

DENTINOGENESE

I. Généralités

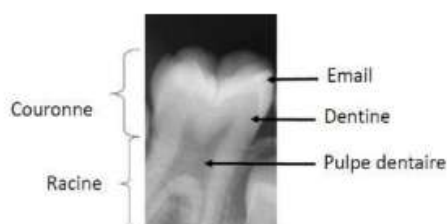
Dans la cavité buccale, la dentine au niveau de la couronne est recouverte par de l'**émail**. Ce dernier lorsqu'il est parfaitement minéralisé est **translucide**. Ainsi, la dentine de couleur **ivoire** (\neq blanc+) est visible par transparence.

La dentine est composée de : +++

- 70% de minéral : cristaux d'**hydroxyapatite carbonatée**
- 20% de matière organique : **collagène de type 1**
- 10% d'eau



Sa composition est voisine de celle de l'**os**+++ , mais sa **structure** est très **différente**. Son degré de minéralisation est **inférieur** à celui de l'**émail** (entre 96 et 98%) et légèrement **supérieur** à celui du **cément** (63%)+++.



Comme on peut le voir sur la radio, la dentine, moins minéralisée que l'émail, est **moins radio-opaque** : elle apparaît plus **sombre**. Elle est cependant plus claire que la pulpe dentaire qui elle n'est pas minéralisée.

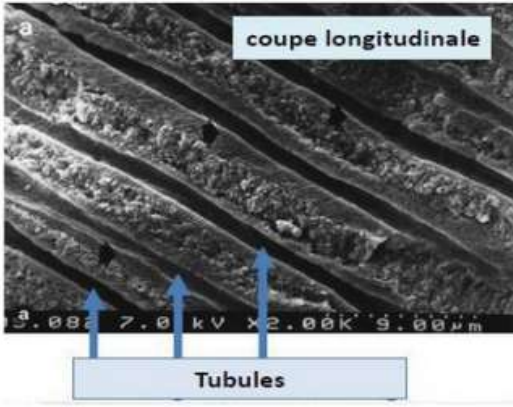
Rappel : + c'est minéralisé, + c'est radio- opaque, + ça apparaît clair sur la radio.

La dentine est donc un tissu **minéralisé**+++.

C'est l'un des **4** éléments constitutifs de la dent, les trois autres étant l'émail, la pulpe dentaire et le cément.

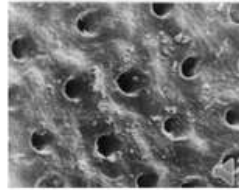
La dentine occupe le **volume le plus important** de la dent, elle est interposée entre d'une part entre l'émail/cément et d'autre part la pulpe dentaire (tissu conjonctif non minéralisé situé au centre de la dent, qui limite la dentine côté interne). La dentine contient en périphérie les odontoblastes qui vont permettre la synthèse de la dentine.





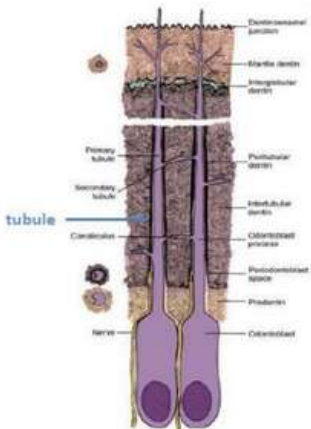
Quand on regarde la structure de la dentine au microscope, on voit qu'il s'agit d'une structure minéralisée parcourue dans sa longueur par des **dizaines de milliers** de tubules **parallèles** les uns aux autres (= canaux/tunnels).

En coupe transversale, ces tubules ont une section arrondie.



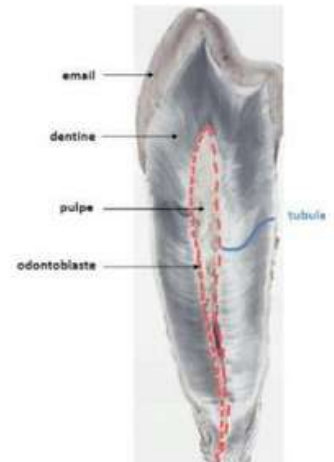
La structure microscopique de la dentine diffère de celle de l'émail qui est essentiellement parcouru par des **prismes** et de la **SIP**.

Avec le temps, les tubules peuvent s'oblitérer par des phénomènes de **minéralisation intratubulaire**.



Sur cette coupe de dent, on peut visualiser le trajet des **tubules**. Ils parcourent l'ensemble de l'**épaisseur** de la dentine : de la pulpe jusqu'à la JAD au niveau de la couronne et jusqu'à la jonction dentine-cément au niveau de la racine.

Ils contiennent les **prolongements** cytoplasmiques des **odontoblastes**, dont le corps se trouve au niveau de la périphérie de la pulpe.

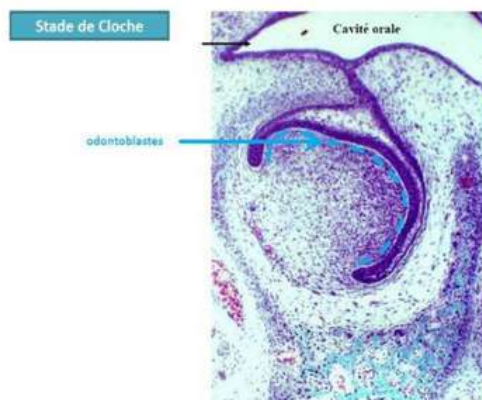


II. Dentinogenèse

La dentine a une origine **mésenchymateuse+++**. Rappel : au stade de cloche, les odontoblastes sont issus des cellules périphériques de la papille mésenchymateuse en regard de l'EDI. La dentinogénèse est la formation de la dentine par les odontoblastes.

Elle se fait en deux étapes :

1. **synthèse** et **sécrétion** de la prédentine
2. **dépôt** du minéral



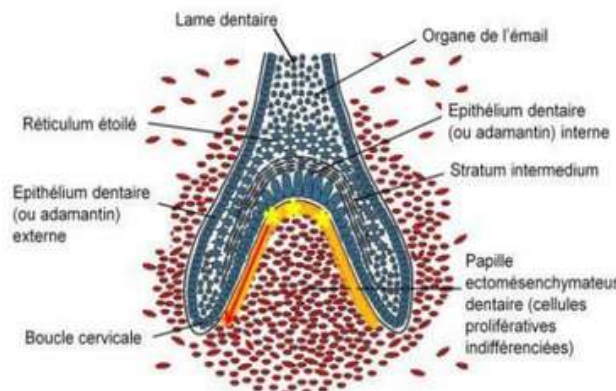
Elle résulte essentiellement de l'activité de **synthèse**, de la **différenciation** et de la **dégradation** des odontoblastes. Contrairement à la formation de l'émail (limitée dans le temps), la formation de la dentine peut se faire **tout au long de la vie**. +++

Différenciation des odontoblastes :

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

En **périphérie** de la **PEM** (= papille ecto-mésenchymateuse), **sous l'EDI** (= épithélium dentaire interne), on a les cellules qui vont se différencier en **odontoblastes**+++.

Cette différenciation commence au **sommet de la cloche** et va se diriger vers la **zone cervicale** (boucle cervicale) selon un schéma temporo-spatial précis.



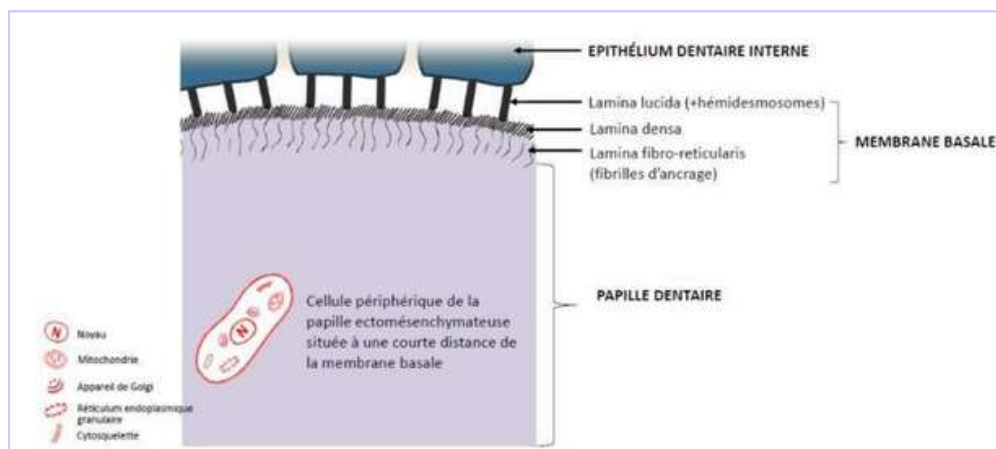
L'EDI est séparé de la PEM par la **membrane basale** dont la composition est : +++

-> La lamina **lucida** : permet l'attachement de l'EDI à la lamina densa par de nombreux **hémidesmosomes**.

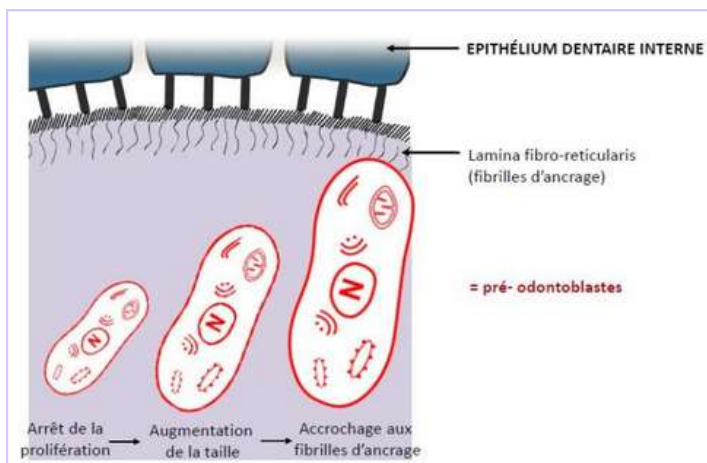
-> La lamina **densa** : constitue l'armature de cette MB.

-> La lamina **fibroreticularis** : assure l'attachement de la MB à la PEM par de nombreuses **fibrilles d'ancrage**.

Ce sont les cellules **périphériques** de la PEM, situées à une courte distance de l'EDI et de la MB (quelques microns), qui vont se transformer en odontoblastes. 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.



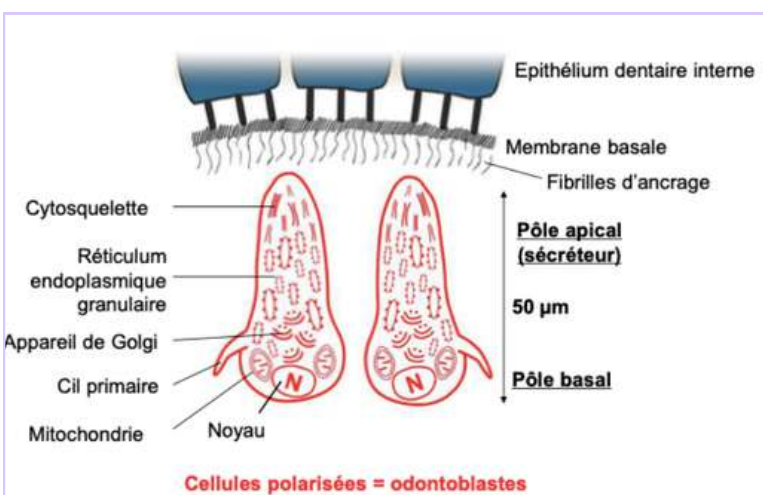
a. Pré-odontoblaste



Différenciation odontoblastique : +++

1. Arrêt de la prolifération cellulaire.
2. Augmentation de la taille des cellules
3. Accrochage par leur membrane plasmique aux fibrilles d'ancrage → pré-odontoblaste

b. Polarisation odontoblastique → odontoblaste



Le pré-odontoblaste se différencie ensuite en odontoblaste. Il commence par se polariser : le noyau s'éloigne de la MB, le REG et le Golgi se placent en supra-nucléaire.

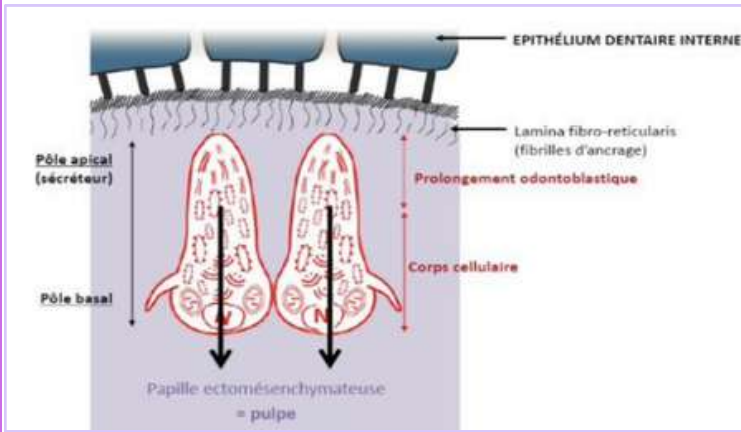
Les citernes du REG s'orientent **parallèlement** au grand axe de la cellule. Le complexe de Golgi, plus central par rapport au réticulum, se tourne vers le **pôle cellulaire** en contact avec la membrane basale. Un **cil primaire** apparaît à proximité du noyau et de l'appareil de Golgi. Les éléments du **cytosquelette** (microtubules, filaments intermédiaires et microfilaments) s'accumulent 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 REG, 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**.

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

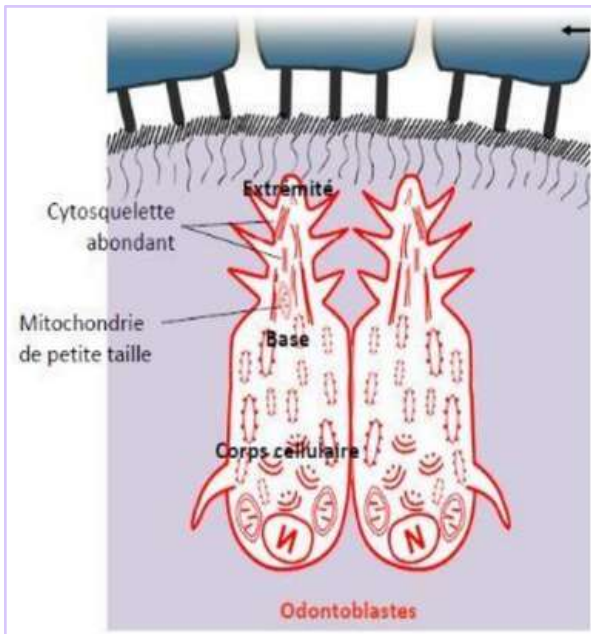
c. Formation d'un prolongement apical



Un prolongement se forme au pôle apical, au contact des fibrilles d'ancrage. Son allongement entraîne le recul des corps cellulaires odontoblastiques en direction du centre de la papille ectomésenchymateuse (PEM).

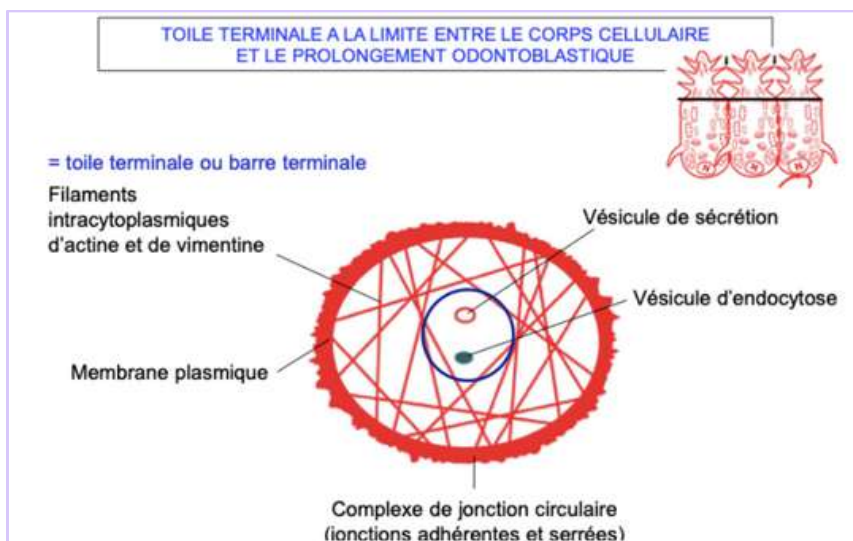
Dès la différenciation des premiers odontoblastes, la PEM prend le nom de **pulpe dentaire** +++

Le prolongement se ramifie rapidement pour donner de nombreuses branches qui s'étendent latéralement par rapport au tronc principal.



Le prolongement contient un **cytosquelette** abondant. Il ne contient **PAS d'organites de synthèse** sauf 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 de la prédentine, des **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.

À 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 la **toile terminale** ou **barre terminale**.



La toile terminale fonctionne comme un filtre qui maintient dans le corps cellulaire les organites de grande taille (Golgi, REG, grosses mitochondries...) mais laisse passer les vésicules de sécrétion et d'endocytose qui sont de plus petit diamètre+++

Le passage des vésicules a lieu dans la partie **centrale**, car la toile est plus lâche à ce niveau.

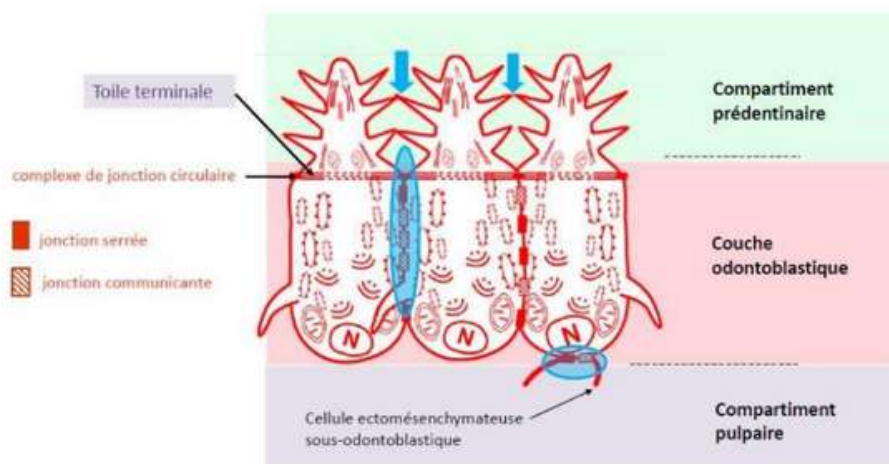
À l'endroit de la membrane plasmique où s'accroche la toile terminale, on a un complexe circulaire de **jonctions intercellulaires**. Il relie l'odontoblaste aux odontoblastes voisins et est constitué de jonctions **adhérentes** et de quelques jonctions **serrées**. +++

Les odontoblastes ne travaillent pas de manière isolée, ils fonctionnent ensemble grâce à des moyens de **communication** au niveau de jonctions.

En marge de la toile terminale, des jonctions **communicantes** et jonctions **serrées** apparaissent entre :

- Les odontoblastes voisins
- Les odontoblastes et les cellules sous-odontoblastiques
- Les ramifications des prolongements odontoblastiques avec les ramifications des prolongements adjacents

Ceci va permettre de créer **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 = couche odontoblastique (= monocouche d'odontoblastes).

Cette couche isole la pulpe du compartiment extracellulaire proche de la MB dans lequel la prédentine va être déposée, puis minéralisée.

d. Odontoblaste sécréteur (différentiation fonctionnelle)

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

- entre les **fibrilles d'ancrage** de la MB (dès le départ)
- autour des **prolongements odontoblastiques** (un peu plus tard)

En l'absence de pathologie dentaire, les odontoblastes déposent la prédentine **durant toute la vie** de la dent+++. Toutefois, la vitesse de ce dépôt ralentit fortement après l'éruption de la dent dans la cavité buccale, pour éviter le **comblement** et la **disparition prématurée** de la pulpe.

Une fois sécrétée, la prédentine subit une 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.

Sécrétion prédentine → Maturation → Minéralisation → DENTINE +++

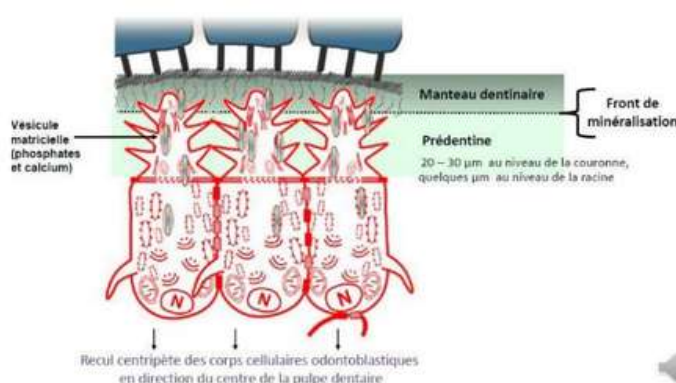
Retenez bien l'ordre ++

Cette première couche de dentine est appelée **manteau dentinaire**.

Les **ions phosphate et calcium** nécessaires à la 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.

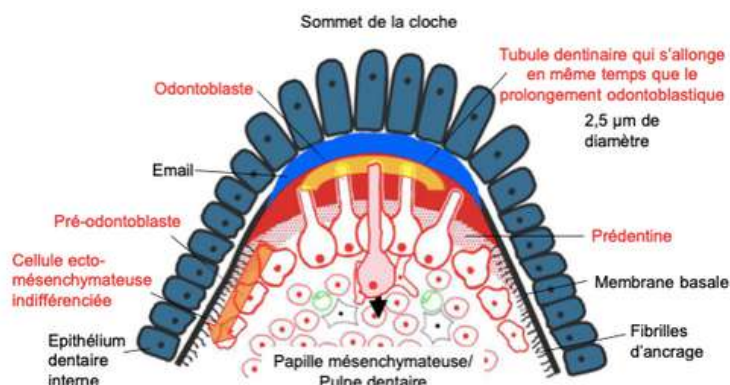
La minéralisation débute lorsque la prédentine atteint une épaisseur d'environ **20-30 µm** au niveau de la couronne et quelques microns à la racine.

L'interface entre la prédentine non minéralisée et la dentine minéralisée est appelée le **front de minéralisation**.



La croissance en **épaisseur** de la dentine entraîne le recul **centripète** du corps cellulaire odontoblastique en direction du **centre** de la pulpe dentaire.

La production de dentine commence au **sommet des cuspidés**, pour se poursuivre en direction du **collet** des dents.

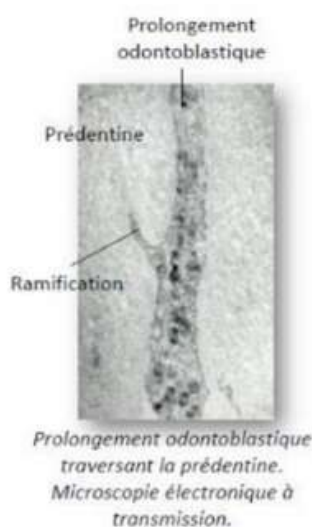
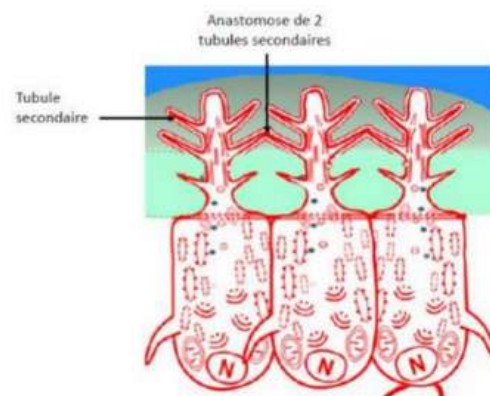


Le schéma ci-dessus illustre le **gradient temporo-spatial** de différenciation odontoblastique qui commence au sommet de la cloche pour se diriger vers la boucle cervicale. Au sommet, on retrouve des **odontoblastes**, puis les **pré-odontoblastes** et les **cellules ectomésenchymateuses indifférenciées**.

Il montre également comment le dépôt continu de prédentine repousse le corps cellulaire de l'odontoblaste vers le centre de la pulpe. Ce phénomène (indiqué par la flèche noire) s'accroît progressivement et on a une **augmentation de la taille du prolongement** ainsi que du **tubule dentinaire** dans lequel il se trouve. Ce tubule, très fin, fait environ **2,5 µm** de diamètre.

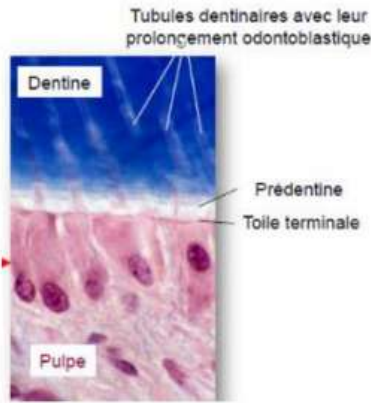
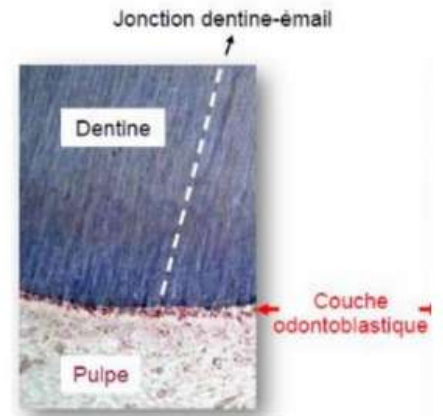
La dentine humaine est ainsi une structure formée de plusieurs dizaines de milliers de tubules à peu près **parallèles** +++ les uns aux autres et qui lui confèrent une grande **perméabilité**, notamment vis-à-vis des bactéries qui pénètrent dans la dentine lors des **infections carieuses**.

Cette perméabilité est accrue par la formation de **tubules secondaires** autour des ramifications des prolongements principaux. La plupart des tubules sont **anastomosés** avec les tubules voisins.



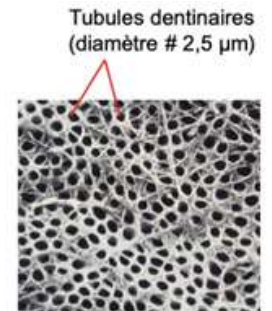
Sur cette image en microscopie électronique, on peut voir une ramification du prolongement qui s'étend dans la prédentine.

Cette coupe histologique nous montre l'alignement parallèle des nombreux tubules qui parcourent la dentine depuis la couche odontoblastique en direction de la jonction amérodentinaire.

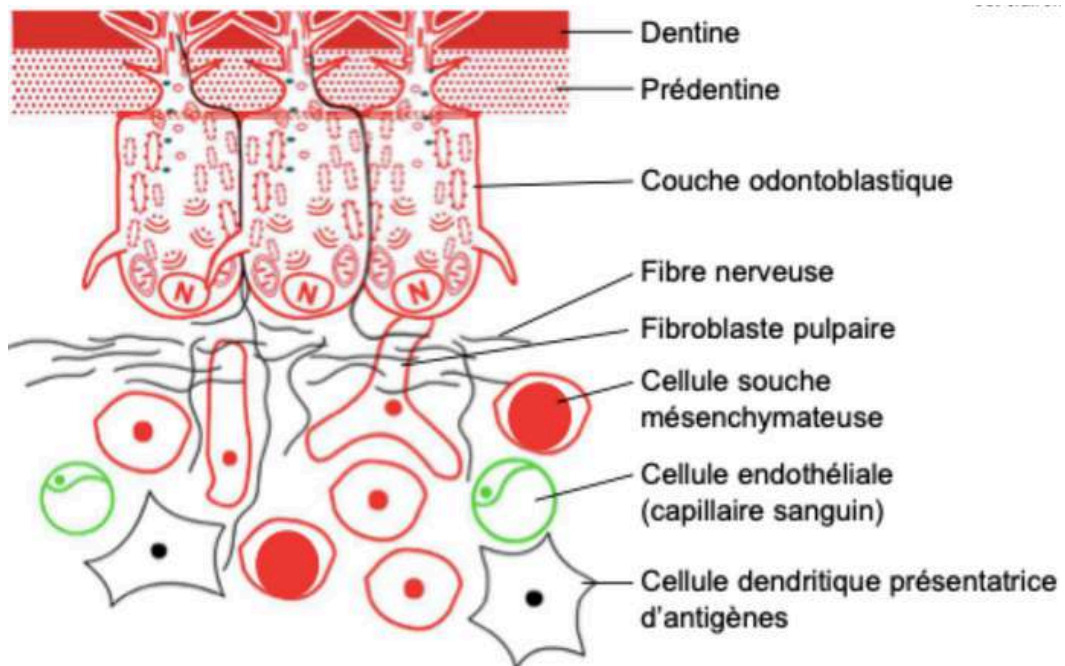


Cette autre coupe montre le prolongement odontoblastique dans chacun des tubules.

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.



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.



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 pulpaire et sont notamment, comme nous l'avons déjà vu, en contact direct avec des **fibroblastes pulpaire** 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 pulpaire**, 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 pulpaire** 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**.

III. Régulation de la différenciation odontoblastique

La différenciation odontoblastique est un phénomène hautement régulé :

- Au niveau **tissulaire**, de nombreuses découvertes ont été réalisées grâce à des expériences faisant appel à la **dissociation enzymatique de germes dentaire** 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 (EDI)** et **contrôlée** par la **membrane basale (MB)** 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.

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

Voici la partie bien relou du cours, tout n'est pas nécessaire à apprendre, il faut connaître les grandes lignes car cela tombe malgré tout

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 cloche par une enzyme comme la **trypsine** qui **détruit** la **membrane basale**, et que l'on met en culture la papille ectomésenchymateuse seule, les cellules périphériques de la papille **ne se différencient pas** en odontoblastes quelle que soit la durée de la culture.

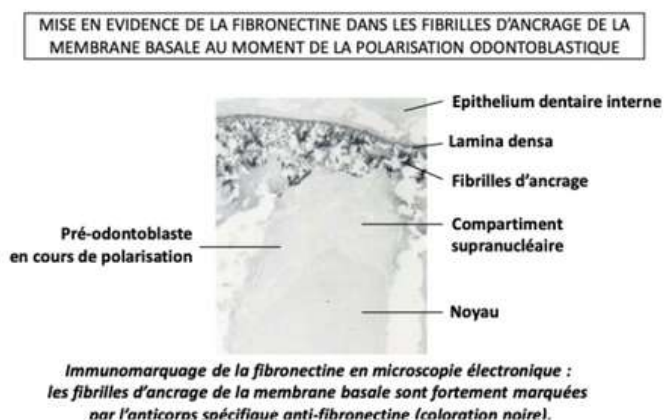
Mais si l'on prend cette **papille en culture** et qu'on la réassocie avec un **organe de l'émail**, il se forme une **nouvelle membrane basale** entre l'épithélium et l'ectomésenchyme, et les cellules périphériques de la papille **se différencient en odontoblastes**. Cette différenciation n'a lieu **qu'après** que la nouvelle **membrane basale** a été **formée**. En son absence, la différenciation ne se produit pas.

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**.

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

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.

Comment agit la fibronectine pour réguler la polarisation odontoblastique ?

Il a été observé que la **fibronectine** qui entoure complètement les cellules ectomésenchymateuses 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 **ectomésenchymateuses** 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**.

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 se 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.

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 autre 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**.

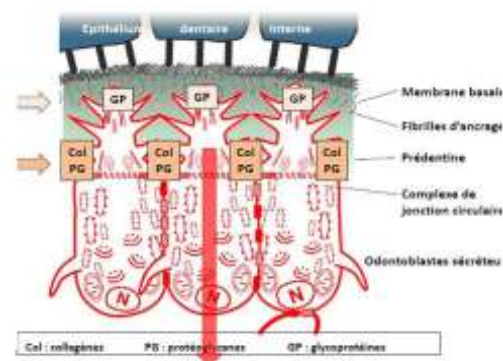
Le rôle du TGF-beta1 a été démontré, là encore, par des études réalisées avec des papilles ectomésenchymateuses de premières molaires de souris. Ces études ont montré que le **TGFbeta1** est capable d'induire la **différenciation odontoblastique** lorsqu'il est associé à la **fibronectine** et placé 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.

IV. Composition et maturation de la matrice dentinaire

La matrice dentinaire contient essentiellement du **collagène 1**, mais aussi en quantité relativement importante des **glycoprotéines non-collagéniques** impliquées dans la **minéralisation** et en plus faible quantité d'**autres** types de **collagène**, **protéoglycanes**, **métalloprotéases matricielles**, **facteurs de croissance** et divers composants (protéines de l'émail, protéines sériques et phospholipides).

Les deux sites principaux pour la sécrétion des constituants de la prédentine par les odontoblastes sont :

- À l'**extrémité** du prolongement à proximité des fibrilles d'ancrage entre lesquelles la première couche de minéral va être déposée : **glycoprotéines** (GP) qui régulent la minéralisation de la prédentine+++
- À la **base** du prolongement à proximité du corps cellulaire : **collagène** (Col) + **protéoglycanes** (PG)+++



Instant mémno : on a production de GP à l'extrémité du prolongement. Lorsqu'on gagne le GP (de Monaco par exemple 😊), on est au top (top= en haut pour les non bilingue 😊). Le reste (collagène et PG) est à la base du prolongement.

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 (GP) va se déplacer le long du prolongement pour rester au niveau 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.

a. Les collagènes

Abordons à présent dans le détail les constituants de la matrice dentinaire. Tout d'abord les plus abondants, les collagènes.

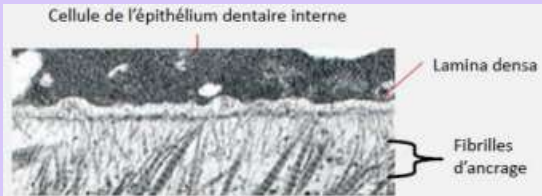

Comme nous l'avons vu, le **collagène de type I** est le composant le plus abondant de la matrice dentinaire : il en constitue environ **85%**.

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).

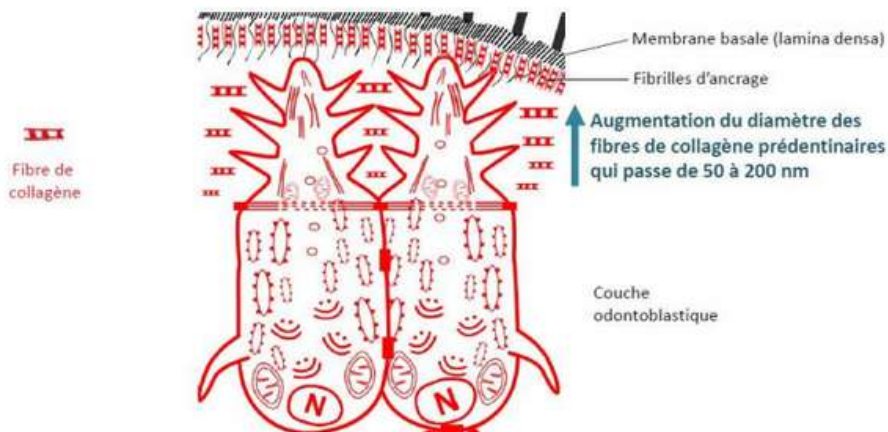
Le rôle principal du collagène de type I est de constituer **l'armature de la matrice dentinaire**. Cette armature est formée par un réseau de fibres de collagène de gros diamètre. En effet, les molécules de procollagène sécrétées par les odontoblastes s'associent progressivement dans l'espace prédentinaire 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 lysyloxidase, 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**.

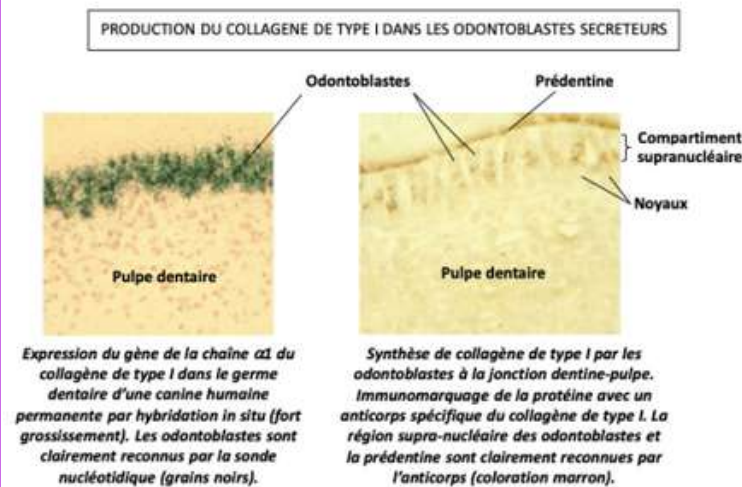
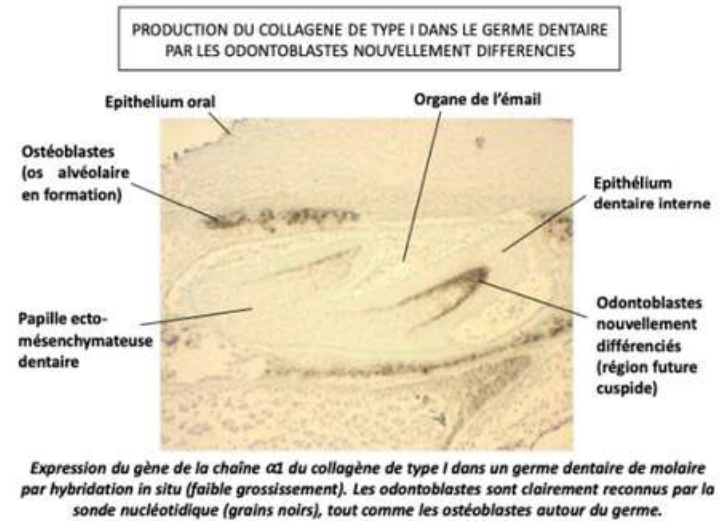
En fonction de leur localisation au sein de la prédentine, il existe des différences de **taille** et d'**orientation** des fibres de **collagène 1** : +++

	Prédentine entre les fibrilles d'ancrage (première couche)	Prédentine autour des prolongements
taille des fibres de collagène	petites	grosses
Orientation par rapport aux fibrilles d'ancrage	parallèles	perpendiculaires
Rôle	<p>Renforcent la cohésion entre la dentine et la 1ère couche d'émail qui sera déposée sur le manteau dentinaire.</p> 	<p>Confèrent au tissu une certaine élasticité qui lui permet d'amortir les chocs que subit la dentine lors de la mastication.</p> 

Au cours du processus de maturation de la prédentine, nous avons une **augmentation** progressive de la **taille** des fibres de collagène 1 autour des prolongements.



Cette image 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 cuspide. 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.



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.

b. Les protéines non collagéniques

Les SIBLINGs (Small integrin-binding Ligand, N-Linked Glycoproteins)

Il est aujourd'hui clairement établi que la minéralisation de la prédentine 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
- la phosphoglycoprotéine extracellulaire matricielle

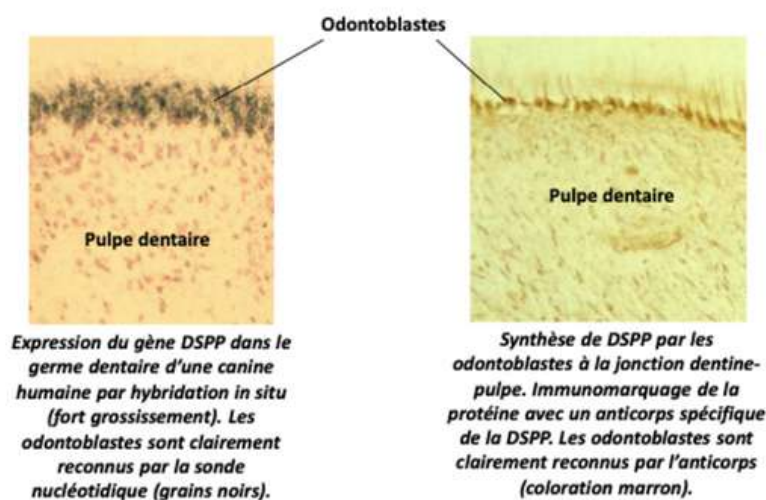
Les SIBLINGs ont au moins 7 caractéristiques communes :

- 1) Elles sont présentes principalement dans l'os et la dentine (mais en quantités différentes)
- 2) Elles sont sécrétées durant la formation et la minéralisation de ces 2 tissus
- 3) 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
- 4) Elles peuvent par ce biais transmettre un signal en activant des voies de signalisation intracellulaires
- 5) Elles sont phosphorylées, ce qui leur donne un caractère acide
- 6) Elles sont glycosylées
- 7) 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 prédentine est, comme nous allons le voir, la sialophosphoprotéine dentinaire.

La sialophosphoprotéine dentinaire (DSPP)

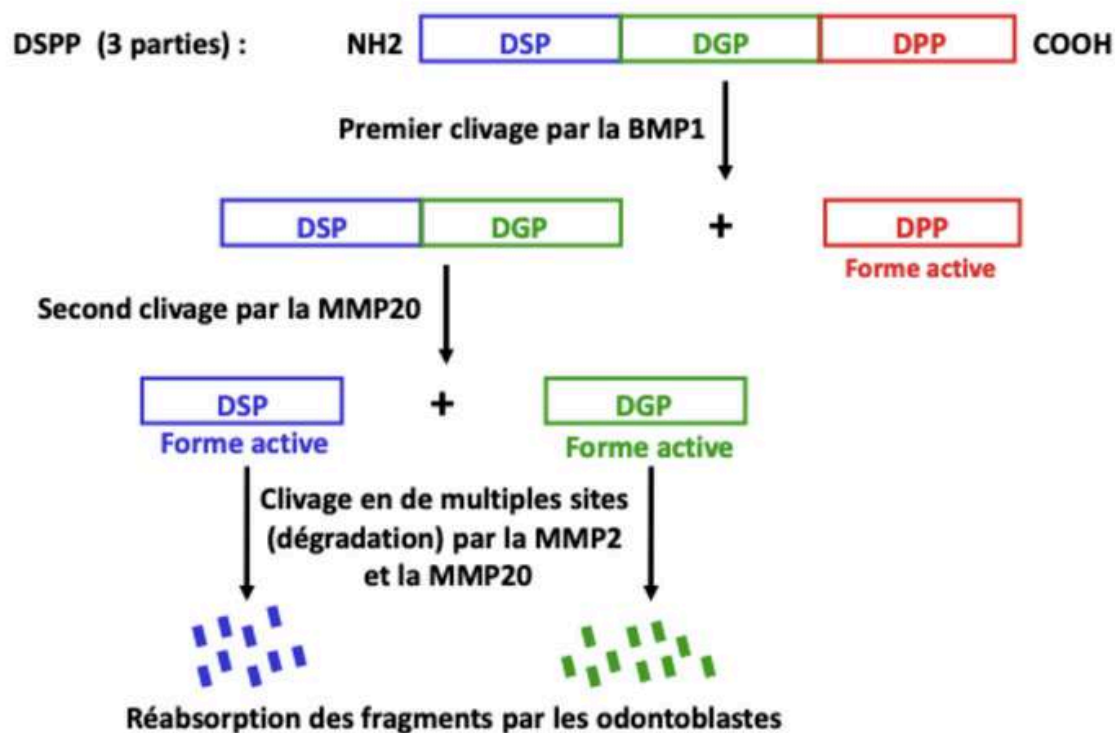
La sialophosphoprotéine dentinaire (que nous appellerons à partir de maintenant DSPP) est une protéine de grande taille, de 1301 acides aminés. C'est une protéine inactive.



L'image de gauche vous montre la forte **expression** du gène DSPP 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 pré-améloblastes 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 prédentine 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.

Sialoprotéine dentinaire (DSP) 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 2 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 des tubules** en **bloquant** la **minéralisation** de la matrice intratubulaire.

Glycoprotéine dentinaire (DGP) 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.

Phosphoprotéine dentinaire (DPP) est la **plus grosse** des 3 protéines générées à partir de la DSPP. Elle a un poids moléculaire d'environ **140 kDa**. C'est également la plus abondante, elle représente **50%** des **protéines non-collagéniques** de la matrice dentinaire. C'est une protéine très **acide**. Son point iso-électrique est en effet voisin de 1. Cette acidité s'explique par la composition de la protéine en acides aminés. En effet, la DPP est constituée à 85% par deux acides aminés, l'acide aspartique (symbole D) et la phosphosérine (symbole S), à parts à peu près égales. Ces acides aminés sont assemblés d'une manière très particulière, essentiellement sous la forme de répétitions de dipeptides DS et de tripeptides DSS qui constituent des domaines fortement négatifs capables de lier les ions calcium Ca⁺⁺. La DPP est sécrétée à proximité du **front de minéralisation** où elle se **lie** au **collagène de type I** de manière **covalente**. Elle concentre les ions calcium dans la fibre de collagène de type I et induit la **formation de l'hydroxyapatite**.

⇒ De nombreuses expériences in vitro à partir de protéine purifiée ont démontré ce rôle de **promoteur de la minéralisation**. Par ailleurs, les souris knock-out chez lesquelles le gène DSPP a été inactivé montrent une augmentation de l'épaisseur de la prédentine qui traduit un retard de minéralisation. Elles montrent également une hypominéralisation généralisée de la dentine semblable à celle rencontrée dans une pathologie humaine héréditaire appelée *dentinogenèse imparfaite de type III*.

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 : +++

- sialophosphoprotéine dentinaire
- phosphoprotéine matricielle dentinaire -1
- sialoprotéine osseuse

Alors que **2** la régulent **négativement** : +++

- l'ostéopontine
- phosphoglycoprotéine extracellulaire matricielle

Les autres protéines non collagéniques

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)
- la **protéine-Gla matricielle** (présente en plus faible quantité, qui représente les 15% restants)

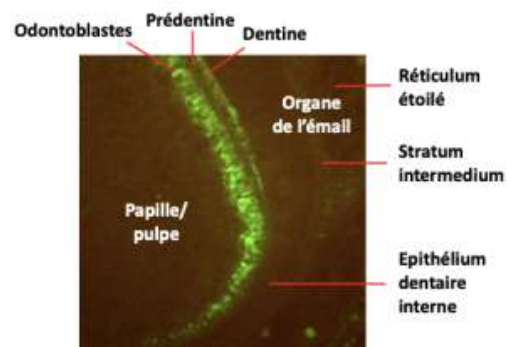
→ Ces 2 protéines régulent **négativement** la minéralisation de la matrice dentinaire en inhibant la formation de l'hydroxyapatite.

La matrice dentinaire contient également diverses glycoprotéines acides comme l'ostéonectine, la thrombospondine et la glycoprotéine acide osseuse BAG-75.

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.



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.

c. Les protéoglycanes

Voyons à présent les **protéoglycanes**, 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 protéoglycanes qui portent des chaînes de chondroïtine-4-sulfates.

Lors de la maturation de la prédentine, la plupart des protéoglycanes sont dégradés à proximité du front de minéralisation, principalement par des **métalloprotéases**. Environ 40% des protéoglycanes 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 protéoglycanes **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 protéoglycanes bloquent aussi indirectement la minéralisation en **inhibant la fibrillogenèse** 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**.

d. Les autres composants

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 morphogénèse 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.

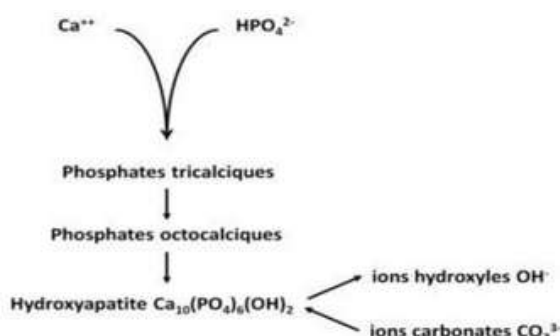
V. Minéralisation de la matrice dentinaire

La **matrice dentinaire** une fois déposée puis remaniée lors de la phase de maturation va être **minéralisée** pour former la **dentine**. Au final, ce tissu contiendra **70%** de minéral. Comme pour l'émail, le ciment ou l'os, on va avoir un dépôt de sels minéraux essentiellement sous forme d'**Hydroxyapatite**.

L'**Hydroxyapatite** (HA) : Il s'agit d'un cristal formé principalement d'ions **calcium** et **phosphate** qui s'associent pour former du phosphate tricalcique puis du phosphate octocalcique et enfin de l'hydroxyapatite de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ +++

L'HA rencontrée dans les tissus minéralisés comme la dentine n'est **pas pure**. En effet, une partie des **ions hydroxyles** est remplacée : elle est substituée par des ions **carbonates**, d'où le terme : **hydroxyapatite carbonatée**.

La formation de l'hydroxyapatite nécessite une quantité importante d'ions calcium et phosphates dans la pré dentine au niveau du **front de minéralisation**.



a. Transport du calcium à travers la couche odontoblastique

Au cours de la dentinogénèse, une quantité importante de **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.

Il existe différents mécanismes permettant ce transport :

Les **vésicules d'endocytoses** capables de se déplacer jusqu'au **pôle apical**

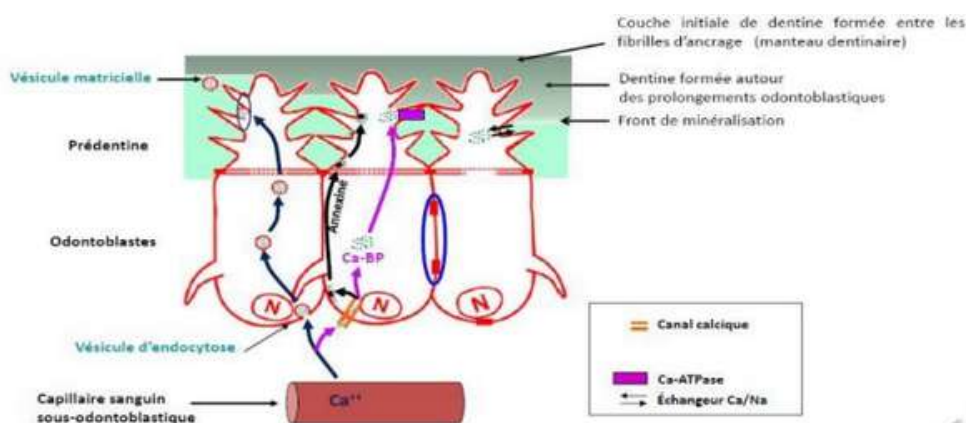
Les **canaux calciques** de la membrane cellulaire : l'ion se déplace ensuite en liant :

- Des **protéines de liaison** → calcium binding proteins (CaBP) comme les **calbindines-D** (9-28 kDa) dans le cytoplasme.
- Des **protéines acides de la membrane** → les annexines lient fortement le calcium et les phospholipides membranaires et se déplacent le long du feuillet interne de la membrane plasmique.

La sortie du calcium diffère selon le lieu de minéralisation de la prédentine :

Entre les fibrilles d'ancrage : +++ Le calcium est stocké dans des **vésicules matricielles** qui bourgeonnent à partir de la membrane plasmique du prolongement odontoblastique. À l'**intérieur** de ces vésicules à lieu la formation des **cristaux d'hydroxyapatite**.

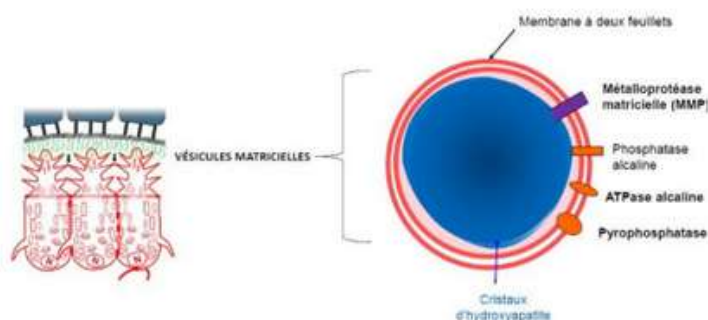
Autour des prolongements odontoblastiques : +++ Il n'y a **PAS** de formation de **vésicule matricielle** et le calcium sort **directement** de la cellule dans la matrice pré-dentinaire. Le calcium sort par **Ca-ATPases** ou des **échangeurs sodium/calcium** situés dans la membrane du prolongement odontoblastique à proximité du front de minéralisation.



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

La minéralisation ne débute pas de la même manière en fonction de l'endroit dans lequel on se trouve.

La minéralisation entre les **fibrilles d'ancrage** : dépend de la formation de cristaux d'HA, à partir d'ions calcium et phosphate contenus à l'intérieur de **vésicules matricielles** (200 nm). Elles sont limitées par une **membrane à deux feuillets** dans laquelle on trouve de nombreuses enzymes, notamment les *métalloprotéases matricielles*, *Phosphatases Alcalines*, *ATPases Alcalines* et *Pyrophosphatases* contribuant à la formation d'ions **phosphates**.



Les **métalloprotéases matricielles** MMP2, 3, 9 et 13 : elles interviennent dans la dégradation partielle ou totale des glycoprotéines et des protéoglycanes présents dans la matrice prédentinaire qui entoure les vésicules. Elles permettent ainsi de créer un environnement favorable à la minéralisation.

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.

Les vésicules matricielles concentrent également une quantité importante de **calcium**.

Il se forme alors des **cristaux de phosphates de calcium** qui se transforment 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**.
- Au **centre** des vésicules, en relation avec des molécules qui lient le calcium comme les **calbindines**.

La formation des cristaux supplémentaires entre ces deux sites conduit au **remplissage** des vésicules. 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 à ce que leur axe longitudinal soit **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.



Sur cette coupe au ME, on peut voir les vésicules matricielles (mv) qui s'entremêlent aux fibrilles de collagène dans lesquels se produit la minéralisation initiale de la matrice dentinaire.



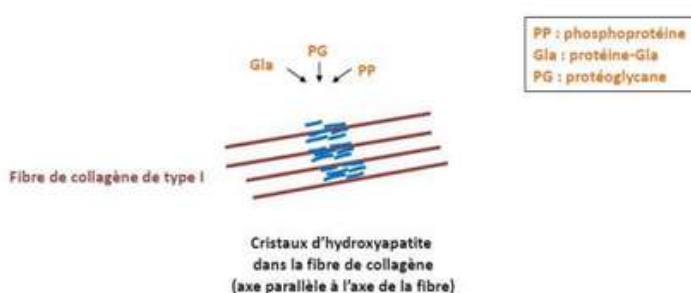
c. Minéralisation de la prédentine autour des prolongements odontoblastiques

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 1**. Les *phosphoprotéines*, les *protéines-Gla* et les *protéoglycanes* (sécrétées à la base du prolongement) régulent la formation et la croissance du minéral.

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**.

La complexité de la structure de la dentine en fait un matériel organique capable de résister à d'importantes contraintes physiques.



Déiiiiiiiiissss

Dédi à ma mère et à ma soeur, grâce à qui j'ai tenu durant la P1 !

Dédi à Callista, Nina et Ambre, vous êtes des amies incroyables, même si vous verrez pas cette dédi ;(

Dédi à mes nouvelles amies en dentaire : Margot, Maissa (aka Maïcrobiote), Clarisse (aka Clarythmie), Célia (aka Céliaphasie) !

Dédi au TV show *Taskmaster*, sans lequel j'aurais pas passé le S1

Dédi au cinéplanet en bas de chez moi, où j'ai regardé mes meilleurs films

Dédi à la P2 dentaire !!!

Dédi à moi bien sûr

Dédi a toi, tu vas y arriver, fais-toi confiance !