

DSPP ou pas DSPP ? Telle est la question

1. Introduction

La **dentine** est un des 3 tissus dur de la dent et elle est sécrétée par les **odontoblastes** (Fig. 1). Ils sont issus de cellules ectomesenchymateuses de la pulpe initialement situées près de la membrane basale. Elles arrêtent de proliférer, augmentent en taille et viennent s'ancrer à la membrane basale pour se différencier en pré-odontoblastes. Suite à leur polarisation elles deviennent des odontoblastes. Le prolongement odontoblastique côté apical s'allonge et se ramifie. Il y a formation de jonctions serrées et communicantes entre odontoblastes. Ces odontoblastes sécrètent de la pré-dentine au niveau de la lame basale. Cette pré-dentine est maturée en dentine avec l'aide d'enzymes sécrétées par les odontoblastes. La disparition de la lame basale permet à la dentine et à l'émail d'être en contact direct.

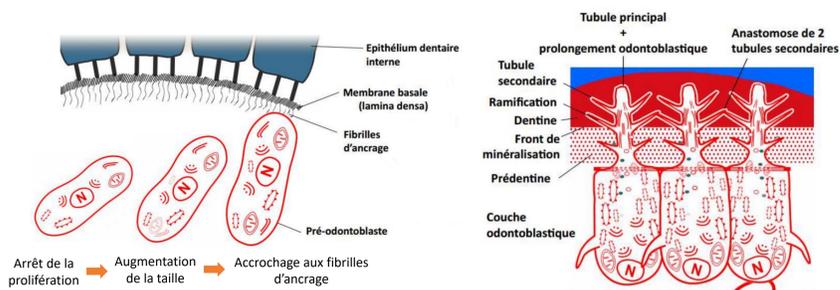


Figure 1 : Schéma de la dentinogenèse. Tirée du travail du Collège National des Enseignants en Biologie Orale

2. Matériel et méthodes

Une famille atteinte de dysplasie dentinaire (DD) autosomique dominante (Fig. 4) a été intégrée dans le cadre du protocole GenoDENT après signature d'un consentement pour leur participation à la collection biologique et à la base de données D4/phenodent. (<https://clinicaltrials.gov>: NCT01746121 et NCT02397824; MESR, Commission Bioéthique Collection Biologique "Manifestations bucco-dentaires des maladies rares" DC-2012-1677 et DC-2012-1002 et www.phenodent.org)



Figure 4 : Patientte atteinte de dysplasie dentinaire. Les dents ont un aspect ambré, translucide plus ou moins marqué. L'émail se clive entraînant leur usure précoce. Radiologiquement, des racines courtes, l'oblitération des espaces pulpaire et une constriction cervicale marquée sont observées.

Dans ce contexte une suite habituel d'analyses a été effectué (Fig. 5).



Figure 5 : Chronologies des investigations. La première étape commence par un séquençage du cas index avec le panel GenoDENT. Aucun variant n'a été identifié pathogène. Suivi d'un séquençage exome de la famille. Aucun variant pathogène n'a été identifié par les outils informatiques. Une réanalyse manuelle notamment des alignements de séquence de DPP. Et une confirmation Sanger du variant repéré.

3. Résultats

L'existence du variant repéré a été démontré via sanger et coségrège avec le phénotype dans la famille (Fig 6).

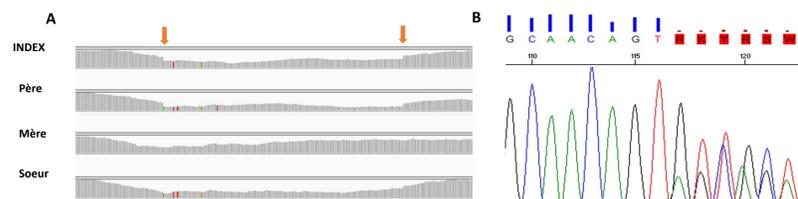


Figure 6 : Analyse manuel des alignements DPP et ségrégation familiale. A. Profondeurs de séquençage au niveau de l'exon 5 de DSPP. Un léger décrochage du nombre d'acide nucléique séquencés est observé au niveau de la flèche gauche et un raccrochage au niveau de la flèche de droite. Ce phénomène supporte l'existence d'une délétion hétérozygote dans cette zone chez l'index, son père et sa sœur également atteints : Chr4(GRCh37):g.88535543_88535738del NM_014208.3(DSPP):c.1729_1924del p.(Ser577Alafs*672). B. Confirmation Sanger du variant et validation de la ségrégation familiale.

→ Délétion pathogène confirmée dans DSPP

4. Discussion/Conclusion

Confirmation Sanger non répétable pour tous les variants potentiels : limite Sanger (Fig. 7)

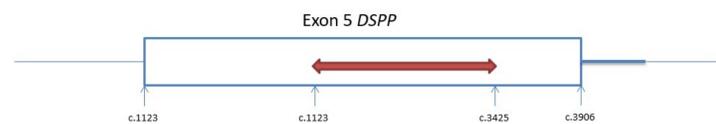


Figure 7 : Schéma de l'exon 5 de DSPP. La zone inaccessible par séquençage Sanger pour confirmation diagnostique de c.1123 à c.3425 représentée par une double flèche rouge.

→ Amélioration du protocole d'analyse

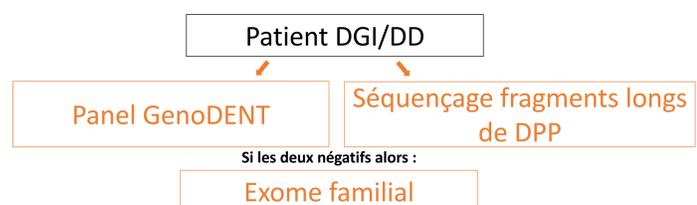


Figure 8 : Nouveau protocole d'analyse envisagé. Pour les patients DGI/DD, en parallèle du panel GenoDENT, un séquençage de fragments longs de l'exon 5 de DSPP (correspondant à la zone répétée de DPP)

- ### Gène DSPP
- Chromosome 4q22.1
 - Code pour la sialophosphoprotéine dentinaire :
 - Sécrétée à proximité de la membrane plasmique
 - Produite par les odontoblastes
 - Clivée en 3 dont DPP codée par l'exon 5 (Fig. 2)
 - DPP constitue 50% des protéines non-collagéniques de la dentine
 - Gène majoritaire impliqué dans les formes isolées de Dentinogenèse Imparfaite (DGI) et Dysplasie Dentinaire de type 2 (DD)

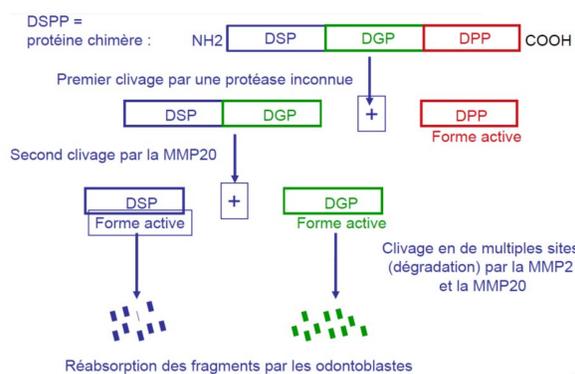


Figure 2 : Schéma du clivage de DSPP en trois parties : DSP (sialoprotéine dentinaire), DGP (glycoprotéine dentinaire) et DPP (phosphoprotéine dentinaire)

- ### DPP
- Séquence répétée (2100pb)
 - Motif Ser-Ser-Asp
- Difficile à séquencer (Fig.3)

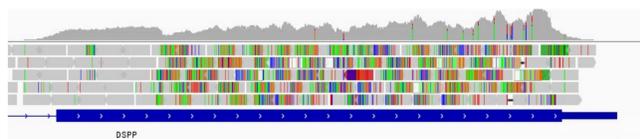


Figure 3 : Exemple alignement de l'exon 5 (zone DPP)

Le séquençage de fragments courts

- Qualité faible de l'alignement
- Risque de manquer un variant pathogène

Un séquençage de fragments longs pourrait vérifier DPP

- Pour diagnostiquer des patients actuellement négatifs
- Ouvrir à plus de recherches sur l'étiologie de ces pathologies