

Amelogenese



I. Introduction

L'amélogénèse : formation de l'émail par les améloblastes comprend

- La synthèse et la sécrétion des molécules de la matrice de l'émail
- La minéralisation puis
- La maturation de l'émail

L'émail est la **structure la plus minéralisée** de l'organisme

L'émail recouvre la couronne des dents

C'est une structure et non un tissu car il ne contient :

- Pas de cellules (**acellulaire**)
- Pas de vaisseaux (**avasculaire**)
- Pas d'innervation (**non innervé**)

L'émail est organisé en prisme et en substance interprismatique eux-mêmes composés de cristaux (appelés cristallites) d'apatites carbonatées eux-mêmes formés d'hydroxyapatites polysubstituées. La maille élémentaire de l'émail est classiquement décrite comme étant de l'HA (hydroxyapatite) dont la formule est $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, mais elle est dite polysubstituée car dans l'émail, cette formule n'est pas toute à fait exacte puisqu'il existe de nombreuses substitutions (groupe OH est très souvent substitué par du carbonate)

Les dimensions de cette maille est inférieure à 1nm

Les mailles HA s'assemblent pour former des cristaux d'émail

Ces cristaux d'apatites carbonatées sont en forme de ruban de section hexagonale dont l'épaisseur est de 25 à 30 nm dont la largeur est de 60 à 70 nm et dont la longueur (selon l'axe C) peut dépasser 1 mm

L'émail est d'origine **ectodermique**, car les améloblastes qui sont responsables de l'amélogénèse sont issues de la différenciation des cellules de l'épithélium dentaire interne de l'organe de l'émail. Se forme **uniquement au stade de la couronne** (donc pdt un laps de temps l'émail se forme et si on a une atteinte de l'amélogénèse, seules les dents dont l'amélogénèse est en cours seront atteintes car toutes les dents ne se forment pas en même temps)

AGE DE FORMATION DE L'EMAIL POUR CHAQUE DENT

- ✓ Début 14^{ème} semaine *in utero* (IU) pour les dents temporaires
- ✓ La formation de l'émail de certaines dents définitives peut durer presque 5 ans

Dents temporaires

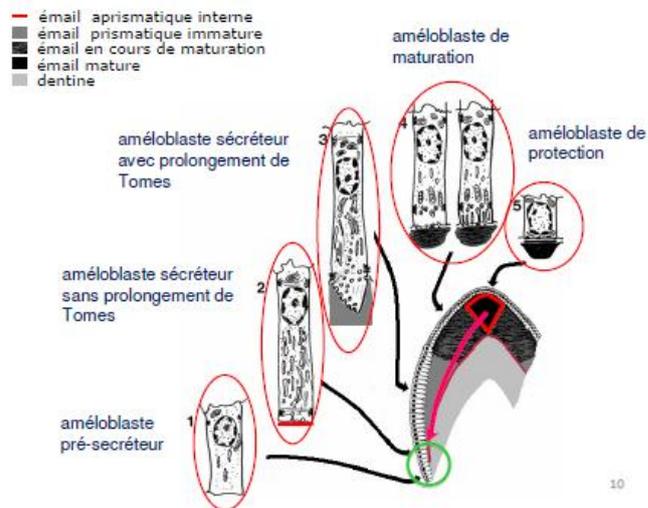


Dents définitives



En rouge : dates de début de l'amélogénèse, en vert : dates de fin de la formation de la couronne

II. les grandes étapes de la formation de l'émail

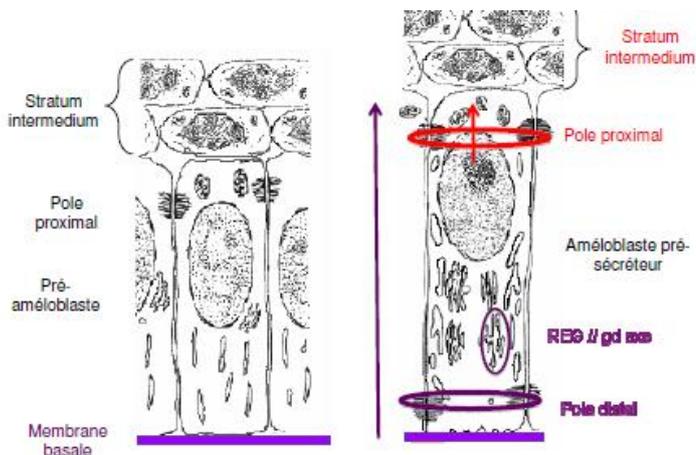


L'amélogénèse est terminée en regard de la pointe de la dent car elle est recouverte d'améloblastes de protection alors qu'elle n'a pas commencé au niveau du collet de la dent.

→ L'amélogénèse suit donc un **gradient temporo-spatial de différenciation entre la pointe de la dent (cuspidé) et le collet** (jonction avec la racine)

(Nous allons voir les différents améloblastes lors de l'amélogénèse, il y a 1 améloblaste différent par page à part pour l'améloblaste sécréteur avec prolongement de tomes car il y a toutes les protéines)

1. Améloblastes pré-sécréteur -> stade d'histodifférenciation



- L'améloblaste pré-sécréteur est en regard de la dentine. En devenant pré-sécréteur, le pré-améloblaste **sort du cycle mitotique** et évolue donc **en cellule post mitotique** (qui ne se divise plus)
Cette sortie du cycle est couplée avec celle des odontoblastes avec un **léger décalage dans le temps de 24h à 66h**.

La différenciation des améloblastes débute à la future jonction émail/dentine en face d'odontoblastes différenciées qui ont synthétisé la première couche de dentine.

L'amélogénèse est synchronisée avec la dentinogénèse et suit donc le gradient temporospatial de la différenciation des odontoblastes avec un **léger retard**.

a. Description histologique d'un améloblaste pré-sécréteur

Au cours de sa différenciation en améloblaste pré-sécréteur le **pré-améloblaste s'allonge** (il devient prismatique) et son **noyau migre en direction du stratum intermédiaire vers le pôle proximal** de la cellule (l'améloblaste pré-sécréteur est une cellule polarisée)

La majorité des organites de synthèse (REG, AG) s'accumule au pôle de la cellule en contact avec la membrane basale, pôle **distal** de la cellule.

Les citernes du REG dont le nombre augmente, se **disposent parallèlement** au grand axe de la cellule et de nbx lysosomes apparaissent

Les éléments du cytosquelette s'accumulent dans la région distale. Cette accumulation s'accompagne de la formation d'un **deuxième complexe de jct circulaire au pôle distal de la cellule**. L'alignement des améloblastes pré-sécréteurs est ainsi maintenu par 2 complexes de jct qui encerclent les cellules à leurs extrémités distale et proximale.

Des Filaments intermédiaires fixés sur ces complexes irradient dans le cytoplasme pour former des toiles terminales (appelé aussi **terminal web**)

L'améloblaste pré-sécréteur acquiert donc **progressivement les caractéristiques d'une cellule sécrétrice**.

b. Disparition de la membrane basale

La différenciation des améloblastes pré-sécréteurs s'accompagne de la **dégradation de la mb basale** qui sépare les pré-améloblastes des préodontoblastes.

La disparition de la mb basale suit la sécrétion du manteau dentinaire par les odontoblastes.

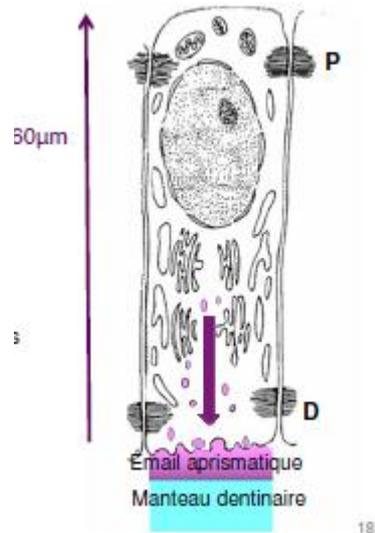
La mb basale est tout d'abord **dégradée par des metalloprotéases** présentes dans des vésicules issues du bourgeonnement de la membrane plasmique des odontoblastes puis les fragments de cette mb basale sont phagocytés par les améloblastes pré-sécréteurs qui terminent leur dégradation grâce à leur lysosomes

Donc la disparition de la mb permet un contact entre améloblastes pré-sécréteurs et manteau dentinaire qui se minéralise → **le manteau dentinaire peut induire l'amélogénèse**

C'est-à-dire que l'améloblaste pré-sécréteur peut devenir sécréteur et sécréter la première couche d'émail au contact de la dentine.

Les améloblastes pré-sécréteurs sont **situés donc entre le manteau dentinaire et le stratum intermédiaire**

2. Améloblaste sécréteur sans prolongement de Tomes (sécrétion de la première couche d'email)



a. Description histologique d'un améloblaste sécréteur sans prolongement de Tomes

La cellule **s'allonge** (elle va atteindre 60 µm de hauteur et 4 µm de largeur)

Elle se **polarise** de plus en plus et elle augmente le nombre et organisation de ses organites de synthèse.

Nbx vésicules de synthèse sont acheminées vers le pôle distal de la cellule où des exocytoses sont observées

Début des sécrétions des protéines de l'émail.

b. Sécrétion de l'émail aprismatique interne

La première couche de matrice de l'émail est directement au contact du manteau dentinaire

Les cristaux de l'émail aprismatique interne sont **perpendiculaires** à la Jct email/dentine

c. Jonction email/ dentine

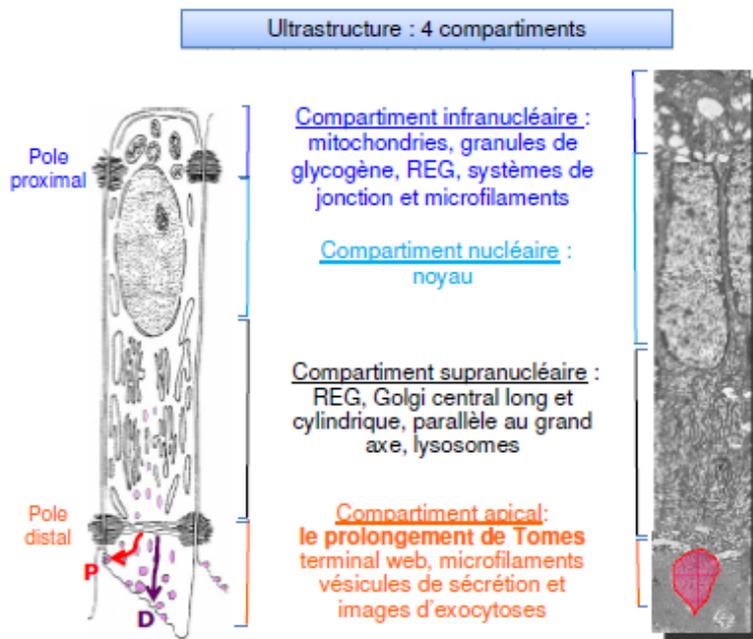
La première couche d'émail formée par les améloblastes sécréteurs sans prolongements de TOMES mesure 10 µm d'épaisseur et elle est dite **aprismatique** par opposition à l'émail prismatique sécrétée par les améloblastes sécréteurs avec prolongement de tomes.

d. La couche papillaire

En regard de cette couche d'émail nouvellement formée, les cellules du **Réticulum étoilé** disparaissent par **apoptose**

Accolement (appelé 'collapsus') entre l'**epith dentaire externe** et le **stratum intermedium**, elles forment ensemble la couche papillaire.

3. Améloblastes sécréteurs avec prolongement de Tomes (stade de sécrétion de l'émail prismatique immature)



Dès que l'émail aprismatique interne est déposé, les améloblastes forment à leur pôle distal un court prolongement de **forme conique appelé prolongement de tomes !**

a. Ultrastructure

L'améloblaste sécréteur présente une ultrastructure divisée en 4 compartiments :

- Compartiment **infranucléaire** : au pôle proximal de la cellule avec des mitochondries, granules de glycogène, REG, systèmes de jonctions proximaux et des microfilaments
- Compartiment **nucléaire** : ne contient que le noyau qui est volumineux et qui présente un nucléole
- Compartiment **supranucléaire** : REG, Golgi central long et cylindrique parallèle au grand axe, lysosomes
- Compartiment **apical** : délimité du compartiment supranucléaire par un terminal web au-delà duquel se trouve le prolongement de tomes

Le prolongement de tomes est de forme triangulaire mais conique en 3 dimensions. Et présente 2 sites de sécrétions :

Le site de sécrétion proximal et le site de sécrétion distal (attention à ne pas confondre site sécrétion et pôle !!!!! c'est au pôle DISTAL de l'améloblastes que présente le prolongement de tomes avec 2 sites de sécrétions proximal et distal)

- Site de sécrétion **proximal** → substance interprismatique

Le site de sécrétion proximal sécrète la **substance interprismatique** qui entoure le prolongement de tomes

La substance interprismatique est sécrétée par **plusieurs améloblastes** voisins

- Site de sécrétion **distal** → prisme

Le site de sécrétion distale sécrète un **prisme**.

Chaque prisme est sécrété par un **améloblaste unique** (attention différence avec le site de sécrétion proximale) à partir de l'émail aprismatique interne jusqu'à la surface de l'émail.

Chaque prisme traverse toute l'épaisseur de l'émail

Le rythme de l'amélogénèse est de 4 um d'émail par jour avec une phase de synthèse active et une phase de repos pdt laquelle il y a un peu moins d'émail sécrété

Phases de repos marqué par une bande noire régulière (observe au microscope photonique)
Ces striations et ces contractions marquent le rythme **circadien** (c.-à-d. journalier) de l'amélogénèse.

b. Protéines sécrétées

Les 2 sites de sécrétions sécrètent les **MEMES PROTEINES**

Après sécrétions, les protéines ont la capacité d'initier la formation de cristaux (c'est la nucléation cristalline) et de contrôler la croissance de ces cristaux

Les protéines de la matrice de l'email

- L'enaméline
- La tuftéline
- L'améloblastine
- Les amélogénines
- Des protéases

○ L'enaméline

Description :

- Plus grande protéine de l'email (Pm : 186 kD)
- 1 à 5% des protéines de la matrice de l'email
- Localisée dans la zone proche des améloblastes
- Dégradée rapidement -> énamélines de plus faible poids moléculaires
- Présente au niveau des prismes et de la substance interprismatique

Fonctions :

- Nucléation de cristaux
- Croissance des cristaux selon l'axe C par épitaxie

Anomalies génétiques :

Le gène ENAM est localisé sur le K4 position q21

➔ Des mutations : amélogénèse imparfaite de forme hypoplasique (= manque d'email)

○ Tuftéline

Description :

- Poids moléculaire de 66 kD
- Très hydrophile et acide
- 7 sites de phosphorylation
- Localisation en quantité importante à la jonction email-dentine et dans la substance interprismatique

Fonctions :

- Nucléation du cristal (probablement)

Anomalie génétique :

- Gène situé sur le K1 en position q21
- ➔ Amélogénèse imparfaite de forme hypoplasique

○ **Améloblastine**

Description :

- 5% du total des protéines de la matrice de l'émail
- Localisation à proximité de la membrane du prolongement de tomes
- 2 sites de liaisons à la membrane cellulaire
- Acide
- Scindée rapidement après sécrétion -> fragments dont l'un s'incorpore à la gaine des prismes. Ce fragment aurait pour rôle d'éviter la fusion entre les prismes et la substance interprismatique

Fonctions :

- Peu d'affinité pour l'hydroxyapatite
- Adhérence des ameloblastes sécréteurs à la matrice de l'émail

Anomalie génétique :

- Gène situé sur le K4 en position q13
- → Mutation chez l'homme, hypoplasie
- Chez les souris mutantes KO gène de l'améloblastine, l'émail n'est pas formé totalement

○ **Amelogénines**

Description :

- Quantitativement les plus importantes de la matrice de l'émail (90% des protéines totales de l'émail en formation)
- Riches en Proline (25 à 30%) en glutamine, en leucine, et en histidine
- Phosphorylées mais non glycosylées
- Très hydrophobes et relativement basique
- PM varie 5 à 25 kD
- Peu de modifications post traductionnelles

Fonctions :

- Les amelogénines de 25kD s'auto-assemblent pour former des agrégats sphériques de 15 -20 nanomètres de diamètre comportant de 100 à 200 molécules d'amélogénines = molécules supra moléculaire = nanosphère d'amélogénine
- Les extrémités carboxy-terminales des nanosphères se lient à l'hydroxyapatite
- Espace entre 2 cristaux 20 nm = au diamètre d'une nanosphère
- Les nanosphères d'amélogénines contrôlent l'orientation des cristaux
- Les nanosphères empêchent la fusion latérale des cristaux, les maintiennent à une distance uniforme et leur confèrent une disposition uniforme et leur confèrent une disposition régulière dans l'émail

Anomalie génétique :

- La protéine d'amélogénine est issue de la transcription de 2 gènes
- Gene AMELX porté par KX et gène AMELY porté par AMELY
- AMELY plus long que AMELX mais homologie entre les séquences codantes est de 91%
- Les 2 gènes sont exprimés mais le niveau de transcription du gène AMELY est d'environ 10 % du taux de transcription d'AMELX. AMELY est donc faible

- Chez les souris déficientes en gène d'amélogénine, l'émail est hypoplasique (manque) et ne possède pas la structure caractéristique en prisme

○ Protéases

Description :

- Métalloprotéinase matricielle -> la MMP-20 (ou énamélysine)

Fonction :

- La MMP-20 clive les amélogénines de haut PM en de nbx sites
- Elimination du domaine C-terminal des amélogénines -> modifie la structure des amélogénines
- Au stade de maturation -> dégradation des nanosphères -> croissance en épaisseur et en largeur des cristaux d'émail

Améloblastine, énaméline, tuftéline = les non amélogénines :

Promoteurs (nucléation cristalline) et des guides pour la formation des cristaux d'émail (forme hexagonale)

Localisées au voisinage des améloblastes car demi-vie courte

Amélogénines :

Agregats supramoléculaires (nanospheres)

Contrôle la croissance en épaisseur et en largeur des cristaux et prévention des fusions (empêche la croissance en longueur et en épaisseur)

Les amélogénines sont réparties dans **l'ensemble de l'émail en formation** (moins concentrées à la surface de l'émail)

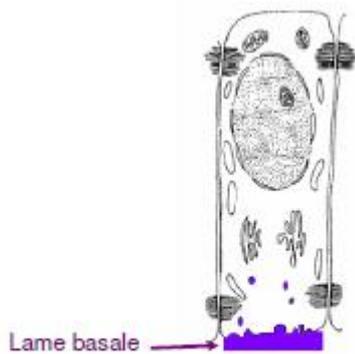
c. Email immature

Les protéines **non amélogénines ne sont présentes que dans la couche superficielle** (proche des améloblastes) alors que **les amélogénines sont dans toute l'épaisseur de l'émail en formation**

Cet émail immature (appelé email soft) est composé de **37% de minéral, 19 % de phase organique (c.-à-d. de protéine de l'émail) et 44% d'eau**

Cet émail ne peut **pas** supporter les forces de mastication car il n'est pas assez minéralisé.

4. Fin de la phase de sécrétion : améloblaste de transition



- ➔ A la fin du stade de sécrétion, c.-à-d. lorsque l'améloblaste a sécrété une épaisseur suffisante d'émail immature **25% des améloblastes vont disparaître par apoptose**
- ➔ Diminution de la taille de l'améloblaste, **s'élargissent** ce qui permet de couvrir encore la surface d'émail malgré la perte d'un améloblaste sur 4
- ➔ **Perte du prolongement de Tomes**
- ➔ Ne synthétisent plus de protéines de la matrice de l'émail mais synthétisent une sorte de lame basale qui adhère à la surface de l'émail immature

5. Améloblaste de maturation (stade de maturation)

25 % d'améloblastes supplémentaires vont disparaître par apoptose

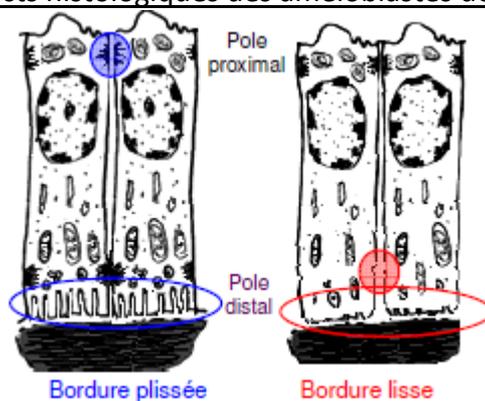
a. Généralités sur la phase de maturation de l'émail

C'est la phase de croissance en épaisseur et en largeur des cristaux d'émail.

Deux processus simultanés :

- 1° élimination des nanosphères d'amélogénine
- 2° arrivée massive d'ions calcium et phosphate

b. Aspects histologiques des améloblastes de maturation



→ Les améloblastes réduisent encore de taille et le nombre de leurs organites de synthèse et s'élargissent

Ils vont présenter à leur pôle distal deux aspects morphologiques différents :

→ Un aspect **lisse** ou un aspect **plissé** et cet aspect est associé à des variations des systèmes de jonctions proximaux et distaux

Il est à noter qu'il y a un couplage entre l'aspect du pôle distal (plissé ou lisse) et les systèmes de jonctions entre les améloblastes

→ Lorsque la cellule présente un aspect **plissé**, elle n'a que les systèmes **de jonctions distaux serrés** (c.-à-d. étanches) et les systèmes de jonctions **proximaux deviennent lâches** (ca--d perméables)

→ Elle présente **l'inverse pour l'aspect lisse**

Les améloblastes de maturation effectuent une modulation, c'est-à-dire qui créent de façon cyclique une bordure plissée puis une bordure lisse à leur pôle distal. Pendant la phase de maturation chaque améloblaste passera d'un pôle distal lisse à plissé 5 à 7 fois mais **80% de son temps sera à l'état plissé** et donc seulement 20% de son temps sera à l'état lisse

c. Rôle de la modulation

C'est l'alternance de l'aspect lisse à plissé qu'on appelle modulation

Le rôle de cette modulation est incertain mais semble être en relation avec :

- une balance entre acidification et la neutralisation du pH de l'émail immature
- élimination des fragments protéiques
- le transport du calcium vers l'émail pour permettre la croissance des cristaux

d. Balance entre acidification et neutralisation de la matrice amélaire et élimination des fragments protéiques

Cela est surprenant que des cristaux puissent croître en épaisseur, il faille une **acidification du milieu** dans lequel ils baignent (car bien connu que les cristaux se dissolvent dans un milieu acide)
Mais la croissance des cristaux ne peut se faire que si les nanosphères d'amélogénines sont éliminées par la **MMP 20** produite en grande quantité pendant la phase de maturation

Hors la **MMP 20 nécessitent un pH légèrement acide**

Donc les améloblastes sécrètent de la MMP20 plus une autre enzyme **la sérine-protéase-17 (appelée Kallikréine-4 ou sérine protéase)** et en même temps les améloblastes présentent dans la région du cytoplasme proche de la bordure plissée une quantité importante d'**anhydrase carbonique de type II qui libère des protons provoquant l'acidification du milieu extracellulaire**

Donc activation de la MMP20 et entraîne la fragmentation

Les fragments d'amélogénines donc deviennent :

- Soit **réabsorbés** activement par les améloblastes à bordure **plissée** qui présentent de nombreuses endocytoses
- Soit les fragments amélogénines quittent l'émail et passent entre les cellules à **bordures lisses pour être absorbées sur les côtés de ces améloblastes**

La dégradation protéique est alors terminée par les améloblastes qui contiennent beaucoup de lysosomes

L'élimination rapide des agrégats d'amélogénine libère les cristaux mais ceux-ci ne pourront croître en épaisseur et en largeur que lorsque le pH dans lequel ils baignent sera neutralisé. La neutralisation du pH est aussi due aux améloblastes de maturation.

- lorsqu'ils ont leur pôle **distal plissé**, les améloblastes vont participer à la neutralisation du pH par **sécrétion d'ions bicarbonate** (H_2CO_3)
- les améloblastes à **bordure lisse** et donc à système de jonction distal ouvert permettent aussi de neutraliser le pH de la matrice amélaire par le passage de fluide interstitiels vers l'émail et → donc pH sera neutralisé et les cristaux vont pouvoir croître

e. Transport du calcium vers l'émail et libération du phosphate pour permettre la croissance des cristaux

Pour permettre la croissance en épaisseur et en largeur des cristaux il faut une arrivée massive d'ions calcium dans la matrice amélaire

Les ions calcium viennent des milieux interstitiels (circulation sanguine du follicule dentaire)

- Le Ca^{++} peut passer entre les cellules à bordure **lisse** car leurs systèmes de jonction distaux sont **perméables**
- Mais améloblastes **plissés** participent aussi activement au transport du calcium vers l'émail malgré leur système de jonctions **distaux imperméables**. En effet ils possèdent des protéines qui fixent le calcium ds la cellule. Ces protéines sont **la calbindine et les annexines**.

Grace aux calcium-ATPases membranaires les ions calcium vont sortir de la cellule et être incorporés dans la matrice de l'émail en cours de maturation

L'énergie nécessaire pour ces enzymes est fournie par les nombreuses mitochondries.

Pour permettre la croissance des cristaux, le calcium doit s'associer dans le compartiment extracellulaire avec des ions phosphate.

Ces ions sont libérés à partir de phosphoprotéines : l'**amélotine** qui est une protéine phosphorylée synthétisée par les ameloblastes spécifiquement au stade de maturation.

- Email immature → email mature

La maturation permet la croissance des cristaux dont l'**épaisseur passe de 3,1 nm avant la maturation à 29 nm** après maturation et dont la **largeur passe de 25 nm à 65 nm**

On obtient ainsi un email mature (presque plus de protéine, ni d'eau)

Email mature est donc composé de 96% de cristaux, 3,2% d'eau et 0,8% de matière organique

6. Ameloblastes de protection (protection de l'email)



Lorsque la maturation de l'email est terminée, l'améloblaste se transforme en un améloblaste de protection

Il devient :

- cubique
- ses organites cellulaires diminuent
- secrète une lame basale à la surface de l'email à laquelle il adhère par des hémidesmosomes

Les ameloblastes de protection se confondent alors avec la couche papillaire et forment ainsi l'épithélium réduit de l'email

L'épithélium réduit de l'email est donc un ensemble de cellules d'origine épithéliale composé :

- l'épithélium dentaire externe
- du stratum intermedium
- des ameloblastes de protection

Son rôle est d'isoler l'email du follicule dentaire tant que la dent n'est pas arrivée en bouche

7. Conclusion

L'améloblaste est une cellule exceptionnelle mais très sensible aux changements dans son environnement par exemple un excès de fluor pendant l'amélogénèse provoque des perturbations de la fonction des améloblastes qui forment un email altéré.