

# Étude de l'ultrastructure de la dentine

## *A study of dentin ultrastructure*

M Riou<sup>1,2</sup>, A Nicolaÿ<sup>3</sup>, T Reiss<sup>4</sup>, BPJ Fournier<sup>1,2</sup>, M de la Dure Molla<sup>1,2,5</sup>, J Pérez<sup>6</sup>, E Vennat<sup>4</sup>

1 : Centre de Référence des Maladies Rares Orales et Dentaires, ORARES, Hôpital Rothschild, APHP  
Paris, France

2 : Université Paris Cite, INSERM, UMR1333 « Oral Health », France

3 : Mines Paris, PSL University, Center for material forming (CEMEF), UMR CNRS, 06904 Sophia Antipolis, France

4 : LMPS, CentraleSupélec, ENS Paris-Saclay, Université Paris-Saclay, CNRS  
Gif sur Yvette, France  
e-mail: elsa.vennat@centralesupelec.fr

5 : Université de Paris, Centre de Référence des Dysplasies Osseuses, INSERM UMR1163, Institut Imagine, Hôpital Necker, Paris, France

6 : Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, Départementale 128, 91190 Saint-Aubin France

### Résumé

Le principal tissu en volume de la dent est la dentine. Il s'agit d'un tissu dur dont les éléments constitutifs élémentaires sont les mêmes que ceux de l'os, à savoir des fibrilles de collagène de type I et des plaquettes d'hydroxyapatite. Au niveau microstructural, c'est un milieu poreux avec des lumières tubulaires traversant toute la profondeur du tissu et des branches latérales reliant ces lumières tubulaires. Les lumières tubulaires sont entourées d'un collier rigide appelé dentine périlitubulaire et le reste de la dentine est un composite naturel constitué d'un enchevêtrement de fibrilles de collagène et de plaquettes d'hydroxyapatite. Il est reconnu que cette organisation est cruciale pour comprendre la ténacité du tissu, mais il n'existe pas de visualisation directe et en 3D de l'organisation des fibrilles/plaquettes.

Dans cette étude, nous présentons des résultats sur la structure hiérarchique 3D de la dentine à cette échelle, obtenus à l'aide de la ptychographie à rayons X (PXCT).

### Abstract

The main tissue in volume of the tooth is the dentin. It is a hard tissue with the same elementary building blocks as the bone tissue, type I collagen fibrils, and hydroxyapatite platelets. At the microstructural level, it is a porous medium with tubule lumen passing through the whole depth of the tissue and lateral branches connecting the tubules lumens. The tubule lumens are surrounded by a rigid collar called peritubular dentin and the rest of the tissue is a natural composite made of an entanglement of collagen fibrils and hydroxyapatite platelets. It is known that this organization is crucial to understand the tissue toughness, but direct and 3D visualization of the fibrils/platelets organization is missing.

In this study, we present our results on the 3D hierarchical structure of dentin at those two scales using PXCT (Ptychography X-Ray Computed Tomography).

**Mots Clés :** tissu biologique dur, dentine, structure hiérarchique, tomographie, ptychographie

**Keywords :** biological hard tissue, dentin, hierarchical structure, tomography, ptychography

## 1. Introduction

La dentine est le principal tissu de la dent situé entre l'émail et la cavité pulpaire. A la micro-échelle, elle présente une organisation hiérarchique avec des porosités entourées d'un collier minéral dense (dentine périlitubulaire, PTD) appelée tubules, intégrée dans une matrice de dentine intertubulaire (ITD). À l'échelle nanométrique, la matrice de l'ITD est constituée d'un enchevêtrement de fibrilles de collagène (d'un diamètre d'environ 100 nm et d'un module d'Young de quelques GPa) et de plaquettes minérales (d'une épaisseur d'environ 5 nm et d'un module d'Young de quelques centaines de GPa) dont l'organisation n'est pas encore parfaitement connue malgré son rôle crucial dans les

propriétés effectives du tissu. Une illustration de cette organisation aux différentes échelles est proposée Fig. 1.

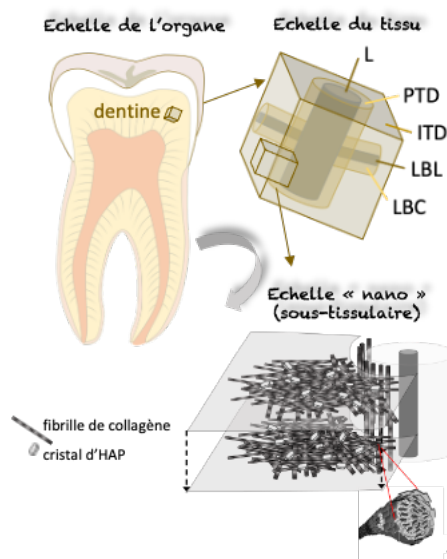


Fig. 1 La structure hiérarchique de la dentine

C'est pourquoi nous avons mené une étude pilote pour étudier cette organisation grâce à la ptychographie à rayons X (PXCT). La PXCT a déjà été utilisée par Zanette et al. [1] pour analyser la nanostructure de la dentine, atteignant une résolution d'environ 160 nm, ce qui est supérieur au diamètre des fibrilles de collagène. Nous présentons ici une nouvelle étude PXCT avec une résolution de 50 nm qui permet d'entrevoir une visualisation 3D inédite du réseau de fibrilles de collagène dans le tissu dentaire.

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1 Préparation des échantillons

Une dent permanente issue de la collection biologique ORCELL a été utilisée dans cette étude. La dent a été coupée et polie au micron en utilisant des techniques classiques. Des échantillons cylindriques d'environ 20 microns de hauteur et 20 microns de diamètre ont été extraits dans différentes zones, avec une première étape de micro-usinage à l'aide d'un FIB-SEM à plasma (Fera 3, TESCAN), suivie de l'extraction et de la fixation de l'échantillon sur la broche, à l'aide d'un FIB-SEM au gallium (Helios 660, FEI). Les résultats présentés ici concernent un échantillon prélevé à 150µm de la jonction émail-dentine.

### 2.2 PXCT

Les expériences PXCT ont été réalisées au Synchrotron Soleil sur la ligne de lumière SWING [2]. Un faisceau cohérent de rayons X d'une énergie de 8 keV a été focalisé 6 mm en amont de la position de l'échantillon, résultant sur une taille de sonde de 4 µm. Pour chaque projection tomographique, environ 500 figures de diffraction ont été enregistrées avec un temps d'exposition de 0,1 s chacune, en balayant l'échantillon avec un pas de 1 µm. Cette procédure a été répétée pour environ 600 positions angulaires régulièrement espacées de l'échantillon qui a tourné sur 180°.

### 2.3 Traitement et analyse d'images

L'orientation des fibrilles a été mesurée en 2D sur des coupes perpendiculaires aux tubules en utilisant le plugin OrientationJ dans le logiciel ImageJ. Des premières visualisations tridimensionnelles ainsi

qu'une segmentation des images en utilisant des outils d'apprentissage profond ont été réalisées en utilisant le logiciel Dragonfly ORS.

### 3. Résultats et discussion

#### Analyse des images brutes

Nos observations illustrées Fig. 2 confirment la présence : (1) de branches latérales entourées d'un collier dense reliant les lumières tubulaires entre elles ; (2) de fibrilles principalement situées dans des plans perpendiculaires à l'axe principal du tubule, en accord avec la littérature [3].

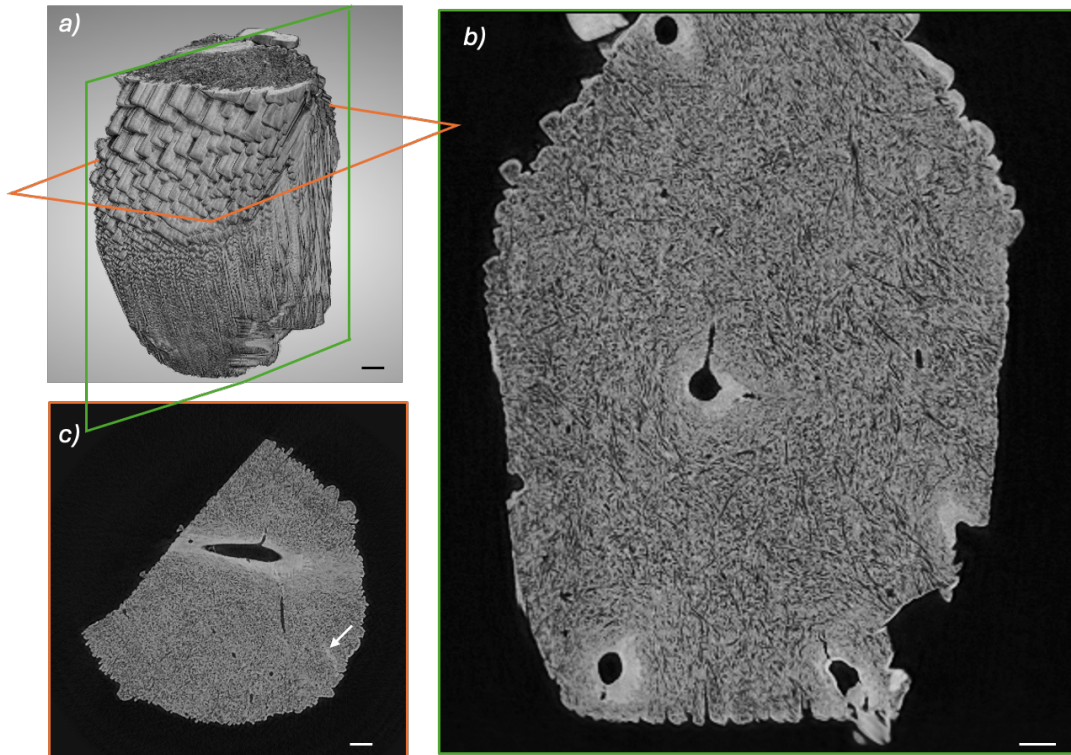


Fig. 2. a) Vue 3D de l'échantillon imagé. b) Vue en coupe d'un plan perpendiculaire au tubule : les fibrilles de collagène (structures élancées et sombres présentes dans la dentine intertubulaire et d'environ 100nm de diamètre) se trouvent dans ce plan. c) Vue le long d'un tubule. Les zones sombres sont dans ce plan des ellipses : les fibrilles de collagène traversent ce plan. La flèche blanche indique un collier rigide autour d'une branche latérale. Barres d'échelles 1 $\mu$ m.

La visualisation des fibrilles dans les plans perpendiculaires aux tubules semble indiquer une organisation principalement ortho radiale de celles-ci autour du tubule (Fig. 3). Les images en coupe ont également permis de distinguer des hétérogénéités locales dans cette organisation : l'interface entre ITD et PTD semble présenter des fibrilles orientées selon l'axe principal du tubule (flèches blanches sur Fig. 3) et il existe des différences locales de densité minérale qui ne sont pas visibles sur les estimations moyennes/globales.

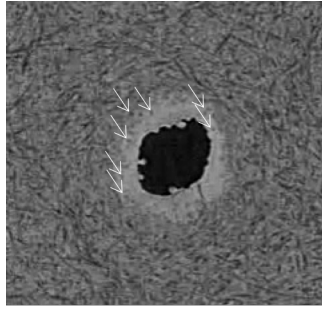


Fig. 3. Visualisation de l'orientation des fibrilles autour du tubule dans un plan perpendiculaire à son axe. Quelques structures de faibles densité (sombres) de forme circulaire sont indiquées par des flèches blanches.

### Analyse de l'organisation 3D

De manière plus frappante, l'organisation 3D des fibrilles de collagène dans la dentine intertubulaire peut également être observée (Fig. 4), ce qui est une conséquence directe de la très haute résolution obtenue. La validation de la segmentation et la quantification des orientations des fibrilles en 3D (ainsi que d'autres paramètres morphologiques) dans différentes zones de la dentine sont en cours.

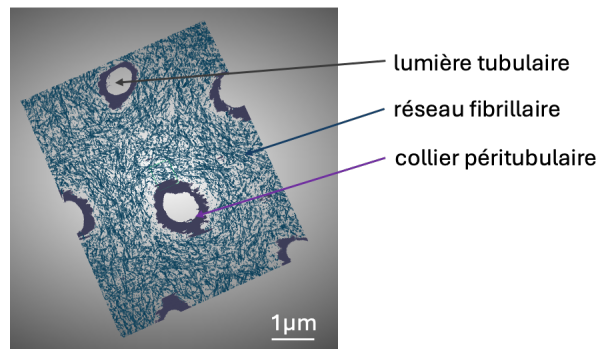


Fig. 4. Visualisation du réseau fibrillaire en bleu et des colliers péri-tubulaires en mauve.

### Conclusion

Cette étude préliminaire a permis de montrer la faisabilité d'une étude du réseau fibreux de la dentine grâce à la PXCT. Grâce à la résolution exceptionnelle de cette technique, l'ultrastructure tridimensionnelle de la dentine est révélée. Il serait maintenant intéressant d'imager différentes zones dans la dentine. Ces travaux vont pouvoir enrichir les modèles du tissu et mieux comprendre le lien entre structures et propriétés (notamment mécaniques) grâce notamment à la connaissance fine de l'orientation locale des fibrilles de collagène.

### Références

- [1] Zanette I et al., Sci Rep; 5(1), 1-4 (2015).
- [2] Engblom, et al., J. euspen's 20th International Conference & Exhibition, (2020).
- [3] Kinney J. H. et al., Calcif Tissue Int (2001).