

Dentinogenèse

Odontologie



UNIVERSITÉ CÔTE D'AZUR 

1. Différenciation des odontoblastes

2. Régulation de la différenciation odontoblastique

2.1. Régulation par l'épithélium dentaire interne et la membrane basale

2.2. Régulation par les composants de la membrane basale et les facteurs de croissance

3. Composition et maturation de la matrice dentinaire

3.1. Les collagènes

3.2. Les protéines non-collagéniques

3.2.1. Les SIBLINGS

3.2.2 Les autres protéines non-collagéniques

3.5. Les autres composants

4. Minéralisation de la matrice dentinaire

4.1. Transport du calcium à travers la couche odontoblastique

4.2. Minéralisation de la prédentine déposée entre les fibrilles d'ancrage

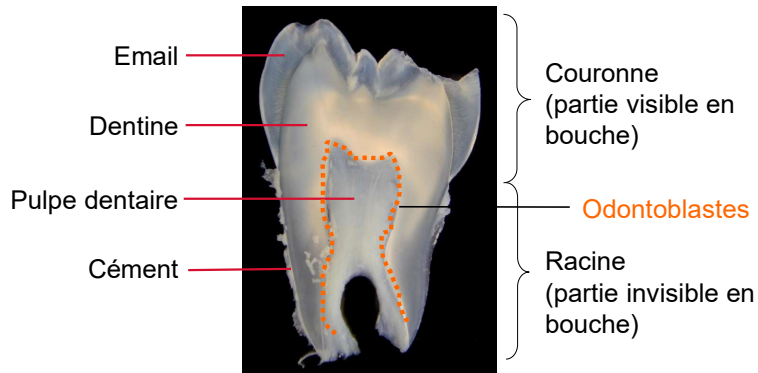
4.3. Minéralisation de la prédentine située autour des prolongements odontoblastiques

Dentinogenèse : formation de la dentine par les odontoblastes

1^{ère} étape = synthèse et sécrétion de la prédentine

2^{ème} étape = dépôt du minéral

La dentine : tissu minéralisé ; un des 4 tissus constitutifs de la dent ; occupe le volume le plus important.



Composition : 70% de minéral, 20% de matrice organique et 10% d'eau ; surtout du collagène de type I et de l'hydroxyapatite carbonatée ; composition voisine de celle de l'os, mais structure très différente.

Nous allons commencer par définir la dentinogenèse qui est la formation de la dentine par les odontoblastes.

La dentinogenèse comprend deux étapes essentielles :

* 1^{er} la synthèse et la sécrétion par les odontoblastes de la matrice organique de la dentine, matrice appelée prédD,

* et 2^{ème} le dépôt du minéral sur la prédD

-> La dentine est un tissu minéralisé. C'est l'un des 4 tissus constitutifs de la dent, les 3 autres étant l'émail, la pulpe dentaire et le ciment.

Comme vous pouvez le voir sur cette dent humaine coupée longitudinalement, la dentine est le tissu qui occupe le volume le plus important. Elle est interposée entre, d'une part, -> l'émail et -> le ciment qui recouvrent la dentine et l'isolent du milieu extérieur, le premier au -> niveau de la couronne, le second au -> niveau de la racine, et d'autre part la pulpe dentaire, tissu conjonctif non minéralisé situé au centre de la dent et qui limite la dentine côté interne. La ligne pointillée orange vous indique la position des odontoblastes à l'interface dentine-pulpe.

-> La dentine est constituée de 70% de minéral, de 20% de matrice organique et de 10% d'eau.

Son degré de minéralisation est comparable à celui de l'os, mais est inférieur à celui de l'émail (qui est compris entre 96 et 98%) et légèrement supérieur à celui du ciment (qui est d'environ 63%).

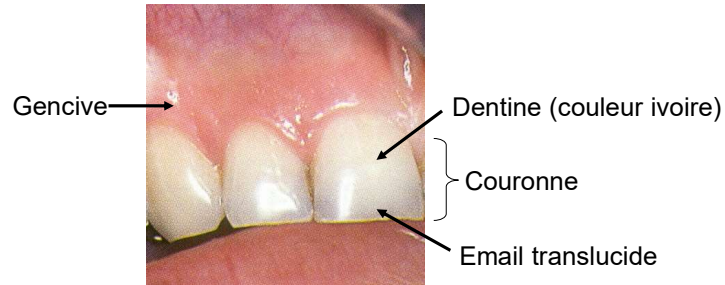
-> Sa matrice organique est composée principalement de collagène de type I, alors

que le minéral dentinaire est formé principalement de cristaux d'hydroxyapatite carbonatée.

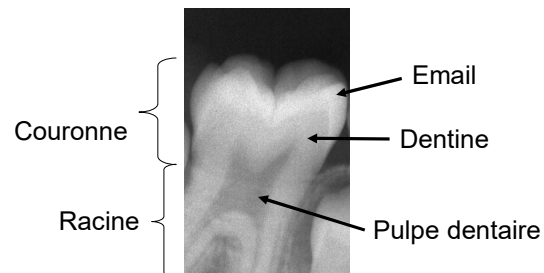
La dentine a ainsi une composition voisine de celle de l'os. Toutefois, sa structure est très différente. En effet, la dentine contient des dizaines de milliers de tubules parallèles les uns aux autres, qui la traversent depuis l'interface dentine-pulpe jusqu'à la jonction dentine-émail au niveau de la couronne et jusqu'à la jonction dentine-cément au niveau de la racine.

Généralités

- Aperçu de la dentine dans la cavité buccale, sous l'émail translucide.



- Aperçu de la dentine sur les radiographies dentaires.



Peut-on apercevoir la dentine dans la cavité buccale ?

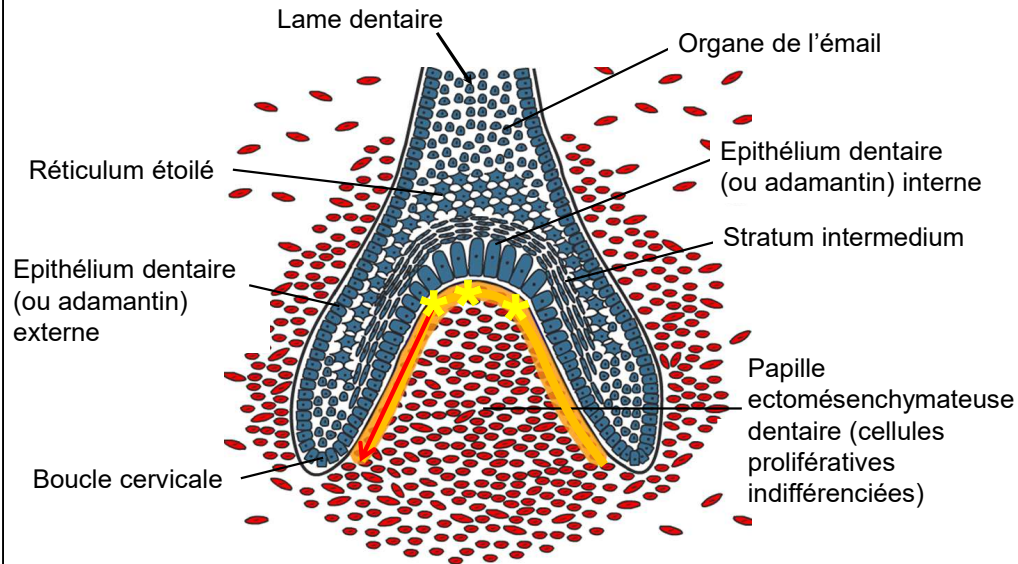
-> la dentine, au niveau de la couronne, est recouverte -> par l'émail, ce dernier, lorsqu'il est parfaitement minéralisé, est translucide, comme sur cette photographie de dents humaines antérieures.

- la dentine, de couleur ivoire, est alors visible par transparence. A l'inverse, lorsque l'émail est mal minéralisé, il est opaque, et la dentine n'est pas visible en bouche.

-> Sur les radiographies, la dentine, moins minéralisée que l'émail, est moins radio-opaque : -> elle apparaît plus sombre. A l'inverse, elle est plus claire que la pulpe dentaire qui, elle, n'est pas minéralisée.

1. Différenciation des odontoblastes

DIFFERENCIATION DES ODONTOBLASTES DANS LE GERME DENTAIRE (FIN DU STADE DE LA CLOCHE)

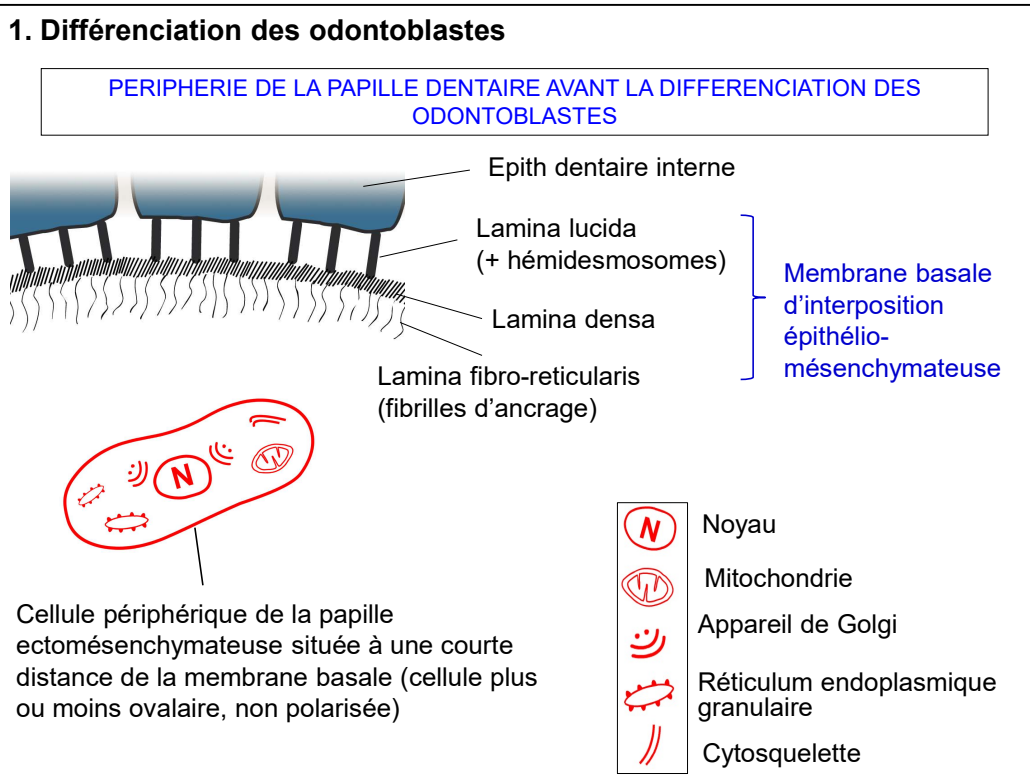


Nous allons commencer par étudier la différenciation des odontoblastes.

Ce schéma vous montre un germe dentaire vers la fin du stade de la cloche.

-> La bande orangée vous indique la zone où vont se différencier les odontoblastes, à la périphérie de la papille ectomésenchymateuse, sous l'épithélium dentaire interne.

-> Les astérisques jaunes précisent l'endroit où se différencient les premiers odontoblastes, au sommet de la cloche. -> En effet, comme nous le verrons plus tard, les odontoblastes se différencient progressivement depuis le sommet de la papille ectomésenchymateuse, selon un schéma temporo-spatial précis.



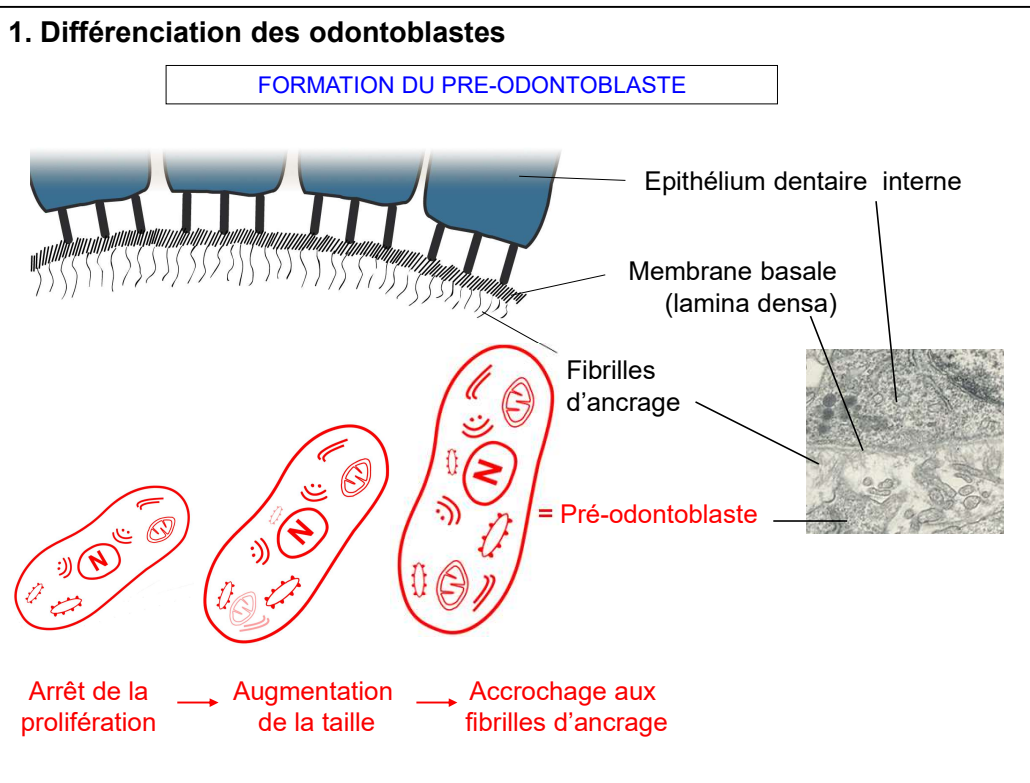
Juste avant la différenciation des odontoblastes, la situation à la périphérie de la papille ectomésenchymateuse est la suivante :

L'épithélium dentaire interne repose sur une membrane basale d'interposition épithélio-mésenchymateuse de structure classique.

-> la lamina densa constitue l'armature de cette membrane basale, la lamina lucida permet l'attachement des cellules de l'épithélium dentaire interne à la lamina densa grâce à de nombreux hémidesmosomes, et

-> la lamina fibroreticularis assure l'attachement de la membrane basale à la papille ectomésenchymateuse grâce à de nombreuses fibrilles d'ancrage.

-> Les cellules périphériques de la papille ectomésenchymateuse sont situées à une courte distance de la membrane basale, dont elles sont séparées par un espace de quelques microns. Elles sont plus ou moins ovales, leur noyau est central, et les organites et composants du cytosquelette sont répartis de manière uniforme dans le cytoplasme. Ce sont ces cellules qui vont se différencier en odontoblastes.



La première étape de la différenciation odontoblastique est

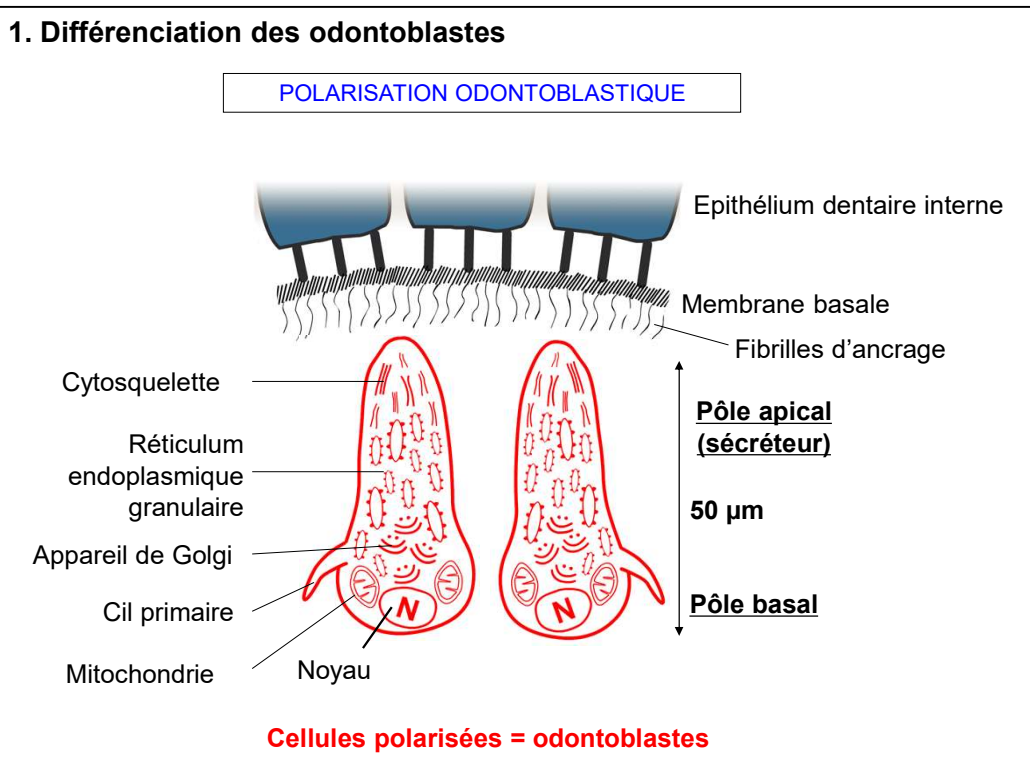
-> l'arrêt de la prolifération cellulaire.

-> puis les cellules augmentent de taille et

-> s'accrochent par leur membrane plasmique aux fibrilles d'ancrage présentes sur la face ectomésenchymateuse de la membrane basale.

-> Elles sont alors appelées pré-odontoblastes.

-> L'image de microscopie électronique à droite du schéma vous montre, à fort grossissement, cet accrochage.



Les pré-odontoblastes se différencient ensuite en odontoblastes.

-> Ils commencent par se polariser : leur noyau s'éloigne de la membrane basale, tandis que le réticulum endoplasmique granulaire et l'appareil de Golgi se placent en position supranucléaire.

-> Les citernes du réticulum endoplasmique granulaire s'orientent parallèlement au grand axe de la cellule.

Le complexe de Golgi, plus central par rapport au réticulum, se tourne vers le pôle cellulaire en contact avec la membrane basale.

-> Un cil primaire apparaît à proximité du noyau et de l'appareil de Golgi.

-> Les éléments du cytosquelette (microtubules, filaments intermédiaires et microfilaments) s'accablent au pôle de la cellule proche des fibrilles d'ancrage.

-> Les mitochondries restent dispersées dans l'ensemble de la cellule.

On observe ensuite une forte augmentation de la quantité de réticulum endoplasmique granulaire, d'appareil de Golgi et de mitochondries, et

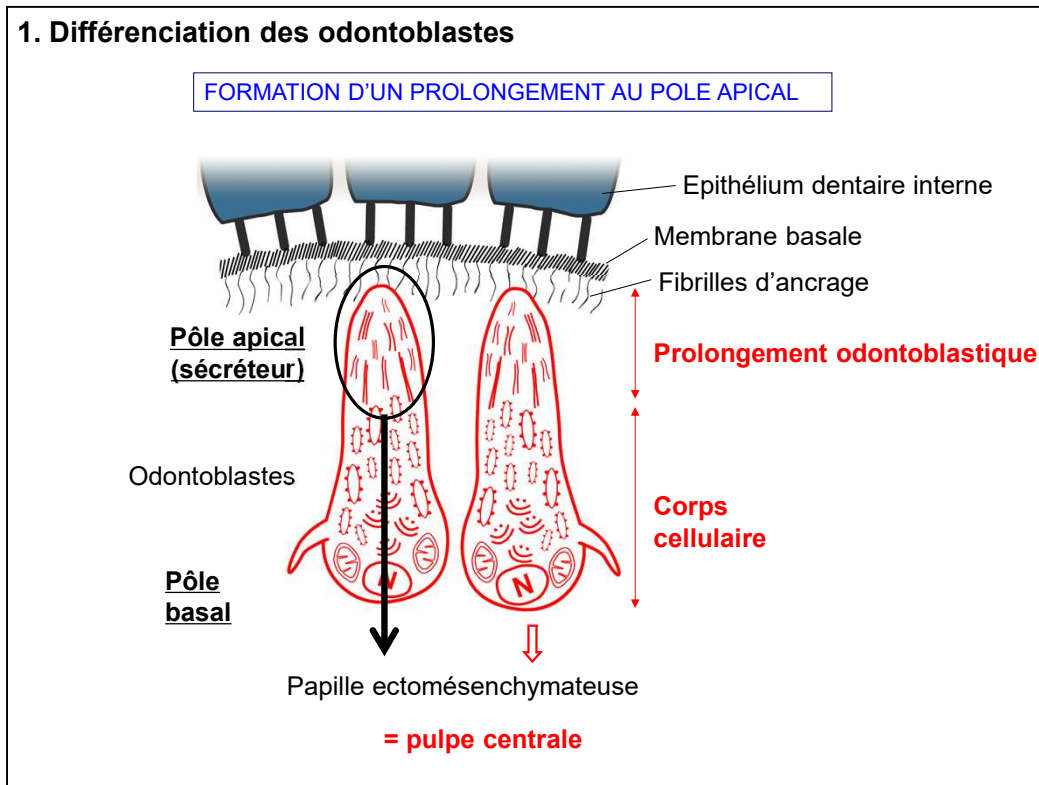
-> le corps cellulaire s'allonge pour atteindre une hauteur d'environ 50 µm.

-> La région de la cellule où se trouve le noyau devient le **pôle basal**,

-> la région opposée, proche des fibrilles d'ancrage, devient le pôle apical sécréteur.

A ce stade, la cellule a grossièrement une forme de poire.

1. Différenciation des odontoblastes

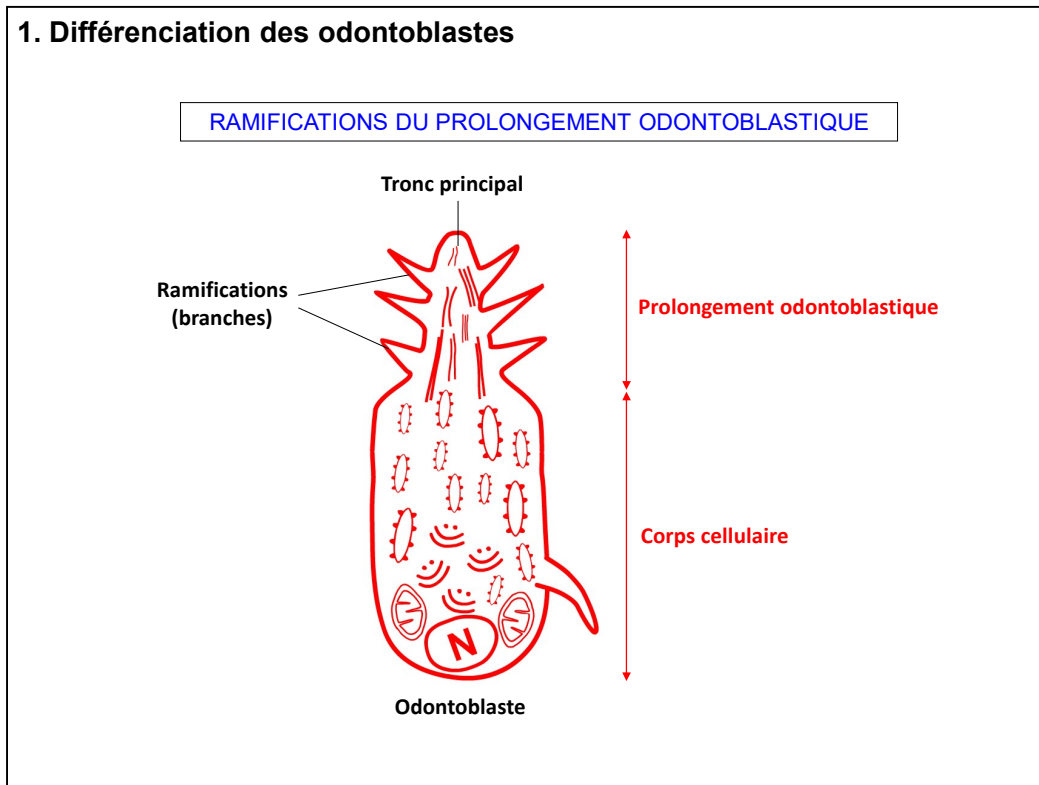


-> Puis, un prolongement se forme au pôle apical, au contact des fibrilles d'ancrage.

-> Son allongement progressif entraîne le recul des corps cellulaires odontoblastiques en direction du centre de la papille ectomésenchymateuse.

Dès la différenciation des premiers odontoblastes, la papille ectomésenchymateuse prend le nom de pulpe dentaire.

1. Différenciation des odontoblastes



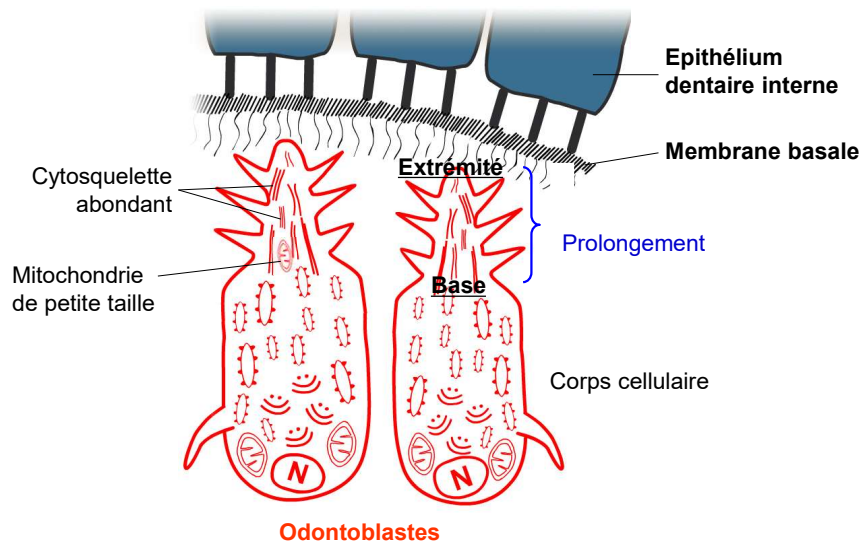
Une fois formé,

-> le prolongement se ramifie rapidement pour donner de nombreuses branches qui vont s'étendre latéralement

-> par rapport au tronc principal.

1. Différenciation des odontoblastes

ORGANISATION DU PROLONGEMENT ODONTOBLASTIQUE



-> Le prolongement contient un cytosquelette abondant. Il ne contient pas d'organites de synthèse, à l'exception de

-> quelques mitochondries de petite taille présentes à sa base, dans la région voisine du corps cellulaire.

Il contiendra plus tard, au moment de la production et de la maturation de la prédentine, de nombreuses vésicules de sécrétion renfermant les constituants de la prédentine, et des vésicules d'endocytose renfermant les fragments issus de la dégradation partielle de la prédentine qui survient au cours du processus de maturation.

1. Différenciation des odontoblastes

TOILE TERMINALE A LA LIMITE ENTRE LE CORPS CELLULAIRE
ET LE PROLONGEMENT ODONTOBLASTIQUE

= toile terminale ou barre terminale

Filaments

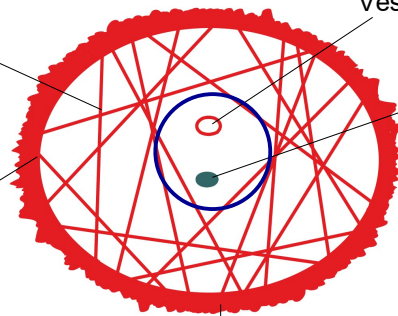
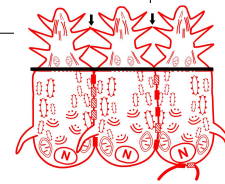
intracytoplasmiques
d'actine et de vimentine

Membrane plasmique

Vésicule de sécrétion

Vésicule d'endocytose

Complexe de jonction circulaire
(jonctions adhérentes et serrées)



A la limite entre le corps cellulaire et le prolongement odontoblastique,

-> de nombreux filaments d'actine et de vimentine viennent se fixer sur la face interne de la membrane plasmique

-> pour former une structure appelée toile terminale ou barre terminale.

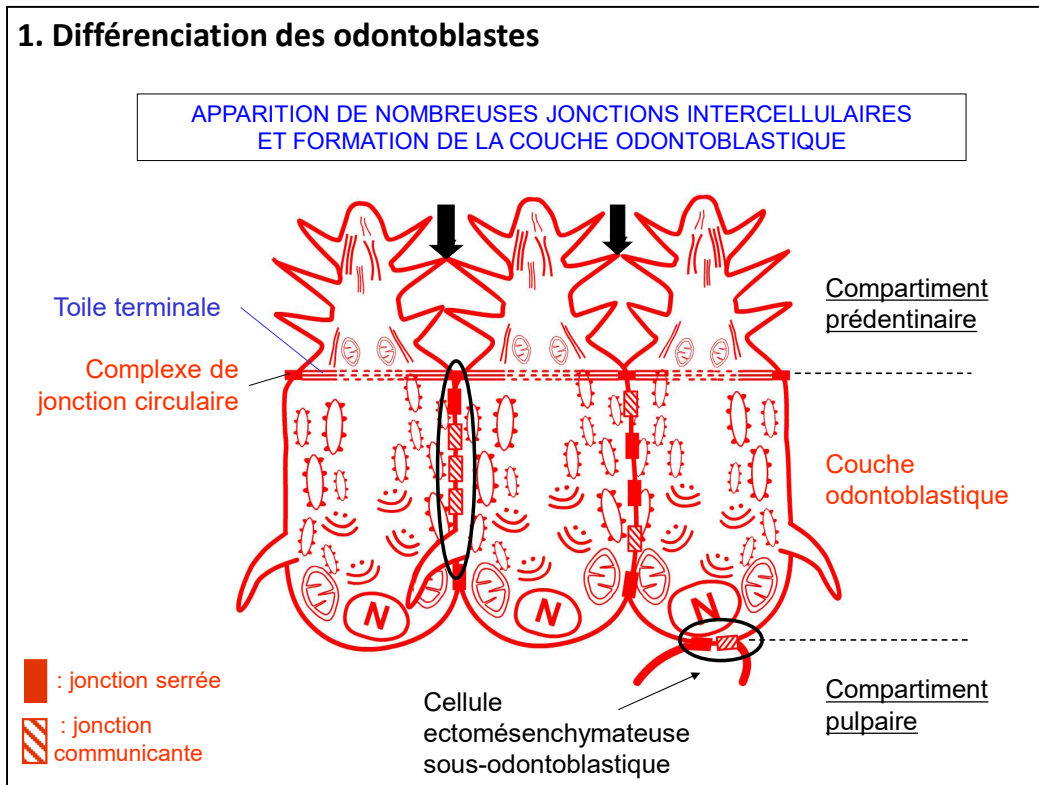
Ces filaments tissent en effet dans le cytoplasme une toile transversale -> qui sépare le cytoplasme du prolongement de celui du corps cellulaire. La toile terminale fonctionne comme un filtre qui maintient dans le corps cellulaire les organites de grande taille (appareil de Golgi, reticulum endoplasmique granulaire, grosses mitochondries,...),

-> mais laisse passer les vésicules de sécrétion et d'endocytose qui sont de plus petit diamètre.

-> Le passage a lieu surtout dans la partie centrale car la toile est plus lâche à ce niveau.

-> A l'endroit de la membrane plasmique où s'accroche la toile terminale, un complexe circulaire de jonctions intercellulaires apparaît. Il relie l'odontoblaste aux odontoblastes voisins. Il est constitué de nombreuses jonctions adhérentes et de quelques jonctions serrées.

1. Différenciation des odontoblastes



En marge de la toile terminale, de nombreuses jonctions serrées et jonctions communicantes apparaissent

-> entre les odontoblastes, et

-> entre les odontoblastes et les cellules sous-odontoblastiques.

-> Les ramifications des prolongements odontoblastiques entrent également en contact avec les ramifications des prolongements adjacents. Ces contacts vous sont indiqués par les flèches noires.

Ils vont permettre de créer un réseau tridimensionnel à l'intérieur de la dentine pour que les odontoblastes puissent échanger des informations sur les modifications de leur environnement dentinaire.

L'apparition des jonctions inter-odontoblastiques conduit à la formation d'une couche cohésive de cellules,

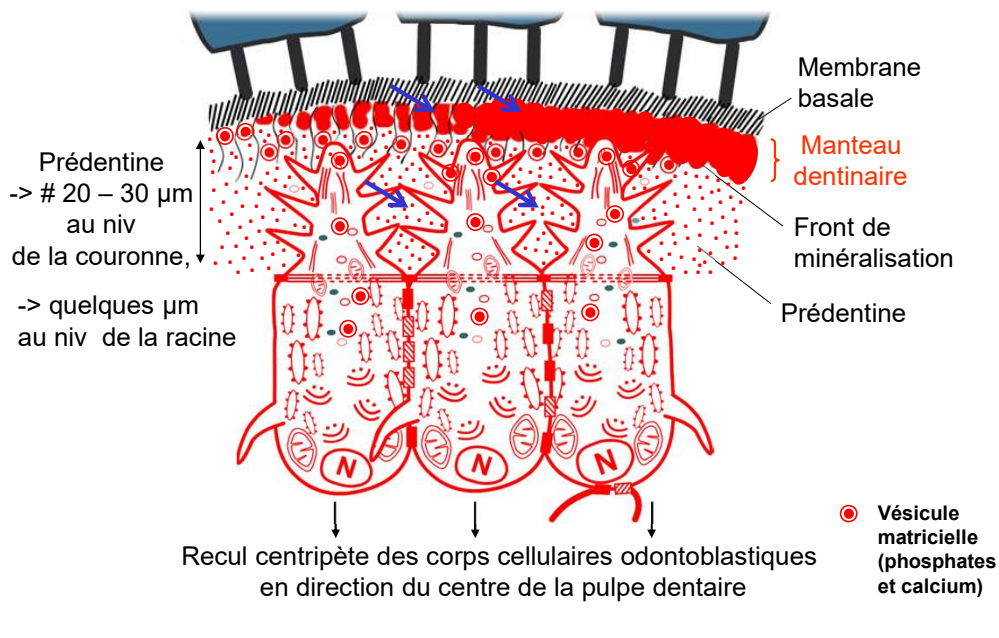
-> la couche odontoblastique,

-> qui isole la pulpe

-> du compartiment extracellulaire proche de la membrane basale dans lequel la prédentine va être déposée, puis minéralisée.

1. Différenciation des odontoblastes

ODONTOBLASTES SECRETEURS (DIFFERENCIATION FONCTIONNELLE)



Une fois la couche odontoblastique formée, les odontoblastes se différencient sur le plan fonctionnel et synthétisent les constituants de la prédentine.

Ces derniers sont sécrétés -> tout d'abord entre les fibrilles d'ancrage de la membrane basale, puis, plus tard, -> autour des prolongements odontoblastiques.

En l'absence de pathologie dentaire, les odontoblastes déposent de la prédentine durant toute la vie de la dent, c'est-à-dire durant toute la vie de l'individu. Toutefois, la vitesse de ce dépôt ralentit fortement après l'éruption de la dent dans la cavité buccale. Ceci évite le comblement et la disparition prématurée de la pulpe dentaire.

Une fois sécrétée, la prédentine subit un phénomène de maturation, puis elle se minéralise dans la partie la plus éloignée du corps cellulaire, -> entre les fibrilles d'ancrage, là où la maturation est terminée.

Cette première couche de dentine est appelée -> manteau dentinaire.

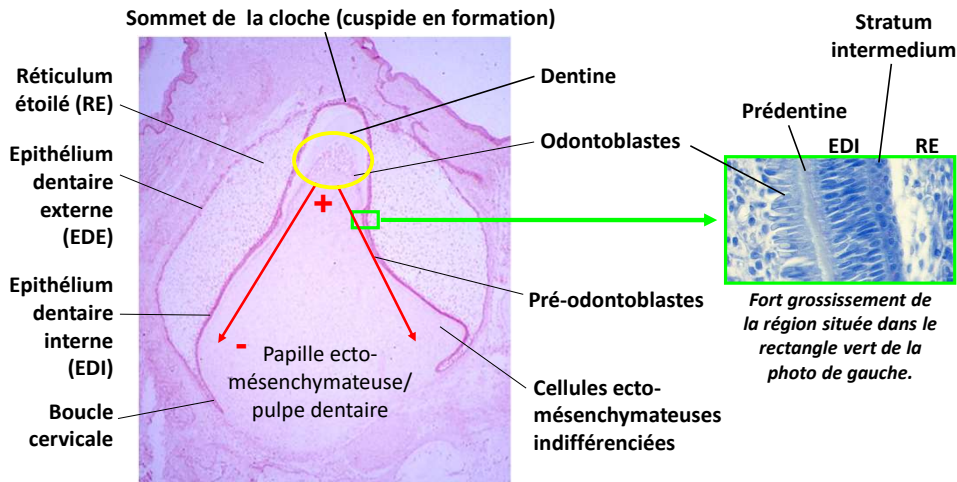
Les ions phosphates et calcium nécessaires à sa minéralisation sont apportés par -> des vésicules matricielles issues du prolongement odontoblastique. Nous verrons plus tard que la minéralisation de la prédentine entre les prolongements odontoblastiques a lieu en l'absence de vésicules matricielles.

La minéralisation débute lorsque la prédentine atteint une épaisseur d'environ 20 à 30 µm au niveau de la couronne et de quelques microns au niveau de la racine.

L'interface entre la prédentine, non minéralisée, et la dentine, minéralisée, est appelée -> front de minéralisation.

1. Différenciation des odontoblastes

DIFFERENCIATION DES PREMIERS ODONTOBLASTES AU SOMMET DE LA CLOCHE



Coupe histologique d'un germe dentaire de canine humaine (faible grossissement) : la différenciation des odontoblastes commence au sommet de la cloche (niveau de la cuspide en formation) et progresse latéralement sous l'épithélium dentaire interne (flèches rouges).

Cette coupe histologique d'un germe de canine temporaire humaine vous montre que la différenciation des odontoblastes débute -> au sommet de la cloche, à l'endroit où va se former la cuspide, qui est la pointe présente sur la couronne de la dent. (Si vous regardez votre denture dans un miroir, vous verrez qu'une canine possède une cuspide, mais qu'une molaire en possède plusieurs).

Lorsque les premiers odontoblastes se sont différenciés au sommet de la cloche, la différenciation se poursuit de proche en proche sur les bords latéraux de la papille ectomésenchymateuse, -> dans le sens indiqué par les flèches rouges. On parle de gradient temporo-spatial de différenciation odontoblastique.

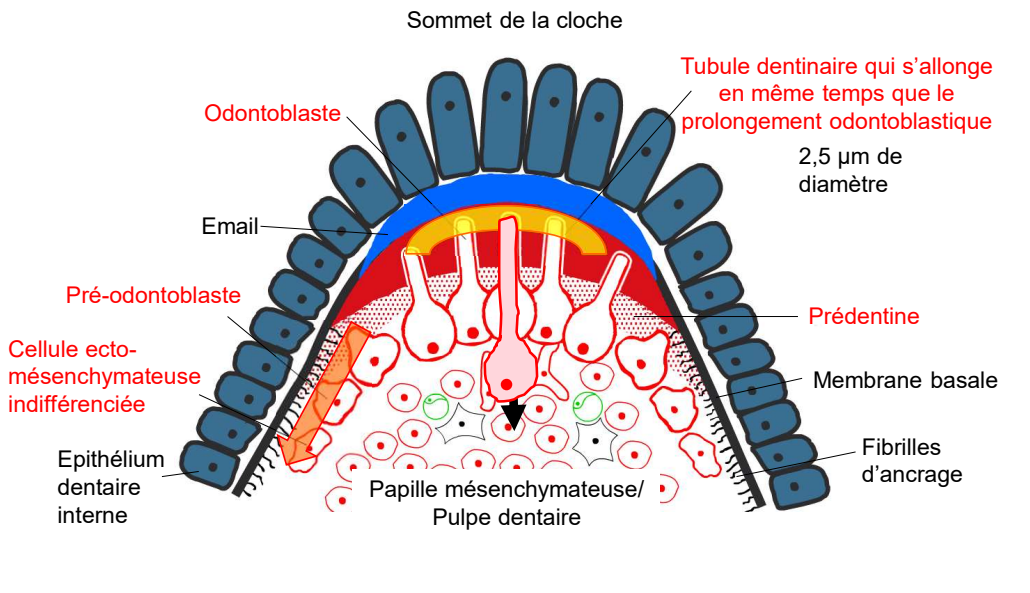
Les cellules ectomésenchymateuses les plus différenciées sont au sommet de la cloche -> , alors que les moins différenciées sont proches -> de la boucle cervicale.

-> Le fort grossissement présenté dans le cadre vert vous montre de gauche à droite des -> odontoblastes nouvellement différenciés, -> la prédentine, -> l'épithélium dentaire interne,

-> le stratum intermedium et -> le réticulum étoilé.

1. Différenciation des odontoblastes

GRADIENT TEMPORO-SPATIAL DE DIFFÉRENCIATION DES ODONTOBLASTES
(schéma du sommet de la cloche à fort grossissement)

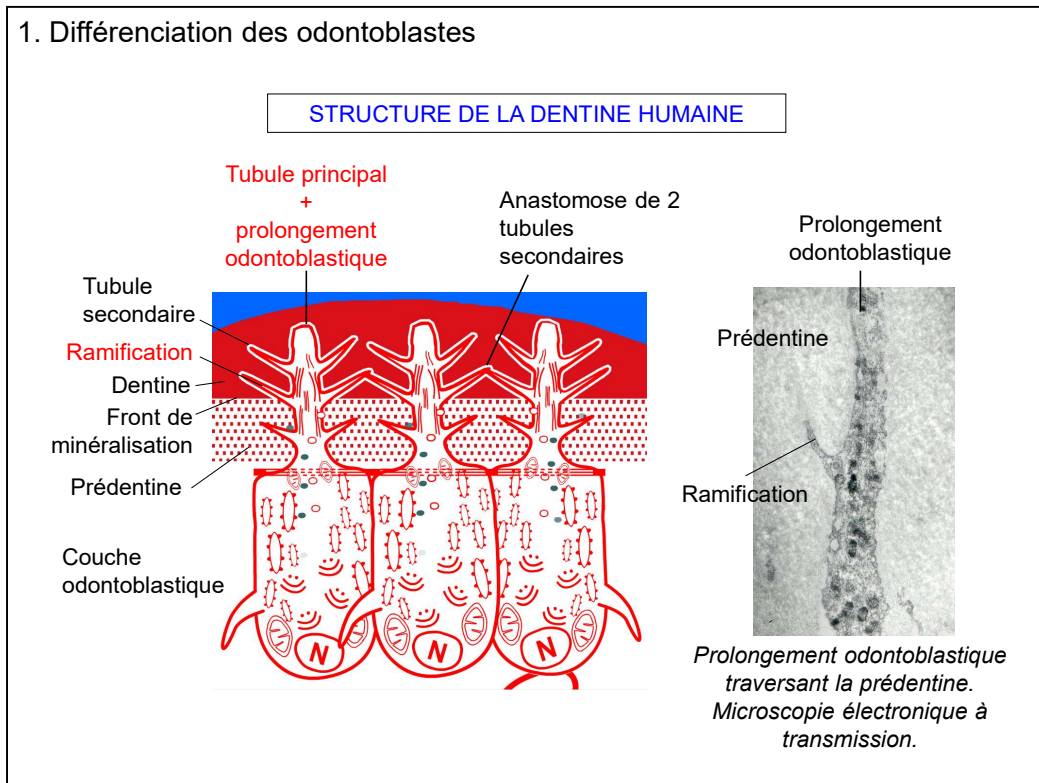


-> Odontoblastes; -> pre-odontoblastes; cell ecto-mésenchymateuse indifférenciée

Ce schéma illustre à fort grossissement le gradient temporo-spatial de différenciation odontoblastique qui part du sommet -> de la cloche pour se diriger -> vers la boucle cervicale.

Il montre également comment le dépôt continu -> de prédentine repousse le corps cellulaire de l'odontoblaste -> vers le centre de la pulpe dentaire. Ce phénomène, indiqué par la flèche noire, accroît progressivement -> la taille du prolongement qui se trouve progressivement inclus dans un -> petit tube de dentine, appelé tubule dentinaire, qui s'allonge en même temps que lui. Ce tubule, très fin, fait environ -> 2,5 µm de diamètre.

1. Différenciation des odontoblastes

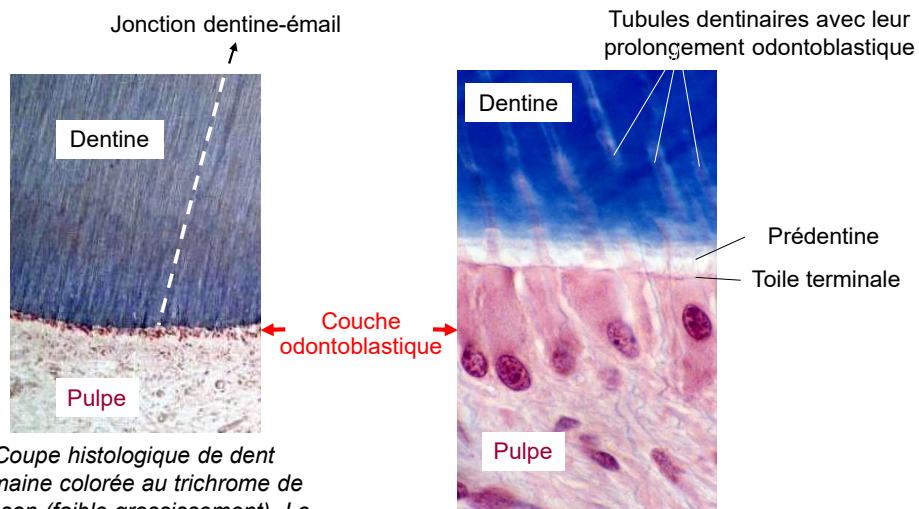


La dentine humaine est ainsi une structure formée de plusieurs dizaines de milliers de tubules à peu près parallèles les uns aux autres et qui lui confèrent une grande perméabilité, notamment vis-à-vis des bactéries qui pénètrent dans la dentine lors des infections carieuses.

Cette perméabilité est accrue par la formation de -> tubules secondaires autour des -> ramifications des prolongements principaux, -> tubules pour la plupart anastomosés avec les tubules voisins.

A droite, l'image de microscopie électronique à transmission vous montre -> une ramification du -> prolongement qui s'étend dans la prédentine.

1. Différenciation des odontoblastes



Coupe histologique de dent humaine colorée au trichrome de Masson (faible grossissement). Le trait pointillé indique la direction des tubules qui apparaissent en bleu clair dans la dentine bleu foncée.

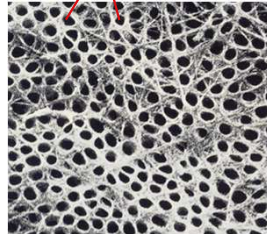
Coupe histologique de dent humaine colorée au trichrome de Masson (fort grossissement).

Cette coupe histologique à faible grossissement vous montre -> l'alignement parallèle des nombreux tubules qui parcourent la dentine depuis -> la couche odontoblastique en direction de la -> jonction dentine-émail, non visible sur l'image.

- A droite, une coupe histologique observée à fort grossissement vous montre la présence d'un prolongement odontoblastique dans chacun des tubules.

1. Différenciation des odontoblastes

Tubules dentinaires
(diamètre $\approx 2,5 \mu\text{m}$)

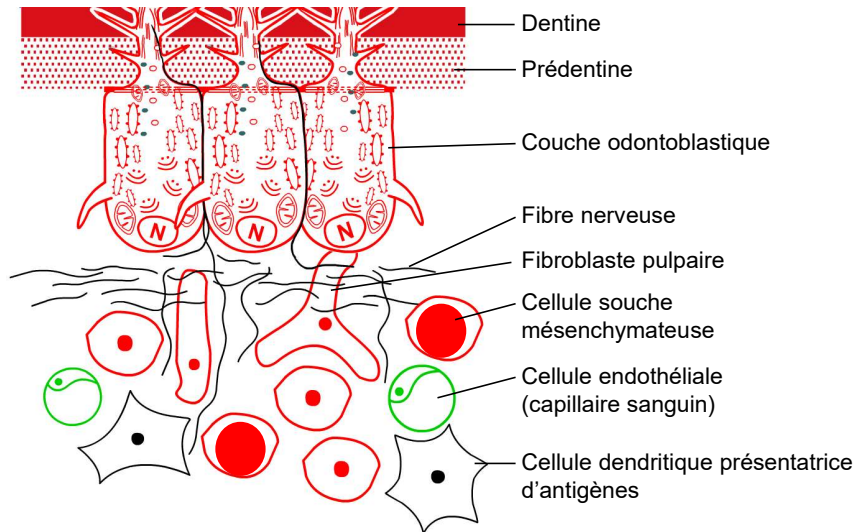


*Interface dentine-pulpe
observée en microscopie
électronique à balayage
depuis la pulpe après
l'élimination de la couche
odontoblastique. L'entrée
des tubules dentinaires
est clairement visible.*

Cette image vous montre l'interface dentine-pulpe observée en microscopie électronique à balayage depuis la pulpe après l'élimination de la couche odontoblastique. L'entrée des tubules est clairement visible. Vous remarquerez la forte densité tubulaire qui confère à la dentine une grande porosité.

1. Différenciation des odontoblastes

RELATIONS DES ODONTOBLASTES AVEC LES CELLULES SOUS-ODONTOBLASTIQUES



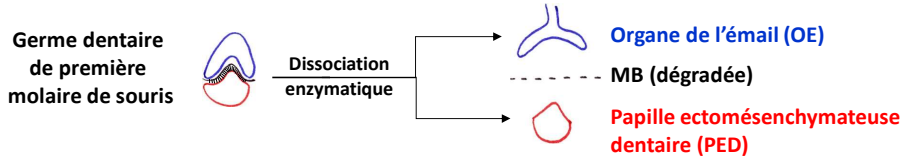
Durant toute la vie de la dent, les odontoblastes sont en relation étroite avec les cellules de la région sous-odontoblastique. Ils sont très proches de plusieurs types de cellules pulpairent et sont notamment, comme nous l'avons déjà vu, en contact direct avec des fibroblastes pulpairent par l'intermédiaire de jonctions communicantes et de jonctions serrées. Ils sont également proches des cellules endothéliales des capillaires sanguins qui leur apportent l'oxygène et les nutriments nécessaires à leur métabolisme de base et à la synthèse de la dentine. Ils sont aussi proches des cellules immunitaires pulpairent, et notamment des cellules dendritiques présentatrices d'antigènes qui assurent la protection de la pulpe face aux bactéries buccales qui pénètrent dans la dent lors du processus carieux. Enfin, ils sont très proches des fibres nerveuses pulpairent dont la plupart se terminent dans la région sous-odontoblastique, mais dont certaines s'insinuent entre les odontoblastes pour pénétrer dans les tubules sur une courte distance. Ces fibres nerveuses interviennent dans la douleur ressentie en cas d'agression sur la dentine. Elles sont notamment stimulées par le froid.

2. Régulation de la différenciation odontoblastique

- Etudiée au niveau tissulaire, puis au niveau moléculaire.

* Au niveau tissulaire :

Apport des expériences de dissociation de germes de premières molaires de souris.



Mise en évidence du rôle déterminant de l'épithélium dentaire interne et de la membrane basale.

* Au niveau moléculaire :

Apport des cultures de papilles ectomésenchymateuses de premières molaires de souris en présence de molécules spécifiques.

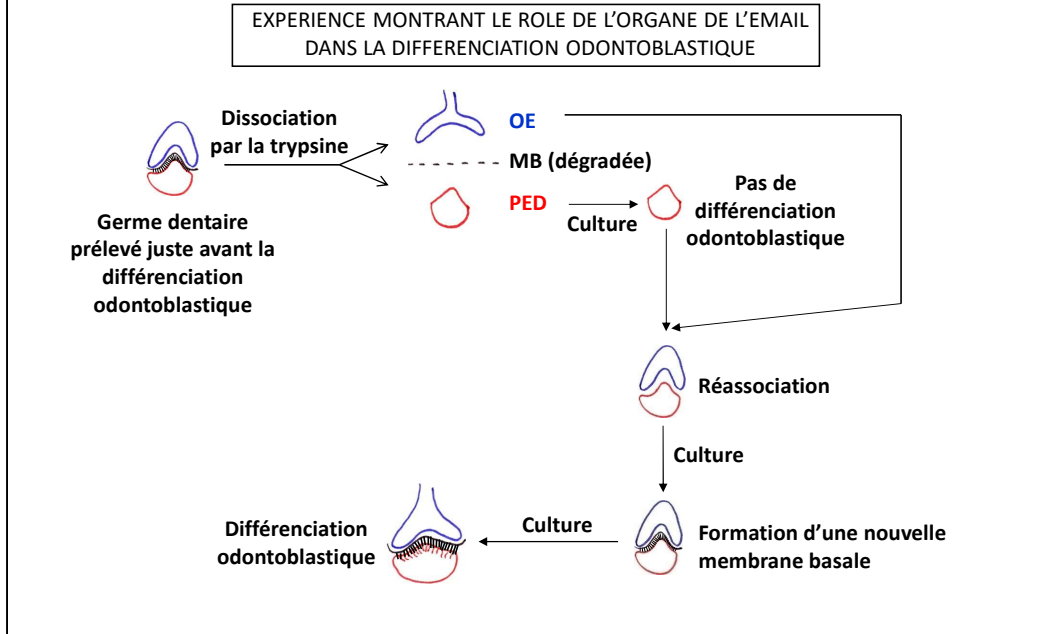


Mise en évidence du rôle déterminant de la fibronectine et du TGF- β 1.

La différenciation odontoblastique est un phénomène hautement régulé - qui a été étudié au niveau tissulaire puis au niveau moléculaire. - Au niveau tissulaire, de nombreuses découvertes ont été réalisées grâce à des expériences faisant appel à la dissociation enzymatique de germes dentaires de premières molaires de souris. Cette dissociation permet de séparer l'organe de l'émail de la papille ectomésenchymateuse en dégradant la membrane basale et de cultiver in vitro chacun des deux tissus séparément. Les expériences réalisées ont montré que la différenciation odontoblastique est induite par l'épithélium dentaire interne et contrôlée par la membrane basale interposée entre les 2 tissus. - Au niveau moléculaire, la culture de papilles ectomésenchymateuses de premières molaires de souris en présence de molécules spécifiques a permis de montrer le rôle de la fibronectine et du facteur de croissance TGF-beta1 dans l'induction de la différenciation odontoblastique.

2. Régulation de la différenciation odontoblastique

2.1. Régulation par l'épithélium dentaire interne et la membrane basale

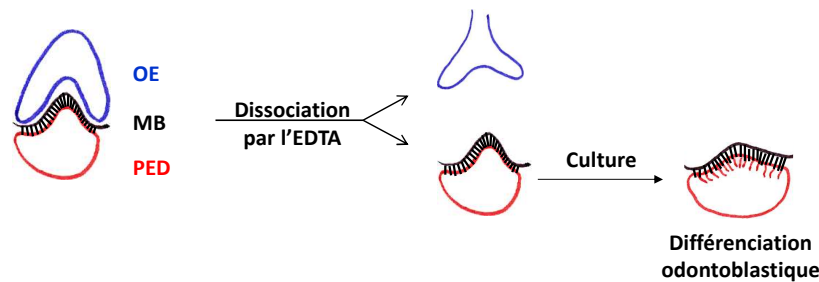


Voici tout d'abord l'expérience qui a permis de montrer le rôle de l'organe de l'émail dans la différenciation odontoblastique. Si l'on dissocie un germe dentaire de première molaire de souris prélevé au début du stade de la cloche par une enzyme comme la trypsine qui détruit la membrane basale, et que l'on met en culture la papille ectomesenchymateuse seule, les cellules périphériques de la papille ne se différencient pas en odontoblastes quelle que soit la durée de la culture. Mais si l'on prend cette papille en culture et qu'on la réassocie avec un organe de l'émail, il se forme une nouvelle membrane basale entre l'épithélium et l'ectomesenchyme, et les cellules périphériques de la papille se différencient en odontoblastes. Cette différenciation n'a lieu qu'après que la nouvelle membrane basale a été formée. En son absence, la différenciation ne se produit pas.

2. Régulation de la différenciation odontoblastique

2.1. Régulation par l'épithélium dentaire interne et la membrane basale

EXPERIENCE CONFIRMANT LE ROLE DE LA MEMBRANE BASALE
DANS LA DIFFERENCIATION ODONTOBLASTIQUE



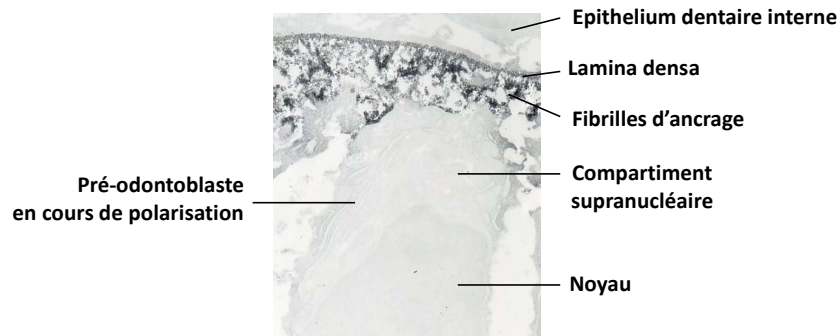
EDTA = Acide Ethylène Diamine Tétracétique

D'autres expériences ont confirmé le rôle capital de la membrane basale dans la différenciation odontoblastique. Ce sont en particulier des expériences au cours desquelles la trypsine a été remplacée par un chélateur du calcium, l'acide éthylène diamine tétracétique (ou EDTA), pour séparer l'organe de l'émail de la papille ectomésenchymateuse. En effet, si l'on dissocie un germe de première molaire de souris avec l'EDTA, on ne détruit pas la membrane basale, mais on sépare l'épithélium et l'ectomésenchyme au niveau de la lamina lucida, entre l'épithélium dentaire interne et la lamina densa. La lamina densa et les fibrilles d'ancrage restent accrochées à la papille ectomésenchymateuse. La culture de cette papille, en l'absence d'épithélium, montre que les cellules périphériques s'accrochent aux fibrilles d'ancrage et se différencient en odontoblastes. Ceci signifie que l'information en provenance de l'organe de l'émail est stockée dans la membrane basale. Une fois qu'elle est dans les fibrilles d'ancrage, l'épithélium n'est plus nécessaire.

2. Régulation de la différenciation odontoblastique

2.2. Régulation par les composants de la membrane basale et les facteurs de croissance

MISE EN EVIDENCE DE LA FIBRONECTINE DANS LES FIBRILLES D'ANCRAGE DE LA MEMBRANE BASALE AU MOMENT DE LA POLARISATION ODONTOBLASTIQUE



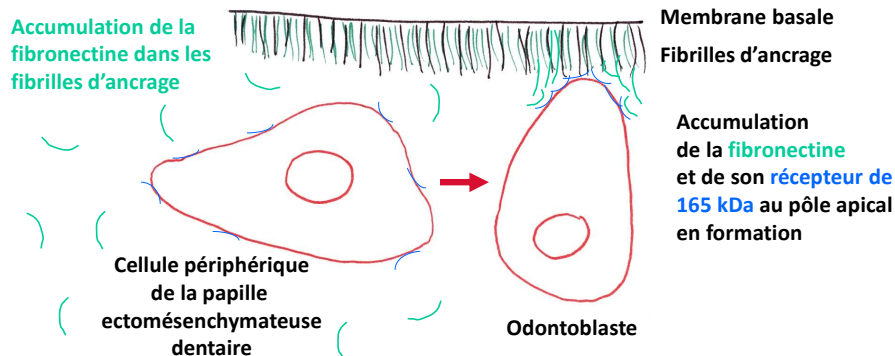
Immunomarquage de la fibronectine en microscopie électronique : les fibrilles d'ancrage de la membrane basale sont fortement marquées par l'anticorps spécifique anti-fibronectine (coloration noire).

Suite à ces découvertes, plusieurs études ont cherché à identifier les molécules constitutives des fibrilles d'ancrage, et à déterminer leur rôle exact dans la différenciation odontoblastique. Ces études se sont principalement focalisées sur la fibronectine, une glycoprotéine impliquée dans l'adhésion des cellules à la matrice extracellulaire. - Cette image de microscopie électronique vous montre l'immunolocalisation de la fibronectine dans un germe dentaire au moment de la polarisation odontoblastique. Comme vous le voyez, les fibrilles d'ancrage sont fortement marquées.

2. Régulation de la différenciation odontoblastique

2.2. Régulation par les composants de la membrane basale et les facteurs de croissance

ROLE DE L'ASSOCIATION FIBRONECTINE-RECEPTEUR DE 165 kDa
DANS LA POLARISATION ODONTOBLASTIQUE



Comment agit la fibronectine pour réguler la polarisation odontoblastique ? Il a été observé que la fibronectine qui entoure complètement les cellules ectomesenchymateuses périphériques s'accumule progressivement dans les fibrilles d'ancrage lorsque ces cellules se rapprochent de la membrane basale. Parallèlement, un récepteur de la fibronectine de 165 kDa apparaît dans la membrane plasmique des cellules ectomesenchymateuses proches de la membrane basale. Les deux molécules vont interagir lorsque les cellules arrivent au contact des fibrilles d'ancrage, ce qui permet l'accrochage des cellules aux fibrilles et déclenche le phénomène de polarisation. Ce rôle de la fibronectine a été confirmé par des expériences de mise en culture de germes dentaires en présence d'un anticorps qui empêche la liaison de la fibronectine à son récepteur. Dans ce cas, l'accrochage des cellules aux fibrilles d'ancrage n'a pas lieu et la polarisation odontoblastique est inhibée.

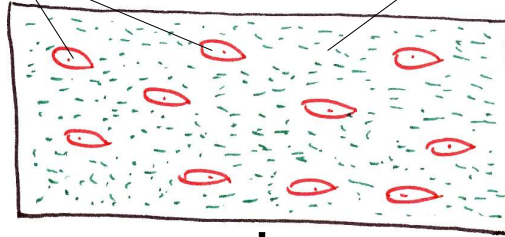
2. Régulation de la différenciation odontoblastique

2.2. Régulation par les composants de la membrane basale et les facteurs de croissance

INCAPACITE DE LA FIBRONECTINE A INDUIRE SEULE LA POLARISATION ODONTOBLASTIQUE

Cellules dissociées de papille
ectomésenchymateuse dentaire de souris

Substrat de culture
recouvert de **fibronectine**



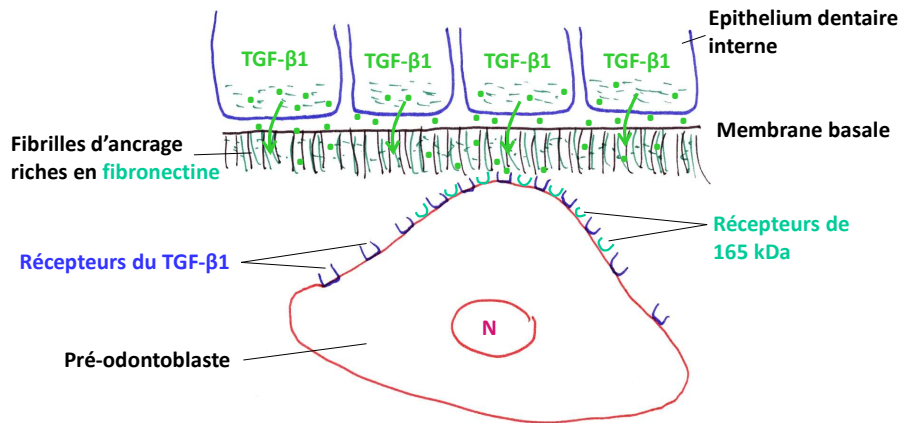
Les cellules ne polarisent pas

Cependant, la fibronectine à elle-seule n'est pas capable d'induire la différenciation odontoblastique. En effet, des cellules de papille ectomésenchymateuse dentaire de souris, mises en culture sur une surface recouverte d'un tapis de fibronectine, ne polarisent pas. La fibronectine est donc nécessaire, mais pas suffisante, pour induire la différenciation odontoblastique. Il est probable que cette dernière nécessite l'association de la fibronectine avec d'autres composants présents dans les fibrilles d'ancrage de la membrane basale.

2. Régulation de la différenciation odontoblastique

2.2. Régulation par les composants de la membrane basale et les facteurs de croissance

EXPRESSION DU TGF- β 1 ET DE SES RECEPTEURS LORS DE LA POLARISATION ODONTOBLASTIQUE

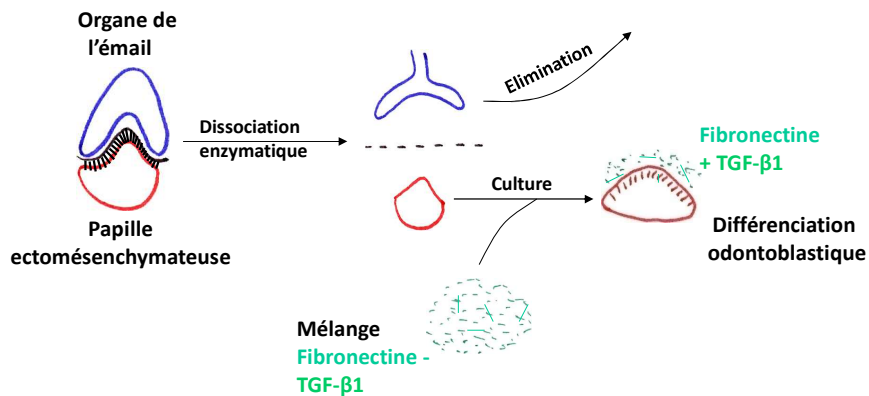


L'un de ces composants est le TGF-beta1, un facteur de croissance multifonctionnel produit en quantité importante par les cellules de l'épithélium dentaire interne, juste avant et pendant la polarisation odontoblastique. Différentes études de localisation ont montré que ce facteur était stocké, après sécrétion par l'épithélium, dans les fibrilles d'ancrage de la membrane basale enrichies en fibronectine. Un troisième argument en faveur d'un rôle de cette molécule dans la différenciation odontoblastique est que ses récepteurs membranaires sont exprimés fortement à la surface des cellules ectomésenchymateuses périphériques avant et au moment de leur polarisation.

2. Régulation de la différenciation odontoblastique

2.2. Régulation par les composants de la membrane basale et les facteurs de croissance

EXPERIENCE MONTRANT LE RÔLE DE L'ASSOCIATION FIBRONECTINE-TGF- β 1 DANS LA POLARISATION ODONTOBLASTIQUE



Le rôle du TGF-beta1 a été démontré, là encore, par des études réalisées avec des papilles ectomésenchymateuses de premières molaires de souris. Ces études ont montré que le TGF-beta1 est capable d'induire la différenciation odontoblastique lorsqu'il est associé à la fibronectine et placé au contact de ces papilles. Donc, en résumé, le TGF-beta1 produit par l'épithélium dentaire interne s'associe à la fibronectine des fibrilles d'ancrage, puis est reconnu par ses récepteurs spécifiques présents à la surface des pré-odontoblastes, et provoque, en association avec la fibronectine, la polarisation puis l'activation fonctionnelle de la cellule.

3. Composition et maturation de la matrice dentinaire

La matrice dentinaire contient :

- Essentiellement :

* *COLLAGENE DE TYPE I*

- En quantité relativement importante :

* *Glycoprotéines non collagéniques impliquées dans la minéralisation*

- En faible quantité :

* *Autres types de collagènes*

* *Protéoglycanes*

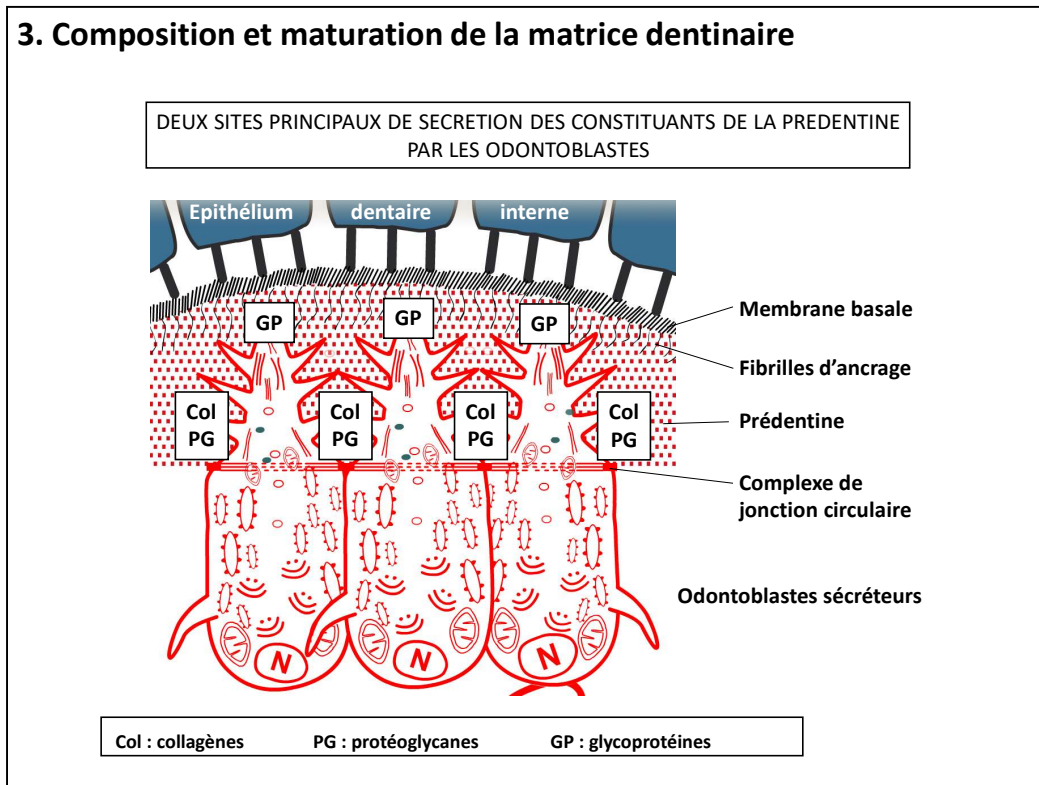
* *Métalloprotéases matricielles*

* *Facteurs de croissance*

* *Autres composants (protéines de l'émail, protéines sériques, phospholipides)*

Voyons à présent la composition et la maturation de la matrice dentinaire. - La matrice dentinaire contient essentiellement du collagène de type I, mais on y trouve également - en quantité relativement importante des glycoprotéines non-collagéniques impliquées dans la minéralisation, - et en plus faible quantité : d'autres types de collagène, des protéoglycanes, des métalloprotéases matricielles, des facteurs de croissance, et divers composants parmi lesquels des protéines de l'émail, des protéines sériques et des phospholipides.

3. Composition et maturation de la matrice dentinaire



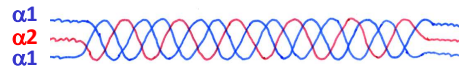
Il existe deux sites principaux pour la sécrétion des constituants de la prédentine par les odontoblastes : L'un est situé à la base du prolongement, à proximité du corps cellulaire. A son niveau sont sécrétés les collagènes et la plupart des protéoglycanes. L'autre est situé à l'extrémité du prolongement, à proximité des fibrilles d'ancrage entre lesquelles la première couche de minéral va être déposée. A son niveau sont sécrétées majoritairement les glycoprotéines qui régulent le processus de minéralisation de la prédentine. Puis, au fur et à mesure de la synthèse de la prédentine et du déplacement du front de minéralisation vers le centre de la pulpe, ce site de sécrétion va se déplacer le long du prolongement pour rester à proximité du front de minéralisation. A noter qu'une fois sécrétée, la prédentine subit une maturation qui comprend principalement la structuration du réseau collagénique et la dégradation de glycoprotéines et de protéoglycanes par des enzymes également sécrétés par les odontoblastes. Nous y reviendrons.

3. Composition et maturation de la matrice dentinaire

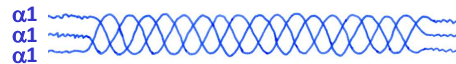
3.1. Les collagènes

- Collagène de type I : 85%.

* 85% de collagène I classique : $(\alpha1[I])_2(\alpha2[I])$



* 15% de collagène I trimère : $(\alpha1[I])_3$



- Ses rôles :

* **armature de la matrice dentinaire formée par un réseau de grosses fibres stabilisé par de nombreuses liaisons croisées covalentes inter-fibres (action de la lysyloxydase)**

* **support du minéral (hydroxyapatite carbonatée)**

- Autres collagènes :

* **collagène de type V (3%), associé au collagène de type I,**

* **faible quantité de collagène de type VI, près du corps cellulaire odontoblastique**

Abordons à présent dans le détail les constituants de la matrice dentinaire. Tout d'abord les plus abondants, les collagènes. Comme nous l'avons vu, - le collagène de type I est le composant le plus abondant de la matrice dentinaire : il en constitue environ 85%. Il est rencontré principalement (à hauteur de 85% environ) sous sa forme classique, associant deux chaînes alpha1(I) et une chaîne alpha2(I). Il est retrouvé également en quantité relativement abondante (environ 15%) sous forme de collagène de type I trimère, formé par l'association de trois chaînes alpha1(I). - Le rôle principal du collagène de type I est de constituer l'armature de la matrice dentinaire. Cette armature est formée par un réseau de fibres de collagène de gros diamètre. En effet, les molécules de procollagène sécrétées par les odontoblastes s'associent progressivement dans l'espace prédentinaire pour former des fibrilles, puis des fibres, dont le diamètre peut aller jusqu'à 200 nm. Le réseau collagénique ainsi formé est stabilisé par de nombreuses liaisons croisées covalentes qui s'établissent entre les fibres sous l'action de la lysyloxydase, une enzyme sécrétée par les odontoblastes dans la prédentine. L'épaisseur de la prédentine correspond au temps nécessaire à la formation et à la stabilisation de ce réseau collagénique. Le second rôle du collagène de type I est un rôle de support du minéral dentinaire, constitué essentiellement par des cristaux d'hydroxyapatite carbonatée. - La prédentine contient également du collagène de type V, qui représente environ 3% du collagène synthétisé et sécrété par les odontoblastes. Le collagène de type V est présent principalement en association avec les fibres de collagène de type I. Les odontoblastes sécrètent également une très faible quantité de collagène de type VI, localisé à proximité du corps cellulaire odontoblastique.

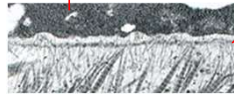
3. Composition et maturation de la matrice dentinaire

3.1. Les collagènes

DIFFERENCES DE TAILLE ET D'ORIENTATION DES FIBRES DE COLLAGENE DE TYPE I
DANS LA PRÉDENTINE

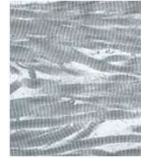
Dans la prédentine située entre les fibrilles d'ancrage, les fibres de collagène sont de petite taille et orientées parallèlement aux fibrilles d'ancrage (Microscopie électronique à transmission).

Cellule de l'épithélium dentaire interne



Lamina densa
Fibrilles d'ancrage

Dans la prédentine située autour des prolongements odontoblastiques, les fibres de collagène sont de gros diamètre et orientées perpendiculairement aux fibrilles d'ancrage (Microscopie électronique à transmission).

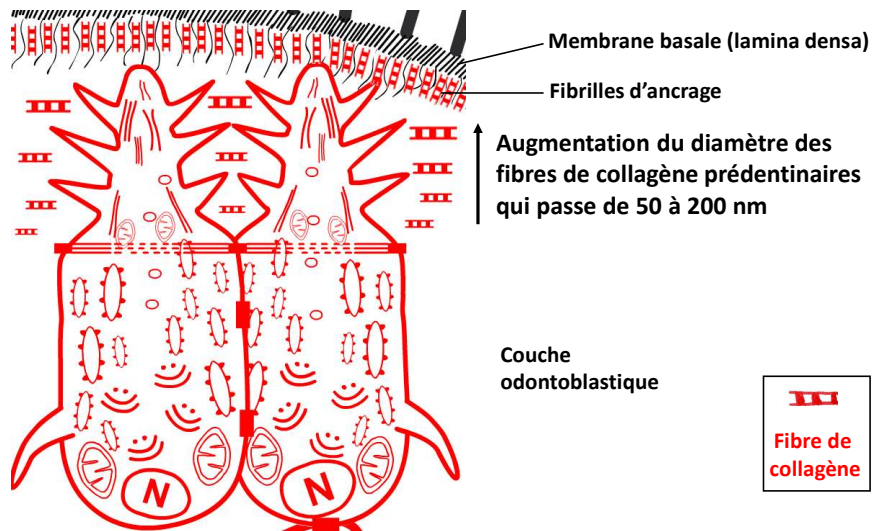


Dans la première couche de prédentine, située entre les fibrilles d'ancrage de la membrane basale, les fibres de collagène sont de petite taille et orientées parallèlement aux fibrilles d'ancrage. Cette orientation contribue à renforcer la cohésion entre la dentine et la première couche d'émail qui sera déposée sur le manteau dentinaire. - Dans la prédentine située autour des prolongements odontoblastiques, les fibres de collagène sont de gros diamètre et orientées perpendiculairement aux fibrilles d'ancrage. Elles confèrent au tissu une certaine élasticité qui lui permet d'amortir les chocs que subit la dentine lors de la mastication.

3. Composition et maturation de la matrice dentinaire

3.1. Les collagènes

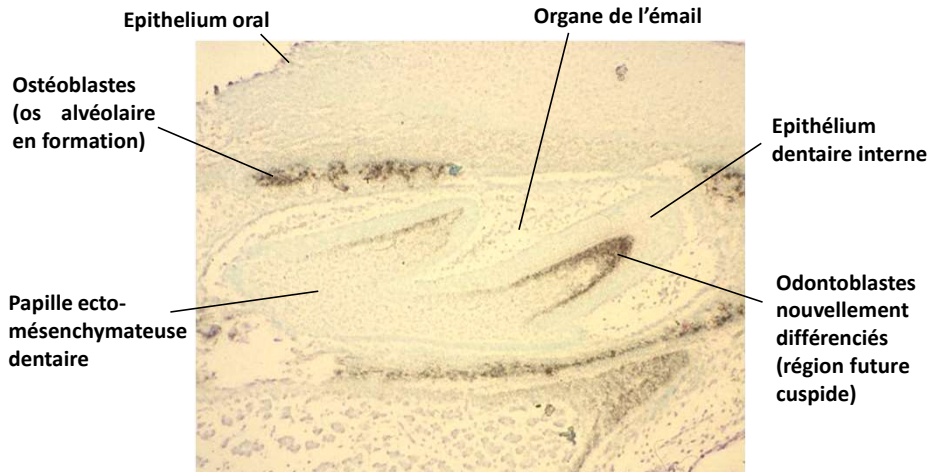
AUGMENTATION PROGRESSIVE DE LA TAILLE DES FIBRES DE COLLAGÈNE DE TYPE I
AU COURS DU PROCESSUS DE MATURATION DE LA PRÉDENTINE



Ce schéma vous montre l'augmentation progressive du diamètre des fibres de collagène de type I dans la prédentine située autour des prolongements, lors de la phase de maturation.

3. Composition et maturation de la matrice dentinaire

PRODUCTION DU COLLAGENE DE TYPE I DANS LE GERME DENTAIRE
PAR LES ODONTOBLASTES NOUVELLEMENT DIFFERENCIES

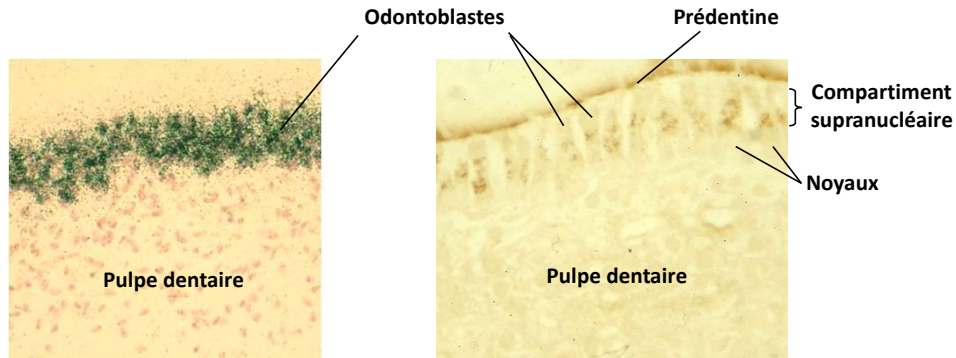


Expression du gène de la chaîne $\alpha 1$ du collagène de type I dans un germe dentaire de molaire par hybridation in situ (faible grossissement). Les odontoblastes sont clairement reconnus par la sonde nucléotidique (grains noirs), tout comme les ostéoblastes autour du germe.

Cette image vous montre la forte production de collagène de type I par les odontoblastes dans un germe dentaire de molaire en développement. L'expression du gène codant pour la chaîne alpha 1 du collagène de type I a été mise en évidence par hybridation in situ. Elle est visible sous la forme d'une accumulation de grains noirs dans les odontoblastes nouvellement différenciés dans la région de la future cuspidale. Vous remarquerez que les ostéoblastes qui forment l'os alvéolaire autour du germe dentaire sont également fortement marqués, ce qui suggère une production importante de collagène de type I par ces cellules. A l'inverse, les cellules épithéliales, qui ne produisent pas de collagène de type I, ne sont pas marquées.

3. Composition et maturation de la matrice dentinaire

PRODUCTION DU COLLAGÈNE DE TYPE I DANS LES ODONTOBLASTES SECRÉTEURS



Expression du gène de la chaîne $\alpha 1$ du collagène de type I dans le germe dentaire d'une canine humaine permanente par hybridation in situ (fort grossissement). Les odontoblastes sont clairement reconnus par la sonde nucléotidique (grains noirs).

Synthèse de collagène de type I par les odontoblastes à la jonction dentine-pulpe. Immunomarquage de la protéine avec un anticorps spécifique du collagène de type I. La région supra-nucléaire des odontoblastes et la prédentine sont clairement reconnues par l'anticorps (coloration marron).

Cette image vous montre, à fort grossissement, l'expression de la chaîne alpha 1 du collagène de type I dans la couche odontoblastique d'une canine humaine permanente. - Sur l'image de droite, la localisation immunohistochimique du collagène de type I avec un anticorps spécifique montre un fort marquage de la prédentine, ainsi que du compartiment supranucléaire odontoblastique qui contient les organites (réticulum endoplasmique granulaire et appareil de Golgi) dans lesquels sont produites les molécules de collagène. Logiquement, les noyaux des odontoblastes ne sont pas marqués.

3. Composition et maturation de la matrice dentinaire

3.2. Les protéines non-collagéniques

3.2.1. Les SIBLINGs (*Small Integrin-binding Ligand, N-linked Glycoproteins*)

- Elles sont au nombre de 5 :

** La sialophosphoprotéine dentinaire*

** La phosphoprotéine matricielle dentinaire-1*

** La sialoprotéine osseuse*

** L'ostéopontine*

** La phosphoglycoprotéine extracellulaire matricielle*

Il est aujourd'hui clairement établi que la minéralisation de la pré dentine débute au niveau des fibres de collagène de type I. Toutefois, celles-ci ne l'induisent pas directement. En effet, la minéralisation est initiée par des protéines non collagéniques qui se fixent sur les fibres de collagène, et organisent le dépôt de l'hydroxyapatite à l'intérieur et à la surface de ces fibres. Les odontoblastes produisent de nombreuses protéines non-collagéniques, - les plus abondantes étant celles de la famille des SIBLINGs qui sont au nombre de cinq : la sialophosphoprotéine dentinaire, la phosphoprotéine matricielle dentinaire-1, la sialoprotéine osseuse, l'ostéopontine et la phosphoglycoprotéine extracellulaire matricielle.

3. Composition et maturation de la matrice dentinaire

3.2. Les protéines non-collagéniques

3.2.1. Les SIBLINGs

- Ont au moins 7 caractéristiques communes :

** Présentes principalement dans l'os et la dentine (mais en quantités différentes)*

** Sécrétées durant la formation et la minéralisation de ces 2 tissus*

** Possèdent une séquence adhésive RGD (arginine-glycine-acide aspartique) qui leur permet de se lier à la membrane cellulaire sur des récepteurs de type intégrines*

** Peuvent par ce biais transmettre un signal en activant des voies de signalisation intracellulaires*

** Phosphorylées, ce qui leur donne un caractère acide*

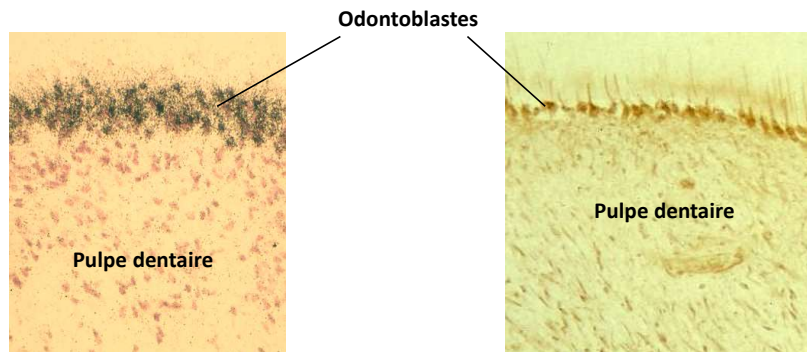
** Glycosylées*

** Leurs gènes, dont l'organisation est similaire, sont regroupés sur le bras long du chromosome 4 dans la région q21*

Les SIBLINGs ont au moins 7 caractéristiques communes : - elles sont présentes principalement dans l'os et la dentine (mais en quantités différentes), - elles sont sécrétées durant la formation et la minéralisation de ces 2 tissus, - elles possèdent une séquence adhésive RGD arginine-glycine-acide aspartique qui leur permet de se lier à la membrane cellulaire sur des récepteurs de type intégrines, - elles peuvent par ce biais transmettre un signal en activant des voies de signalisation intracellulaires, - elles sont phosphorylées, ce qui leur donne un caractère acide, - elles sont glycosylées. - Enfin, leurs gènes, dont l'organisation est similaire, sont regroupés sur le bras long du chromosome 4 dans la région q21. La SIBLING la plus importante pour la minéralisation de la pré-dentine est, comme nous allons le voir, la sialophosphoprotéine dentinaire.

La sialophosphoprotéine dentinaire (DSPP)

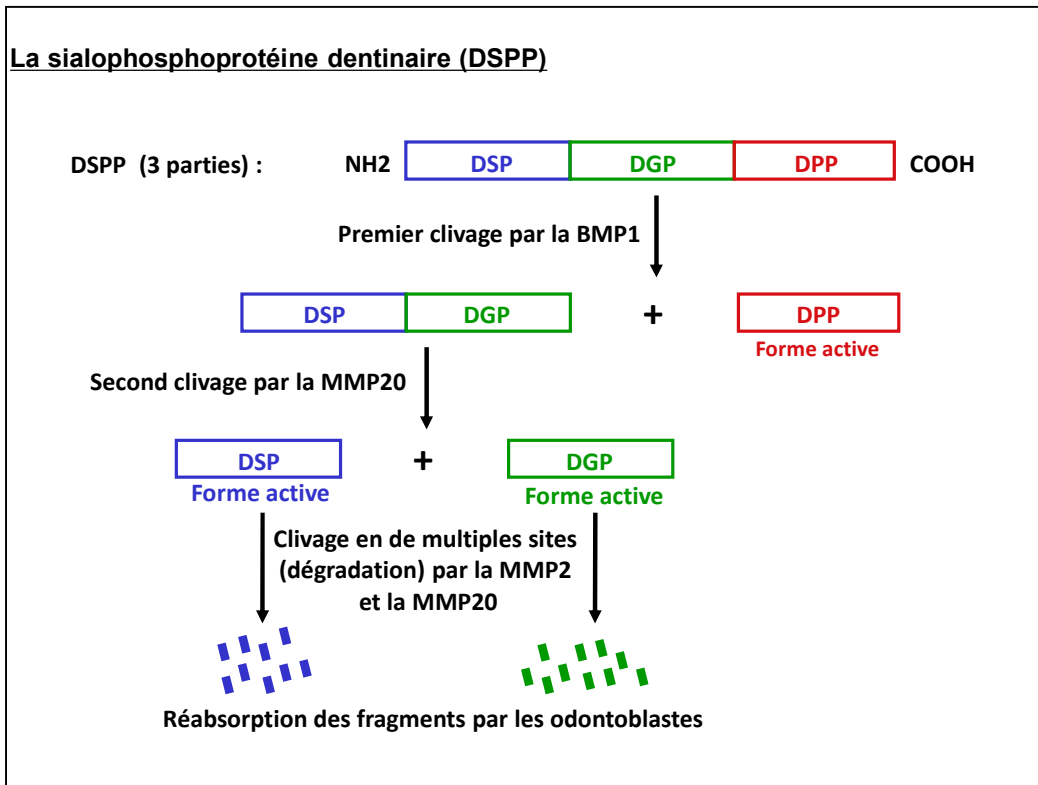
- Protéine de 1301 AA , inactive.



Expression du gène DSPP dans le germe dentaire d'une canine humaine par hybridation in situ (fort grossissement). Les odontoblastes sont clairement reconnus par la sonde nucléotidique (grains noirs).

Synthèse de DSPP par les odontoblastes à la jonction dentine-pulpe. Immunomarquage de la protéine avec un anticorps spécifique de la DSPP. Les odontoblastes sont clairement reconnus par l'anticorps (coloration marron).

La sialophosphoprotéine dentinaire (que nous appellerons à partir de maintenant DSPP) est une protéine de grande taille, de 1301 acides aminés. C'est une protéine inactive. - Cette image vous montre la forte expression du gène DSPP dans les odontoblastes d'une canine humaine permanente, telle qu'elle a été mise en évidence par hybridation in situ. - A droite, vous pouvez observer la production de la protéine DSPP dans les odontoblastes par immunohistochimie. On a longtemps considéré que la DSPP était synthétisée uniquement par les odontoblastes et qu'elle en constituait un marqueur phénotypique. Aujourd'hui, on sait que le gène DSPP est également exprimé, mais en quantité beaucoup plus faible, par d'autres types cellulaires parmi lesquels les ostéoblastes et les cémentoblastes. Le gène DSPP est également exprimé transitoirement par les préaméloblastes avant la minéralisation de la prédentine.



La DSPP est une protéine constituée de 3 parties distinctes qui vont être à l'origine de 3 protéines ayant des fonctions différentes. Ces 3 protéines sont la sialoprotéine dentinaire (DSP) qui sera produite côté N-terminal, la glycoprotéine dentinaire (DGP) qui sera produite à partir de la région centrale de la DSPP, et la phosphoprotéine dentinaire (DPP) qui sera produite côté C-terminal. La DSPP a une durée de vie qui est courte. En effet, elle est clivée rapidement après avoir été synthétisée. Elle ne sera donc pas présente dans la pré dentine ni dans la dentine. Un premier clivage a lieu par la protéase BMP1 juste avant la sécrétion, à proximité de la membrane plasmique de l'odontoblaste. Il donne naissance d'une part à une protéine regroupant les séquences de la DSP et de la DGP, et d'autre part à la DPP. Ce clivage permet l'activation de la DPP. Un deuxième clivage permet la séparation et l'activation de la DSP et de la DGP. Il est réalisé par une enzyme de la famille des métalloprotéases matricielles, la MMP20, sécrétée par les odontoblastes à proximité de la membrane plasmique en même temps que la DSPP. La durée de vie de ces 2 protéines est courte, puisqu'elles sont dégradées rapidement en de nombreux fragments, après avoir rempli leur fonction, par les métalloprotéases matricielles MMP2 et MMP20. Les fragments générés sont réabsorbés puis réutilisés par les odontoblastes. A noter toutefois que les molécules de DSP ne sont pas toutes dégradées, car une partie est retrouvée dans les tubules dentinaires.

Propriétés des protéines issues de la DSPP :

- Sialoprotéine dentinaire (DSP) :

- * 95 kDa
- * 5 à 8% des protéines non-collagéniques de la matrice dentinaire
- * Faiblement phosphorylée, fortement glycosylée, beaucoup d'acide sialique
- * Porte deux chaînes de chondroïtine-6-sulphate : protéoglycane
- * Sécrétée dans la prédentine
- * Localisée principalement dans la prédentine et la paroi des tubules dentinaires
- * Elle pourrait maintenir l'ouverture tubulaire

- Glycoprotéine dentinaire (DGP) :

- * 19 kDa
- * Phosphorylée, fonction inconnue

La sialoprotéine dentinaire a un poids moléculaire d'environ 95 kDa. Elle représente, selon les études, 5 à 8% des protéines non-collagéniques de la matrice dentinaire. C'est une protéine faiblement phosphorylée, mais fortement glycosylée. Près d'un tiers des sucres portés par la DSP sont constitués par de l'acide sialique, d'où sa dénomination de sialoprotéine. Il a été mis en évidence récemment que la DSP porte également deux chaînes de chondroïtine-6 sulphate. La molécule finale est donc un protéoglycane. Les études de localisation avec des anticorps spécifiques ont montré que la DSP est présente principalement dans la prédentine et la paroi des tubules dentinaires. Il a été proposé qu'elle pourrait en maintenir le diamètre en bloquant la minéralisation de la matrice intratubulaire. - La glycoprotéine dentinaire est la moins bien caractérisée des 3 protéines formées à partir de la DSPP. C'est une petite protéine de 19 kDa, phosphorylée, de fonction inconnue.

3. Composition de la matrice dentinaire

3.2. Les protéines non-collagéniques

3.2.1. Les SIBLINGs (suite)

	Rôle dans la minéralisation de la prédentine
* <i>Sialophosphoprotéine dentinaire (DSPP)</i>	+
* <i>Phosphoprotéine matricielle dentinaire -1</i>	+
* <i>Sialoprotéine osseuse</i>	+
* <i>Ostéopontine</i>	-
* <i>Phosphoglycoprotéine extracellulaire matricielle</i>	-

De nombreuses études ont démontré le rôle des autres SIBLINGs dans les phénomènes de minéralisation. La synthèse des résultats fait apparaître que 3 SIBLINGs favorisent la minéralisation de la matrice dentinaire (ce sont la sialophosphoprotéine dentinaire, la phosphoprotéine matricielle dentinaire -1 et la sialoprotéine osseuse), alors que deux la régulent négativement (ce sont l'ostéopontine et la phosphoglycoprotéine extracellulaire matricielle).

3. Composition de la matrice dentinaire

3.2. Les protéines non-collagéniques

3.2.2 Les autres protéines non-collagéniques

- Essentiellement 2 protéines riches en acide gamma-carboxyglutamique (protéines-Gla) :

** L'ostéocalcine : la plus abondante (85% des protéines-Gla)*

** La protéine-Gla matricielle (15% des protéines-Gla)*

qui régulent négativement la minéralisation de la matrice dentinaire en inhibant la formation de l'hydroxyapatite.

- Egalement diverses glycoprotéines acides :

** l'ostéonectine*

** la thrombospondine*

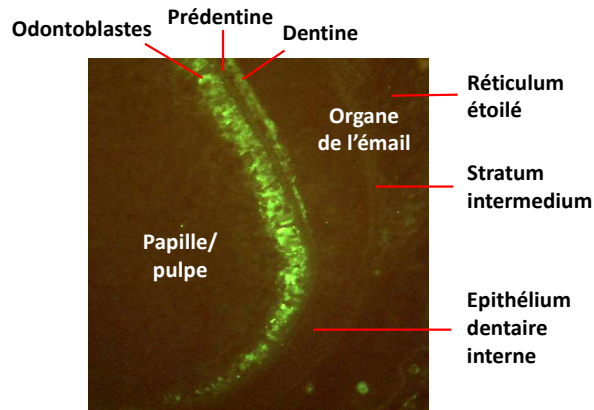
** la glycoprotéine acide osseuse BAG-75*

Les autres protéines non-collagéniques de la matrice dentinaire sont - essentiellement deux protéines riches en acide gamma-carboxyglutamique, appelées protéines-Gla, qui sont : l'ostéocalcine (la plus abondante, qui représente 85% des protéines-Gla), et la protéine-Gla matricielle (présente en plus faible quantité, qui représente les 15% restants). Ces 2 protéines régulent négativement la minéralisation de la matrice dentinaire en inhibant la formation de l'hydroxyapatite. - La matrice dentinaire contient également diverses glycoprotéines acides comme l'ostéonectine, la thrombospondine et la glycoprotéine acide osseuse BAG-75.

3. Composition de la matrice dentinaire

3.2. Les protéines non-collagéniques

3.2.2 Les autres protéines non-collagéniques



Synthèse de l'ostéocalcine par les odontoblastes. Immunomarquage de la protéine avec un anticorps spécifique. Les odontoblastes sont clairement reconnus par l'anticorps spécifique de l'ostéocalcine (immunofluorescence verte). La dentine est également marquée, mais pas la prédentine.

Cette image d'immunofluorescence illustre la production d'ostéocalcine dans un germe dentaire par les odontoblastes nouvellement différenciés. La fluorescence verte montre la présence de l'anticorps anti-ostéocalcine couplé à la fluorescéine dans les odontoblastes qui se différencient à la périphérie de la papille ectomésenchymateuse. Les odontoblastes sont les seules cellules marquées du germe dentaire, ce qui indique que les autres cellules ne produisent pas d'ostéocalcine. Par ailleurs, la dentine est marquée, mais pas la prédentine, ce qui suggère que l'ostéocalcine est sécrétée à proximité du front de minéralisation et incorporée à la dentine après avoir été transportée par le prolongement odontoblastique.

3. Composition de la matrice dentinaire

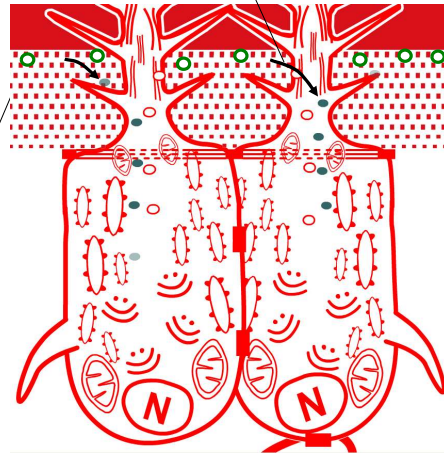
3.3. Les protéoglycane

- Peu abondants, moins de 5% des protéines non-collagéniques de la matrice dentinaire.
- Ce sont surtout des protéoglycane qui portent des chaînes de chondroïtine-4-sulfates.
- Dégradés en partie par des enzymes (métalloprotéases matricielles, ...) proches du front de minéralisation.
- Inhibiteurs de la minéralisation et de la fibrillogénèse du collagène.

Vésicule de sécrétion d'origine odontoblastique contenant des MMPs capables de dégrader les protéoglycane (surtout MMP3)

DEGRADATION ENZYMATIQUE
DES PROTEOGLYCANES
AU COURS DE LA MATURATION
DE LA PREDENTINE

Réabsorption par les odontoblastes
des fragments des protéoglycane



Voyons à présent les protéoglycane synthétisés par les odontoblastes. - Ils sont peu abondants, et représentent moins de 5% des protéines non-collagéniques de la matrice dentinaire. - Ce sont surtout des protéoglycane qui portent des chaînes de chondroïtine-4-sulfates. - Lors de la maturation de la prédentine, la plupart des protéoglycane sont dégradés à proximité du front de minéralisation, principalement par des métalloprotéases. Environ 40% des protéoglycane vont ainsi disparaître de la prédentine lors du processus de maturation. La MMP-3 sécrétée par les odontoblastes intervient dans cette disparition en dégradant les chaînes de chondroïtine-4-sulfates. - D'une manière générale, les protéoglycane inhibent la minéralisation. Leur structure comprend en effet de nombreux groupes sulfates et carboxyles qui leur confèrent une capacité importante à fixer le calcium et à le rendre indisponible pour la minéralisation. Les protéoglycane bloquent aussi indirectement la minéralisation en inhibant la fibrillogénèse du collagène. Leur dégradation progressive permet la croissance du diamètre des fibres de collagène depuis la région proche du corps cellulaire jusqu'au front de minéralisation où cette croissance s'arrête pour permettre le dépôt de l'hydroxyapatite.

3. Composition de la matrice dentinaire

3.5. Les autres composants

- Facteurs de croissance (stockés dans la dentine) :

** Surtout TGF- β 1 et protéines de morphogenèse osseuse (BMP) 2, 4, 6 et 7*

- Protéines de l'émail (dans le manteau dentinaire) :

** Surtout des amélogénines, principal constituant de la matrice de l'émail ; beaucoup moins que les améloblastes sécréteurs*

** MMP-20*

- Protéines sériques (capillaires sous-odontoblastiques) :

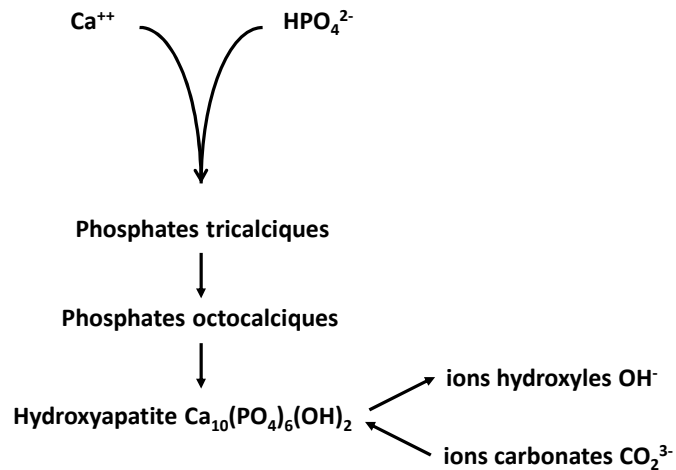
** Surtout albumine, glycoprotéine alpha2-HS, IgG et IgE*

- Phospholipides issus de la membrane des vésicules matricielles.

Les odontoblastes synthétisent également d'autres composants de la matrice dentinaire, parmi lesquels : - de nombreux facteurs de croissance qui vont être stockés dans la dentine, dont le TGF-beta1 et les protéines de morphogenèse osseuse (BMP) 2, 4, 6 et 7. Ces facteurs seront libérés de la dentine quand celle-ci sera déminéralisée lors du processus carieux. Ils diffuseront dans les tubules jusqu'à la couche odontoblastique pour aller moduler la réponse immunitaire et la cicatrisation de la pulpe dentaire. - Les odontoblastes produisent également des protéines de l'émail comme les amélogénines, mais à un niveau beaucoup plus faible que les améloblastes sécréteurs. Ils produisent également des enzymes capables de les dégrader comme la MMP-20. Les protéines de l'émail s'incorporent au manteau dentinaire pour réguler la formation de l'émail à la jonction dentine-émail. - On trouve également dans la matrice dentinaire des protéines du sérum comme l'albumine, la glycoprotéine alpha2-HS, et des immunoglobulines de types IgG et IgE, incorporées dans la pré-dentine après diffusion entre les odontoblastes. - On y trouve également des phospholipides qui proviennent des membranes des vésicules matricielles impliquées dans la minéralisation de la pré-dentine du manteau dentinaire entre les fibrilles d'ancrage de la membrane basale.

4. Minéralisation de la matrice dentinaire

- Dentine = 70% de minéral.
- Minéral de la dentine : hydroxyapatite carbonatée.
- Cristaux d'hydroxyapatite formés principalement d'ions calcium et phosphates.



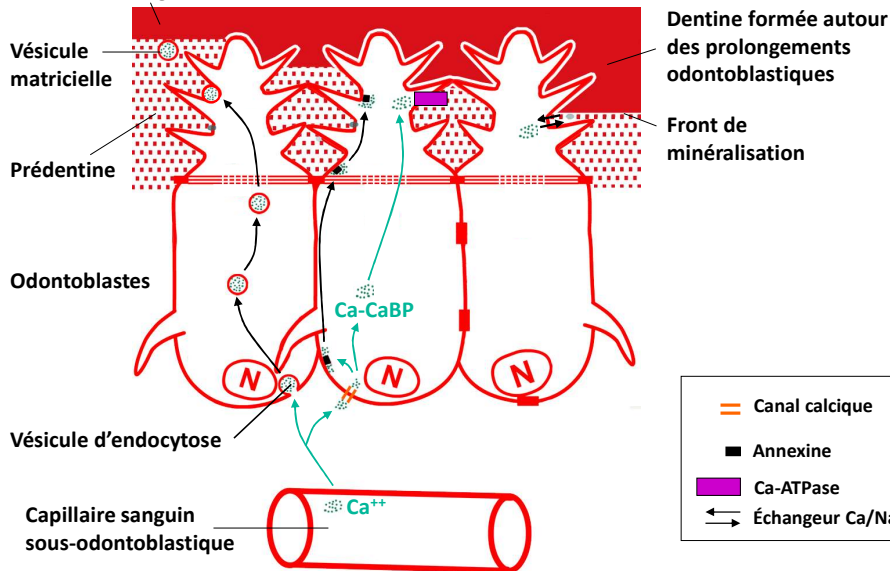
La matrice dentinaire, une fois déposée puis remaniée lors de la phase de maturation, va être minéralisée pour former la dentine, - un tissu qui contiendra au final 70% de minéral. Cela signifie que vont être déposés sur la matrice des sels minéraux qui sont, pour la dentine, mais c'est également vrai pour d'autres tissus minéralisés comme l'émail, le ciment ou l'os, - essentiellement sous forme d'hydroxyapatite carbonatée.

- L'hydroxyapatite est un cristal formé principalement par des ions calcium et phosphates qui s'associent pour former tout d'abord des phosphates tricalciques puis des phosphates octocalciques, puis de l'hydroxyapatite de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. L'hydroxyapatite rencontrée dans les tissus minéralisés comme la dentine n'est pas pure, car une partie des ions hydroxyles est remplacée, on dit aussi substituée, par des ions carbonates. D'où le terme d'hydroxyapatite carbonatée. La formation de l'hydroxyapatite nécessite une quantité importante d'ions calcium et phosphates dans la prédentine au niveau du front de minéralisation. Voyons comment ces ions arrivent dans la prédentine.

4. Minéralisation de la matrice dentinaire

4.1. Transport du calcium à travers la couche odontoblastique

Couche initiale de dentine formée entre les fibrilles d'ancrage (manteau dentinaire)

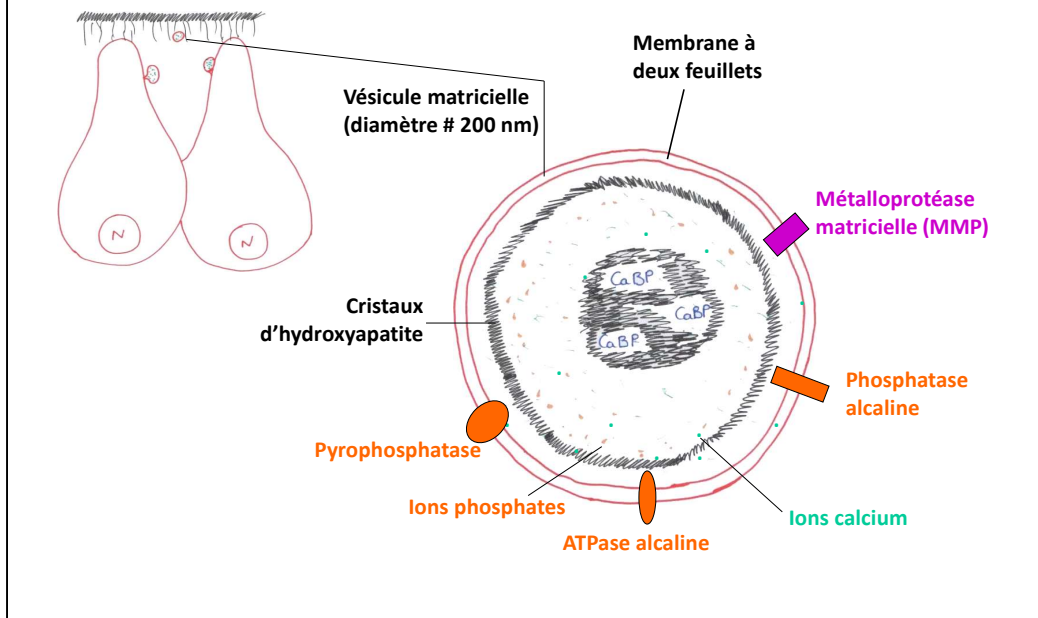


Au cours de la dentinogenèse, une quantité importante d'ions calcium est transportée à travers la couche odontoblastique, depuis les capillaires sanguins sous-odontoblastiques jusqu'à la prédentine. Les odontoblastes étant reliés par des jonctions serrées peu perméables au calcium, la majeure partie de cet ion transite par le cytoplasme odontoblastique. Le transport actif par la cellule présente l'avantage majeur, par rapport à la diffusion passive intercellulaire, de permettre un meilleur contrôle de la quantité de calcium qui arrive dans la prédentine, et donc favorise l'association correcte des ions calcium avec les ions phosphates. Le calcium doit toutefois être transporté par la cellule sans qu'il y ait augmentation de sa concentration libre intracytoplasmique, sous peine de modifier, voire d'endommager des fonctions cellulaires essentielles. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour l'entrée du calcium au niveau du pôle basal de l'odontoblaste, pour son transport dans le cytoplasme, et pour sa sortie au niveau du prolongement odontoblastique. Ils sont résumés sur ce schéma. Tout d'abord, le calcium pourrait entrer dans la cellule par l'intermédiaire de vésicules d'endocytose capables de se déplacer jusqu'au pôle apical, ou par des canaux calciques qui ont été localisés dans la membrane cellulaire de l'odontoblaste. Dans ce dernier cas, le calcium aurait deux possibilités pour se déplacer dans la cellule : soit il se lierait à des protéines de liaison du calcium (= calcium binding proteins = CaBPs) comme les calbindines-D de 9 et 28 kDa qui ont été identifiées dans le cytoplasme des odontoblastes. Soit il se lierait à des protéines acides de la membrane cellulaire appelées annexines. Ces protéines sont connues pour lier fortement le calcium et les phospholipides membranaires, et sont capables de se déplacer le long du feuillet interne de la membrane plasmique. La sortie du calcium se ferait différemment en fonction de l'endroit où a lieu la minéralisation de la prédentine. Dans le cas où la minéralisation a lieu entre les fibrilles d'ancrage, le Ca est stocké dans des vésicules qui bourgeonnent à partir de la membrane plasmique du prolongement odontoblastique. Ces vésicules sont appelées vésicules matricielles. C'est à l'intérieur de ces vésicules qu'a lieu la formation des cristaux d'hydroxyapatite destinés à être déposés entre les fibrilles d'ancrage. Plus tard, quand la minéralisation

a lieu autour des prolongements odontoblastiques, il n'y a pas de formation de vésicule matricielle, et le calcium sort directement de la cellule dans la matrice prédentinaire. Dans ce dernier cas, le calcium sortirait de la cellule par l'intermédiaire de Ca-ATPases ou d'échangeurs sodium/calcium, deux systèmes de transport calcique qui ont été localisés dans la membrane du prolongement odontoblastique à proximité du front de minéralisation.

4. Minéralisation de la matrice dentinaire

4.2. Minéralisation de la prédentine déposée entre les fibrilles d'ancrage

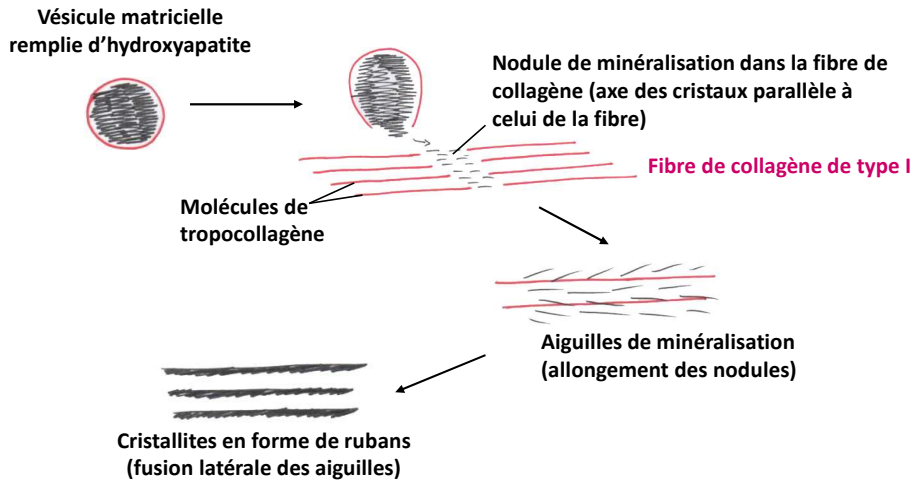


Comme nous venons de le voir, la minéralisation ne débute pas de la même manière dans la prédentine déposée entre les fibrilles d'ancrage et dans celle qui sera déposée ultérieurement autour des prolongements odontoblastiques. En effet, dans le premier cas, la formation des cristaux d'hydroxyapatite à partir des ions calcium et phosphates a lieu à l'intérieur des vésicules matricielles. Ces vésicules ont un diamètre moyen d'environ 200 nm. Elles sont limitées par une membrane à deux feuillets dans laquelle on trouve de nombreuses enzymes, notamment les métalloprotéases matricielles MMP2, 3, 9 et 13. Ces MMPs interviennent dans la dégradation partielle ou totale des glycoprotéines et des protéoglycanes présents dans la matrice prédentine qui entoure les vésicules. Elles permettent ainsi de créer un environnement favorable à la minéralisation. On trouve aussi dans la membrane des vésicules matricielles des phosphatases alcalines, des ATPases alcalines et des pyrophosphatases. Les phosphatases alcalines libèrent les phosphates des phosphoprotéines, tandis que les ATPases et les pyrophosphatases hydrolysent l'ATP, l'ADP et les pyrophosphates présents dans les vésicules pour y augmenter la quantité de phosphates libres. Comme les vésicules matricielles concentrent par ailleurs une quantité importante de calcium, il se forme des cristaux de phosphates de calcium qui se transforment progressivement en hydroxyapatite. Les cristaux d'hydroxyapatite sont d'abord formés à proximité du feuillet interne de la membrane vésiculaire, en relation avec les phospholipides membranaires, mais également au centre des vésicules, en relation avec des molécules qui lient le calcium comme les calbindines. La formation de cristaux supplémentaires entre ces deux sites conduit au remplissage des vésicules.

4. Minéralisation de la matrice dentinaire

4.2. Minéralisation de la prédentine déposée entre les fibrilles d'ancrage

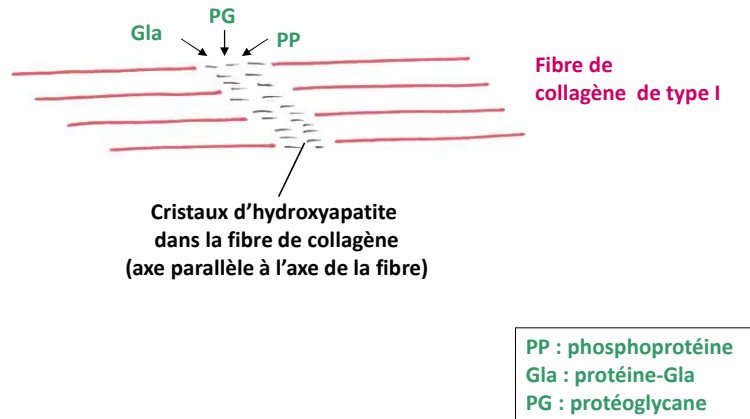
DEPOT DES CRISTAUX D'HYDROXYAPATITE SUR LES FIBRES DE COLLAGENE



Lorsque la vésicule est pleine, le minéral perce la membrane et se dépose à l'intérieur des fibres de collagène pour former des nodules à partir desquels la minéralisation se propage. Les cristaux s'orientent de telle sorte que leur axe longitudinal est parallèle à celui de la fibre avec laquelle ils s'associent. La coalescence longitudinale des nodules donne des cristallites en forme d'aiguilles qui fusionnent eux-mêmes latéralement pour former des cristallites plus larges en forme de rubans.

4. Minéralisation de la matrice dentinaire

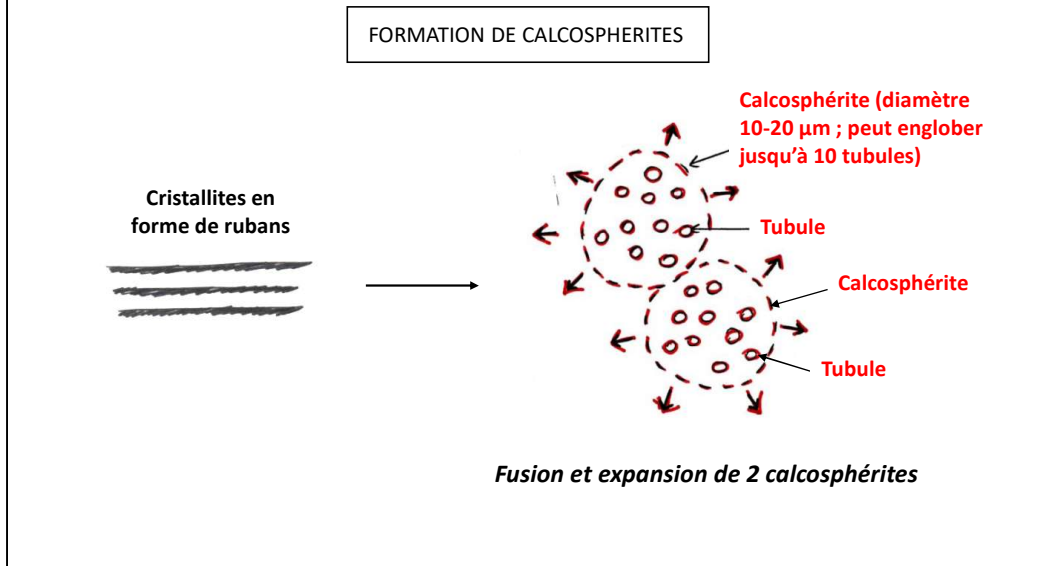
4.3. Minéralisation de la prédentine déposée autour des prolongements odontoblastiques



La minéralisation autour des prolongements odontoblastiques a lieu directement dans la matrice, car il n'y a pas de vésicules matricielles dans la prédentine à ce niveau. Les cristaux d'hydroxyapatite se forment directement à l'intérieur des fibres de collagène de type I. Les phosphoprotéines, les protéines-Gla et les protéoglycanes, présents à ce niveau, régulent la formation et la croissance du minéral.

4. Minéralisation de la matrice dentinaire

4.3. Minéralisation de la prédentine située autour des prolongements odontoblastiques



La minéralisation de la prédentine n'a pas lieu de manière homogène. En effet, dans la couronne dentaire, les rubans d'hydroxyapatite s'associent pour former des structures globulaires de 10 à 20 μm de diamètre appelées calcosphérites. Un calcosphérite peut englober jusqu'à une dizaine de tubules. Les calcosphérites sont moins nombreux au niveau de la racine. Leur fusion conduit à la formation d'une couche de dentine continue.