a permis de mettre discrètement une grossesse en corrélation avec une BTA (BTA 3), celle de 27 ans. En effet, la limite supérieure de la bande élargie visible sur l'image en réflexion correspond à 75 % de la largeur totale du ciment, supposée représenter la durée totale de la vie moins l'âge d'éruption supposé de la dent. Sur cette même période, une augmentation du rapport minéral/organique et une augmentation de la cristallinité sont observées au spectromètre. La deuxième grossesse, à 37 ans, n'est pas visible. Aucune BTA n'a été détectée à un niveau qui correspondrait à 88 % de la largeur totale du ciment, en partant toujours, de la couche granuleuse de Tomes. Nous avons également observé une augmentation du rapport minéral organique correspondant à une autre BTA (BTA 2) qui n'est pas en rapport avec une grossesse. Enfin la première BTA (BTA 1) n'est pas visible en lumière réfléchie et aucune modification des paramètres calculés au spectromètre n'a été enregistrée.

L'échantillon A9, plus intéressant, provenait d'une femme de 66 ans ayant eu une grossesse à 27 ans. Avec le calcul des anneaux, nous obtenons une estimation allant de 26 à 29 ans d'une BTA (BTA 1) pour un observateur et 27 ans pour l'autre. Ce résultat est confirmé par l'analyse avec les distances. La BTA 1 se trouve à 48 % de la distance totale, soit 27 ans. Parallèlement le spectromètre a enregistré une augmentation du rapport minéral organique mais pas de la cristallinité ou de la carbonatation B.

La 2ème BTA visible (BTA 2) n'a montré aucune modification au spectromètre et ne correspond à aucun événement connu. La 3ème BTA (BTA 3) montre, elle, une augmentation du rapport minéral organique et ne correspond pas non plus à un événement connu.

Une concordance précise entre année de la grossesse et progression de la cémentogénèse est notable pour cet individu. Cette concordance existe également, mais



*Illustration 20: Photo de ciment acellulaire. Les anneaux montrés par les flèches 2 et 3 correspondent à des périodes de grossesses. Source : Kagerer et Grupe 2000*

plus discrètement car sur une zone plus large, et pour une grossesse sur deux, pour l'autre individu.

Les résultats obtenus, surtout pour l'échantillon A9 viennent appuyer l'hypothèse apportée par Kagerer et Grupe en 2000 (Illustration 20). Ils ont supposé que des anneaux élargis, appelés BTA (Broad Translucent Annulation), étaient des marqueurs visibles sur le ciment suite à une grossesse. Dean et al, dans une étude réalisée en fluorescence X au synchrotron en 2018, ont également mis en exergue la grossesse comme un facteur de stress à l'origine de la modification de morphologie des anneaux cimentaires.

L'étude de la littérature montre qu'à ce jour, les BTA n'ont pas encore été définies précisément. Dans notre étude, elles ont été choisies avec la définition suivante : « une BTA est un annulus translucide de plus de  $5\mu\text{m}$  ».

Les observations faites amènent plusieurs réflexions et hypothèses. Sur le plan morphologique, comment expliquer l'apparition d'une BTA ? Il se pourrait qu'une BTA soit due à une augmentation de la vitesse de minéralisation. Il se peut également que l'anneau aie un aspect plus large du fait de perturbations du métabolisme phosphocalcique pendant la grossesse et la lactation. Cette lactation peut se dérouler sur environ 15 mois. Kovacs parle plus de l'effet de la lactation sur le métabolisme osseux (Kovacs 2016; Kovacs 2017). L'absence de visualisation de la grossesse à 37 ans sur l'échantillon A9 soulève l'hypothèse que la lactation seule et la période de réajustement qui suit (Kovacs 2017) entraîneraient des perturbations assez importantes pour être visibles sur le ciment. Si cette femme n'a pas eu une période de lactation importante mais a préféré les laits préparés pour nourrissons, il se pourrait que la grossesse passe inaperçue. Pour les futures études, les méthodes pour alimenter le nourrisson devraient être une data importante à collecter.

L'augmentation systématique du rapport organo-minéral pour les BTA observées pose également des interrogations. Pendant la grossesse, la mère transfère du calcium vers l'enfant. La concentration en calcium augmente alors dans le sang. L'os étant en perpétuel remodelage, il est la variable d'ajustement. Le ciment lui, n'est pas en remodelage permanent mais plutôt en croissance continue. Il se pourrait donc que l'augmentation en calcium pendant la grossesse et la phase de lactation entraînent une augmentation de la précipitation du calcium et du phosphate sur le ciment, d'où un anneau plus large. Ceci pourrait également expliquer l'apparition d'autres BTA non corrélées à une grossesse. Sur le même mécanisme, une fracture pourrait engendrer une croissance rapide du ciment, en formant une BTA. L'augmentation de la cristallinité n'a été visible que sur une seule BTA, ceci traduirait une meilleure organisation des cristaux d'hydroxyapatite, ou une augmentation de la pureté des cristaux.

Nous avons rencontré plusieurs freins au cours de l'étude. Le premier frein est lié aux limites de la technique utilisée. Le Raman ne permet pas de réaliser d'analyses élémentaires, aucune information sur le strontium ou le zinc par exemple n'est disponible. Des analyses avec la micro sonde de Castaing, le microscope à balayage électronique ou en fluorescence X avec le Synchrotron pourraient confirmer l'hypothèse de base et donner d'autres informations importantes (Dean et al., 2018).

Un autre frein est celui du temps consacré à l'étude d'une coupe. Le protocole est long et difficile. L'ajout de la lumière transmise directement sur le Raman permettrait de supprimer des manipulations et faciliterait l'analyse. Les observateurs doivent également avoir de l'expérience dans la TCA pour pouvoir effectuer des comptages

avec la marge d'erreur la plus faible possible (Colard et al., 2015). De plus la définition d'une BTA faciliterait leur repérage.

Pour aller plus loin, une autre étude sur une population plus large permettrait de confirmer les résultats et de produire des statistiques applicables à une population. Une étude *in vivo* sur des modèles animaux pourrait également permettre de voir si certains états pathologiques, comme l'ostéoporose, jouent un rôle dans la formation des BTA.

Notre étude poursuit également et avant tout un but anthropologique plus important que celui du ciment en soi. Cet objectif est d'ordre démographique. Aucune donnée sur la reproduction des populations anciennes n'est possible actuellement à partir d'un individu. Disposer d'une méthode fiable et reproductible pour connaître le nombre d'enfant qu'une femme a pu avoir permettrait d'ouvrir des verrous de l'évolution anthropologique.

## **5. CONCLUSION**

Le ciment est l'un des tissus durs du corps humain et partage avec le squelette de nombreuses propriétés chimiques. Il sert avant tout à maintenir la dent dans son alvéole en s'adaptant aux modifications imposées par la mastication. Ce tissu est en perpétuelle croissance tout au long de la vie et il se décline en plusieurs sous catégories.

La cémentogénèse est une partie de la science encore méconnue. Elle fait l'objet de beaucoup d'attention aujourd'hui. En utilisant tous les moyens possibles, de la simple observation au microscope à la fluorescence X, en passant par des techniques immunohistochimiques, les chercheurs ne cessent de développer des modèles pour étudier le ciment.

Les objectifs de la recherche sur la cémentogénèse sont nombreux. Afin de faire face aux pathologies menaçant le parodonte, la bio-ingénierie est en première ligne. Pouvoir recréer un ciment cicatriciel nouveau ou un tissu ciment-like permettrait d'avoir un outil supplémentaire pour traiter la parodontite, qui est extrêmement répandue dans la population.

Le ciment est également une source d'information importante pour toutes les disciplines issues ou voisines de l'anthropologie : paléanthropologie, archéologie, archéozoologie etc. La compréhension et la lecture de ce tissu permettent d'établir des bases de données importantes sur les populations anciennes, en complément des études sur les squelettes. La dent est souvent mieux conservée que le reste du corps, elle est au cœur des études sur l'Homme et des autres espèces animales.

La recherche sur la cémentogénèse est donc inéluctablement la voie à suivre pour répondre aux nombreuses questions posées par les différentes disciplines comme la médecine ou l'anthropologie.

L'étude présente dans cette thèse consistait à voir s'il existait une signature chimique de la grossesse sur le ciment acellulaire. Grâce aux images microscopiques et à la microspectrométrie, nous avons pu démontrer qu'il existe une corrélation entre les anneaux élargis du ciment acellulaire et l'âge de la grossesse aussi bien au niveau chimique que morphologique. Cette étude montre également qu'il existe un intérêt à approfondir la recherche dans ce sens. Enfin, elle esquisse un peu plus la possibilité de lire rétrospectivement les éléments d'histoire de vie dans le ciment.

## **Bibliographie**

- Aggarwal, Pooja, Susmita Saxena, and Puja Bansal  
2008 Incremental Lines in Root Cementum of Human Teeth: An Approach to Their Role in Age Estimation Using Polarizing Microscopy. *Indian Journal of Dental Research: Official Publication of Indian Society for Dental Research* 19(4): 326–330.
- Alvarez-Pérez, Marco Antonio, Sampath Narayanan, Margarita Zeichner-David, Bruno Rodríguez Carmona, and Higinio Arzate  
2006 Molecular Cloning, Expression and Immunolocalization of a Novel Human Cementum-Derived Protein (CP-23). *Bone* 38(3): 409–419.
- Ao, M., M. B. Chavez, E. Y. Chu, et al.  
2017 Overlapping Functions of Bone Sialoprotein and Pyrophosphate Regulators in Directing Cementogenesis. *Bone* 105: 134–147.
- Auriol, M.-M, Y. Le Charpentier et G. Le Naour.  
2008 Histologie Du Parodonte. *In* EMC—Médecine Buccale.
- Bertrand, B., G. Robbins Schug, C. Polet, S. Naji, and T. Colard  
2016 Age-at-Death Estimation of Pathological Individuals: A Complementary Approach Using Teeth Cementum Annulations. *International Journal of Paleopathology* 15(Supplement C): 120–127.
- Bosshardt, D.D.  
2005 Are Cementoblasts a Subpopulation of Osteoblasts or a Unique Phenotype? *Journal of Dental Research* 84(5): 390–406.
- Bosshardt, Dieter D., and Hubert E. Schroeder  
1996 Cementogenesis Reviewed: A Comparison between Human Premolars and Rodent Molars. *The Anatomical Record* 245(2): 267–292.
- Bronckers, A. L., M. C. Farach-Carson, E. Van Waveren, and W. T. Butler  
1994 Immunolocalization of Osteopontin, Osteocalcin, and Dentin Sialoprotein during Dental Root Formation and Early Cementogenesis in the Rat. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 9(6): 833–841.
- Burke, A., and J. Castanet  
1995 Histological Observations of Cementum Growth in Horse Teeth and Their Application to Archaeology. *Journal of Archaeological Science* 22(4): 479–493.
- Chen, Y., Y. Zhang, A. Ramachandran, and A. George

2016 DSPP Is Essential for Normal Development of the Dental-Craniofacial Complex. *Journal of Dental Research* 95(3): 302–310.

Colard, T., B. Bertrand, S. Naji, Y. Delannoy, and A. Bécart  
2015 Toward the Adoption of Cementochronology in Forensic Context. *International Journal of Legal Medicine*: 1–8.

Colard, Thomas, Guillaume Falgayrac, Benoit Bertrand, et al.  
2016 New Insights on the Composition and the Structure of the Acellular Extrinsic Fiber Cementum by Raman Analysis. *PLOS ONE* 11(12): e0167316.

Cool, S. M., M. R. Forwood, P. Campbell, and M. B. Bennett  
2002 Comparisons between Bone and Cementum Compositions and the Possible Basis for Their Layered Appearances. *Bone* 30(2): 386–392.

Courbebaisse, Marie, and Jean-Claude Souberbielle  
2011 [Phosphocalcic metabolism: regulation and explorations]. *Nephrologie & Therapeutique* 7(2): 118–138.

Dean, Christopher, Adeline Le Cabec, Kathryn Spiers, Yi Zhang, and Jan Garrevoet  
2018 Incremental Distribution of Strontium and Zinc in Great Ape and Fossil Hominin Cementum Using Synchrotron X-Ray Fluorescence Mapping. *Journal of the Royal Society, Interface* 15(138).

Dhiman, Paula, Stig Andersen, Peter Vestergaard, Tahir Masud, and Nadeem Qureshi  
2018 Does Bone Mineral Density Improve the Predictive Accuracy of Fracture Risk Assessment? A Prospective Cohort Study in Northern Denmark. *BMJ Open* 8(4): e018898.

Dias, P. E. M., T. L. Beaini, and R. F. H. Melani  
2010 Age Estimation from Dental Cementum Incremental Lines and Periodontal Disease. *The Journal of Forensic Odonto-Stomatology* 28(1): 13–21.

Doppelt, S. H.  
1984 Vitamin D, Rickets, and Osteomalacia. *The Orthopedic Clinics of North America* 15(4): 671–686.

Drake, Matthew T., Bart L. Clarke, and E. Michael Lewiecki  
2015 The Pathophysiology and Treatment of Osteoporosis. *Clinical Therapeutics* 37(8): 1837–1850.

Falgayrac, Guillaume, Sébastien Facq, Gérard Leroy, Bernard Cortet, and Guillaume Penel  
2010 New Method for Raman Investigation of the Orientation of Collagen Fibrils and Crystallites in the Haversian System of Bone. *Applied Spectroscopy* 64(7): 775–780.

Fisher, L. W., D. A. Torchia, B. Fohr, M. F. Young, and N. S. Fedarko

2001 Flexible Structures of SIBLING Proteins, Bone Sialoprotein, and Osteopontin. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 280(2): 460–465.

Fisher, Larry W., and Neal S. Fedarko

2003 Six Genes Expressed in Bones and Teeth Encode the Current Members of the SIBLING Family of Proteins. *Connective Tissue Research* 44 Suppl 1: 33–40.

Fleisch, H., R. G. Russell, and F. Straumann

1966 Effect of Pyrophosphate on Hydroxyapatite and Its Implications in Calcium Homeostasis. *Nature* 212(5065): 901–903.

Fleisch, Herbert, and Sylvia Bisaz

1962 Mechanism of Calcification: Inhibitory Role of Pyrophosphate. *Nature* 195(4844): 911.

Foster, B. L.

2017 On the Discovery of Cementum. *Journal of Periodontal Research* 52(4): 666–685.

Foster, B.L., K.A. Tompkins, R.B. Rutherford, et al.

2008 Phosphate: Known and Potential Roles during Development and Regeneration of Teeth and Supporting Structures. *Birth Defects Research. Part C, Embryo Today : Reviews* 84(4): 281–314.

Gauthier, J., and H. Schutkowski

2013 Assessing the Application of Tooth Cementum Annulation Relative to Macroscopic Aging Techniques in an Archeological Sample. *Homo : Internationale Zeitschrift Fur Die Vergleichende Forschung Am Menschen* 64(1): 42–57.

Grue, H, and B Jensen

1979 Review of the Formation of Incremental Lines in Tooth Cementum of Terrestrial Mammals, vol.11.

Gullard, Angela, Jelica Gluhak-Heinrich, Silvana Papagerakis, et al.

2016 MEPE Localization in the Craniofacial Complex and Function in Tooth Dentin Formation. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 64(4): 224–236.

Handa, K., M. Saito, M. Yamauchi, et al.

2002 Cementum Matrix Formation in Vivo by Cultured Dental Follicle Cells. *Bone* 31(5): 606–611.

Handa, Keisuke, Masahiro Saito, Akira Tsunoda, et al.

2002 Progenitor Cells from Dental Follicle Are Able to Form Cementum Matrix in Vivo. *Connective Tissue Research* 43(2–3): 406–408.

Imel, Erik A., and Michael J. Econs

2007 Fibrous Dysplasia, Phosphate Wasting and Fibroblast Growth Factor 23. *Pediatric Endocrinology Reviews: PER* 4 Suppl 4: 434–439.

Jankauskas, R., S. Barakauskas, and R. Bojarun  
2001 Incremental Lines of Dental Cementum in Biological Age Estimation. *Homo: Internationale Zeitschrift Fur Die Vergleichende Forschung Am Menschen* 52(1): 59–71.

Kagayama, M., H. C. Li, J. Zhu, et al.  
1997 Expression of Osteocalcin in Cementoblasts Forming Acellular Cementum. *Journal of Periodontal Research* 32(3): 273–278.

Kovacs, Christopher S.  
2005 Calcium and Bone Metabolism during Pregnancy and Lactation. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 10(2): 105–118.  
2016 Maternal Mineral and Bone Metabolism During Pregnancy, Lactation, and Post-Weaning Recovery. *Physiological Reviews* 96(2): 449–547.  
2017 The Skeleton Is a Storehouse of Mineral That Is Plundered During Lactation and (Fully?) Replenished Afterwards. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 32(4): 676–680.

Langston, A. L., and S. H. Ralston  
2004 Management of Paget's Disease of Bone. *Rheumatology (Oxford, England)* 43(8): 955–959.

Le Pogam, Pierre  
2016 Analyses de Lichens Par Spectrométrie de Masse : Déréplication et Histolocalisation.

Lieberman, D. E.  
1993 Life History Variables Preserved in Dental Cementum Microstructure. *Science (New York, N.Y.)* 261(5125): 1162–1164.

Lieberman, Daniel E., and Richard H. Meadow  
1992 The Biology of Cementum Increments (with an Archaeological Application). *Mammal Review* 22(2): 57–77.

Meinl, A., C. D. Huber, S. Tangl, et al.  
2008 Comparison of the Validity of Three Dental Methods for the Estimation of Age at Death. *Forensic Science International* 178(2–3): 96–105.

Naji, Stephan, Thomas Colard, Joel Blondiaux, et al.  
2014 Cementochronology, to Cut or Not to Cut? *International Journal of Paleopathology*.

Naji, Stephan, William Rendu, Lionel Gourichon, Zhonghou Cai, and Stuart Stock  
2017 Cementum Ultrastructure, a Comparative Perspective from Synchrotron x-Ray Scanning: Fluorescence and Diffraction. *In* .  
<http://meeting.physanth.org/program/2017/session09/naji-2017-cementum->

ultrastructure-a-comparative-perspective-from-synchrotron-x-ray-scanning-fluorescence-and-diffraction.html, accessed March 14, 2018.

Narisawa, Sonoko, Manisha C. Yadav, and José Luis Millán  
2013 In Vivo Overexpression of Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase Increases Skeletal Mineralization and Affects the Phosphorylation Status of Osteopontin. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 28(7): 1587–1598.

Penel, G., C. Delfosse, M. Descamps, and G. Leroy  
2005 Composition of Bone and Apatitic Biomaterials as Revealed by Intravital Raman Microspectroscopy. *Bone* 36(5): 893–901.

Rendu, William  
2007 Planification Des Activités de Subsistance Au Sein Du Territoire Des Derniers Moustériens : Cémentochronologie et Approche Archéozoologique de Gisements Du Paléolithique Moyen (Pech-de-l'Azé I, La Quina, Mauran) et Paléolithique Supérieur Ancien (Isturitz).

Salari, Pooneh, and Mohammad Abdollahi  
2014 The Influence of Pregnancy and Lactation on Maternal Bone Health: A Systematic Review. *Journal of Family & Reproductive Health* 8(4): 135–148.

Saygin, Nazan E., William V. Giannobile, and Martha J. Somerman  
2000 Molecular and Cell Biology of Cementum. *Periodontology 2000* 24(1): 73–98.

Schroeder, H. E.  
1992 Biological Problems of Regenerative Cementogenesis: Synthesis and Attachment of Collagenous Matrices on Growing and Established Root Surfaces. *International Review of Cytology* 142: 1–59.  
1993 Human Cellular Mixed Stratified Cementum: A Tissue with Alternating Layers of Acellular Extrinsic- and Cellular Intrinsic Fiber Cementum. *Schweizer Monatsschrift Fur Zahnmedizin = Revue Mensuelle Suisse D'odonto-Stomatologie = Rivista Mensile Svizzera Di Odontologia E Stomatologia* 103(5): 550–560.

Soenjaya, Y., B.L. Foster, F.H. Nociti, et al.  
2015 Mechanical Forces Exacerbate Periodontal Defects in Bsp-Null Mice. *Journal of Dental Research* 94(9): 1276–1285.

Stock, S. R., L. A. Finney, A. Telser, et al.  
2017 Cementum Structure in Beluga Whale Teeth. *Acta Biomaterialia* 48: 289–299.

Tenorio, D., A. Cruchley, and Francis Hughes  
1993 Immunocytochemical Investigation of the Rat Cementoblast Phenotype. *Journal of Periodontal Research* 28(6 Pt 1): 411–9.

- Wang, Lijun, Xiangying Guan, Ruikang Tang, et al.  
2008 Phosphorylation of Osteopontin Is Required for Inhibition of Calcium Oxalate Crystallization. *The Journal of Physical Chemistry. B* 112(30): 9151–9157.
- Ward, Leanne M., Isabelle Gaboury, Moyez Ladhani, and Stanley Zlotkin  
2007 Vitamin D-Deficiency Rickets among Children in Canada. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal = Journal de l'Association Medicale Canadienne* 177(2): 161–166.
- Wittwer-Backofen, Ursula, Jutta Gampe, and James W. Vaupel  
2004 Tooth Cementum Annulation for Age Estimation: Results from a Large Known-Age Validation Study. *American Journal of Physical Anthropology* 123(2): 119–129.
- Yamamoto, T., T. Domon, S. Takahashi, A. K. S. Arambawatta, and M. Wakita  
2004 Immunolocalization of Proteoglycans and Bone-Related Noncollagenous Glycoproteins in Developing Acellular Cementum of Rat Molars. *Cell and Tissue Research* 317(3): 299–312.
- Yamamoto, Tsuneyuki, Tomoka Hasegawa, Tomomaya Yamamoto, Hiromi Hongo, and Norio Amizuka  
2016 Histology of Human Cementum: Its Structure, Function, and Development. *The Japanese Dental Science Review* 52(3): 63–74.
- Zeichner-David, Margarita  
2006 Regeneration of Periodontal Tissues: Cementogenesis Revisited, vol.41.
- Zhao, Ai, Yumei Zhang, Bo Li, et al.  
2014 Prevalence of Anemia and Its Risk Factors among Lactating Mothers in Myanmar. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 90(5): 963–967.

## Index des illustrations

Illustration 1: Schéma d'une dent et de son système d'attache.....	2
Illustration 2: Coupe transversale d'une molaire.....	4
Illustration 3: Lignes incrémentales du ciment visibles sur coupe transversale.....	15
Illustration 4: Représentation schématique de la procédure pour la TCA.....	20
Illustration 5: Schéma de la régulation du métabolisme phosphocalcique par les hormones calciotropes.....	23
Illustration 6: Coupe au tiers médian en cours d'exécution.....	27
Illustration 7: Scie Isomet de Buehler®.....	27
Illustration 8: Photo de la lame préparée avant son passage au spectromètre.....	28
Illustration 9: Schéma des interactions entre source laser et molécule donnant lieu aux diffusions Raman.....	29
Illustration 10: Diagrammes représentant le niveau d'énergie des diffusions Raman et Rayleigh.....	31
Illustration 11: microscope intégré au spectromètre et réglé avec un zoom x100.....	32
Illustration 12: Photo du microspectromètre confocal OMARS89®.....	33
Illustration 13: Spectre typique d'un tissu minéralisé caractérisé.....	34
Illustration 14: Spectre de ciment acellulaire.....	35
Illustration 15: Photo de l'image en lumière réfléchie de l'échantillon A3 x100 avec les résultats obtenus au Raman superposés.....	37
Illustration 16: Coupe transversale de ciment acellulaire sur l'échantillon A3, lumière transmise, x40.....	39
Illustration 17: Photo de l'image optique x10 de l'échantillon A9.....	41
Illustration 18: Photo de l'image en lumière réfléchie de l'échantillon A9 x100 avec les résultats obtenus au Raman superposés.....	42
Illustration 19: Photo du ciment acellulaire de A9 en lumière transmise x10.....	44
Illustration 20: Photo de ciment acellulaire avec anneaux correspondant à des périodes de grossesses.....	51

**Thèse d'exercice : Chir. Dent. : Lille 2 : Année [2018] – N°:**

**Relations entre grossesse et ciment acellulaire : étude préliminaire/ Sofiann El Ayoubi. - p. 70 : ill. 20 ; réf. 61.**

**Domaines :** ANTHROPOLOGIE, HISTOLOGIE, ANATOMIE

**Mots clés RAMEAU :** Grossesse, Cément, Anthropologie dentaire, Spectroscopie Raman

**Mots clés FMeSH :** Grossesse ; Cément ; Analyse spectrale Raman

**Mots-clés Clefs libres :** Cément acellulaire, BTA, grossesse, lactation, TCA

---

Après avoir résumé les connaissances actuelles sur la cémentogénèse, le rôle des pyrophosphates, le métabolisme phosphocalcique ou encore l'intérêt de la TCA en anthropologie, l'étude préliminaire présente dans cette thèse avait pour but de montrer une corrélation entre âge de la grossesse et anneaux élargis visibles sur le ciment acellulaire. Dans l'étude, la préparation standardisée des échantillons et les principes de bases de la spectrométrie vibrationnelle sont d'abord expliqués. Les échantillons provenaient de femmes ayant eu des grossesses au cours de leur vie et dont les éléments d'histoire de vie étaient connus. Les échantillons ont été ensuite analysés sur des coupes en lumière transmise puis analysés au microspectromètre Raman. Les données Raman ont été mises en relation avec les images du microscope intégré au spectromètre. Les résultats ont ensuite été reportés par chaque observateur et analysés à l'aveugle. Les résultats ont ensuite été comparés aux éléments d'histoire de vie connus. Ils nous ont montré que l'hypothèse de base était vérifiée. La discussion s'efforce ensuite d'énoncer des hypothèses nouvelles comme l'impact que pourrait avoir la lactation sur la formation des BTA. Cependant beaucoup de questions sont restées sans réponses et des expérimentations plus poussées seront nécessaires par la suite.

---

**JURY :**

**Président :** Monsieur le Professeur Thomas Colard

**Assesseurs :** Madame le Docteur Mathilde Savignat, Madame le Docteur Cécile Olejnik, Monsieur le Docteur Xavier Coutel

---