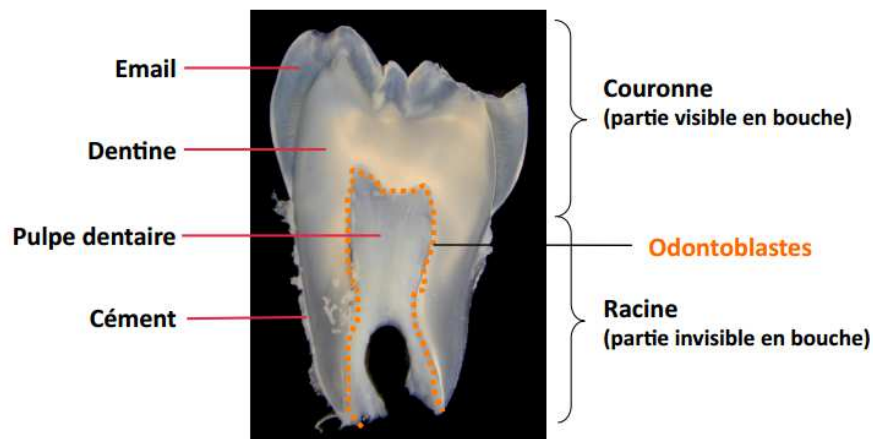


# La dentinogenèse

## Introduction

La dentinogénèse est la formation de la dentine. Cette dentine est un des trois tissus minéralisés de la dent. Nous avons vu comment se formaient les germes dentaires, la mise en place des différentes étapes cellulaires (épithélium, ectomésenchyme), ces différentes étapes aboutissant à la formation de la cloche dentaire.

Rappel morphologique : coupe de dent observée avec une loupe (ce n'est pas une coupe microscopique)



On peut voir les différents tissus minéralisés qui forment la dent :

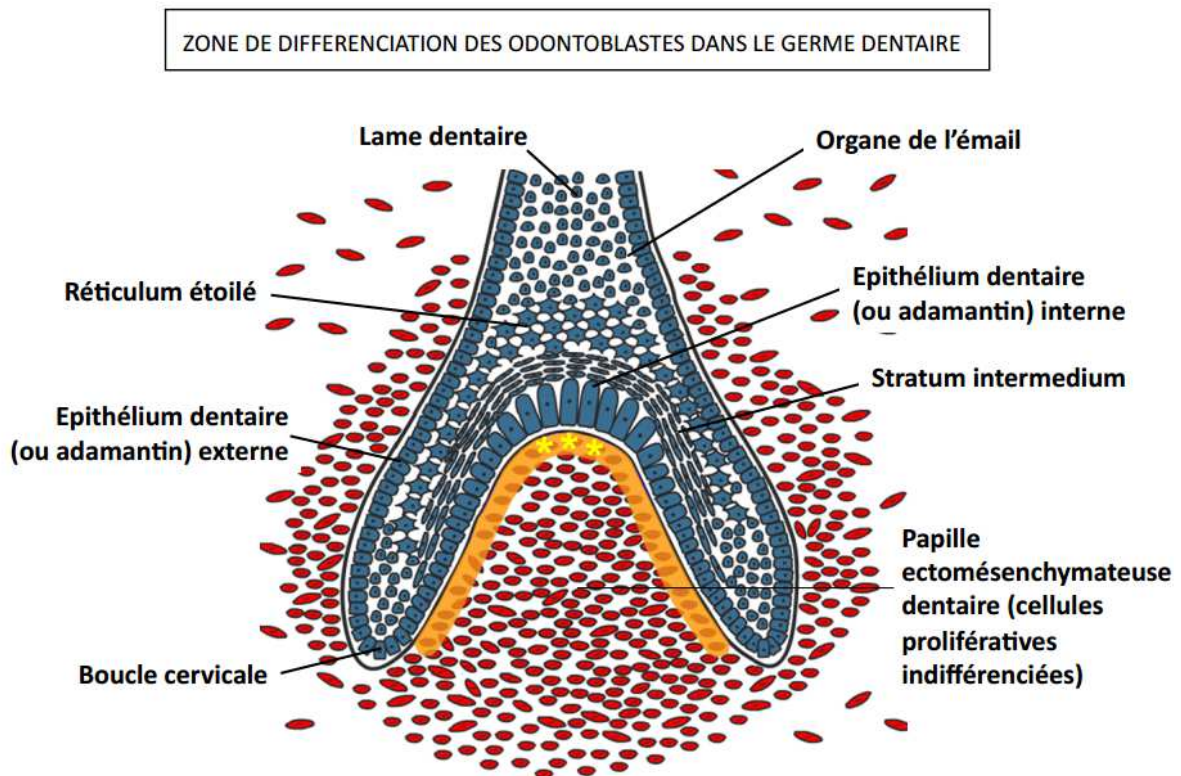
- **L'émail** qui entoure la dent, tissu le plus dur et le plus minéralisé de l'organisme
- **La dentine**, aussi appelée ivoire qui est la charpente de la dent. C'est elle qui donne la résistance mécanique à la dent. Ce tissu n'est pas innervé ou vascularisé mais contient les prolongements des corps cellulaires des cellules qui forment la dentine, les odontoblastes. Les corps cellulaires des odontoblastes se trouvent dans la pulpe dentaire.
- **Cément** : il fait partie du parodonte (ensemble des tissus de soutien de la dent)

Pré-dentine = tissu non minéralisé

Dentine = tissu minéralisé

## Différenciation des odontoblastes

Les odontoblastes sont des cellules sécrétoires qui produisent la matrice dentaire.



Toutes les cellules en bleus sont des cellules épithéliales (épithélium dentaire externe, épithélium dentaire interne, réticulum étoilé et stratum intermedium).

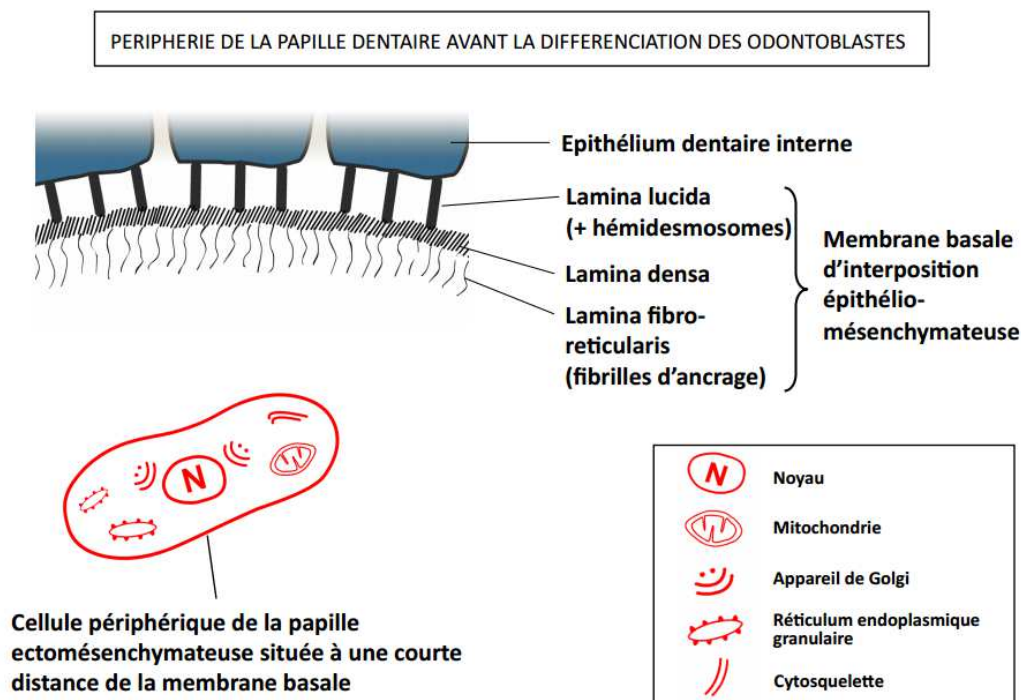
L'organe de l'émail est entouré par des cellules ectomésenchymateuses (en rouge). Elles sont situées au centre de la cloche, sont des cellules prolifératives indifférenciées.

Les **odontoblastes** vont se différencier dans la zone orangée, au contact de l'épithélium dentaire interne. Les premiers odontoblastes apparaissent au niveau des étoiles sur le schéma. Cette zone est vis à vis des cellules épithéliales les plus allongées et correspondent aux futures cuspides des dents. La différenciation va ensuite progresser en direction de la boucle cervicale (zone où l'épithélium dentaire interne affronte l'épithélium dentaire externe).

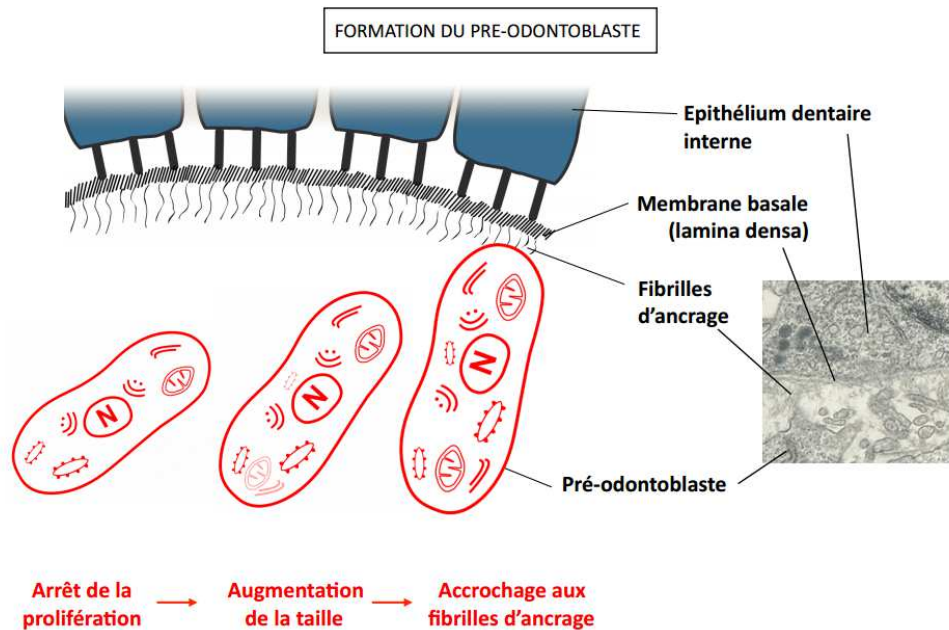
Juste avant la différenciation des odontoblastes on a une situation histologique classique qui est une zone de jonction épithélio-mésenchymateuse. On a une membrane basale d'interposition constituée de plusieurs lames :

- **La lamina densa** (foncée sur les préparations de microscopie électronique à transmission) qui est l'armature de la membrane basale
- **La lamina lucida** (au dessus) : elle correspond à la zone d'attache des hémidesmosomes entre les cellules de l'épithélium dentaire interne et la membrane basale (hémidesmosomes : traits noirs sur le schéma)
- **La lamina fibroreticularis** : c'est elle qui comporte des fibrilles d'ancrage qui permettent l'ancrage de la membrane basale à la papille ectomésenchymateuses

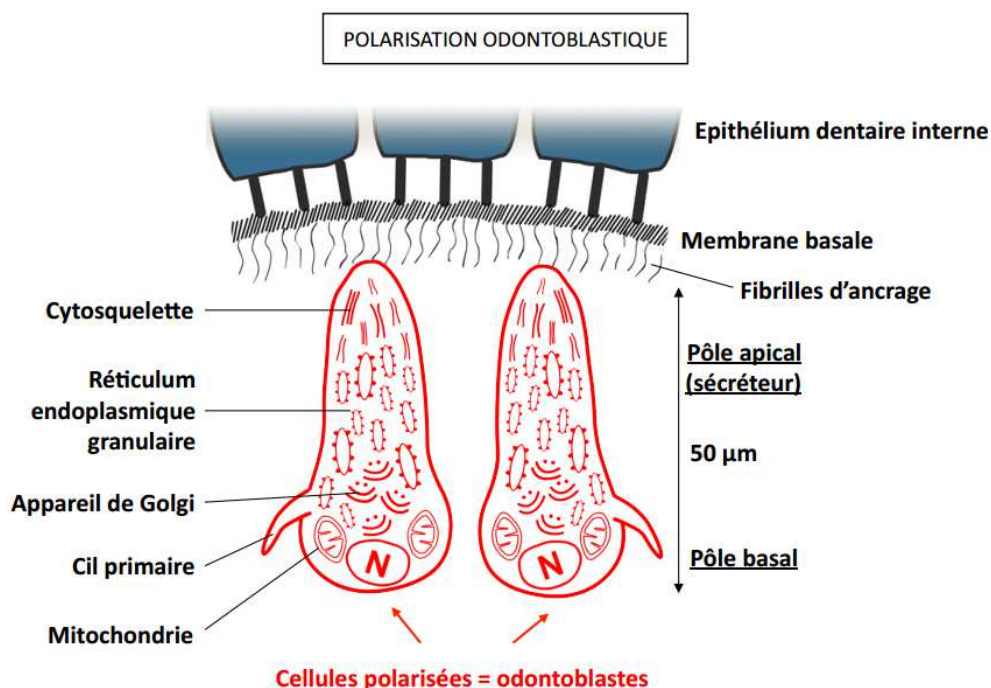
Les cellules périphériques de cette papille sont à courte distance de la membrane basale et sont séparées par un espace de quelques microns. Elles sont ovalaires, à noyau central et les organites cytoplasmiques sont répartis uniformément dans le cytoplasme. Ce sont elles qui deviendront les odontoblastes.



La différenciation des odontoblastes va aboutir à la formation des pré-odontoblastes : débute par l'**arrêt de la prolifération cellulaire** des cellules situées à courte distance de la membrane basale. Après cette étape, on va noter une augmentation de la taille des cellules puis en même temps qu'elles grandissent, elles se trouveront en contact avec les fibres de la lamina fibroréticulaire et on aura un accrochage de ces cellules à la membrane basale. Ces cellules lorsqu'elles sont accrochées à la membrane basale sont appelées **pré-odontoblastes**. En MET, on peut voir ces différents éléments : contact entre les fibrilles d'ancrage et les pré-odontoblastes.



Ces pré-odontoblastes vont ensuite se **polariser**. Le noyau s'éloigne de la membrane basale ; en même temps le réticulum endoplasmique granulaire et l'appareil de Golgi se placent en position supra-nucléaire. Les citernes du réticulum endoplasmique granulaires sont orientées parallèlement au grand axe de la cellule. L'appareil de Golgi, situé au centre de la cellule se tourne vers le pôle cellulaire en contact avec la membrane basale. On voit aussi apparaître au niveau du corps cellulaire un cil primaire à proximité du noyau.



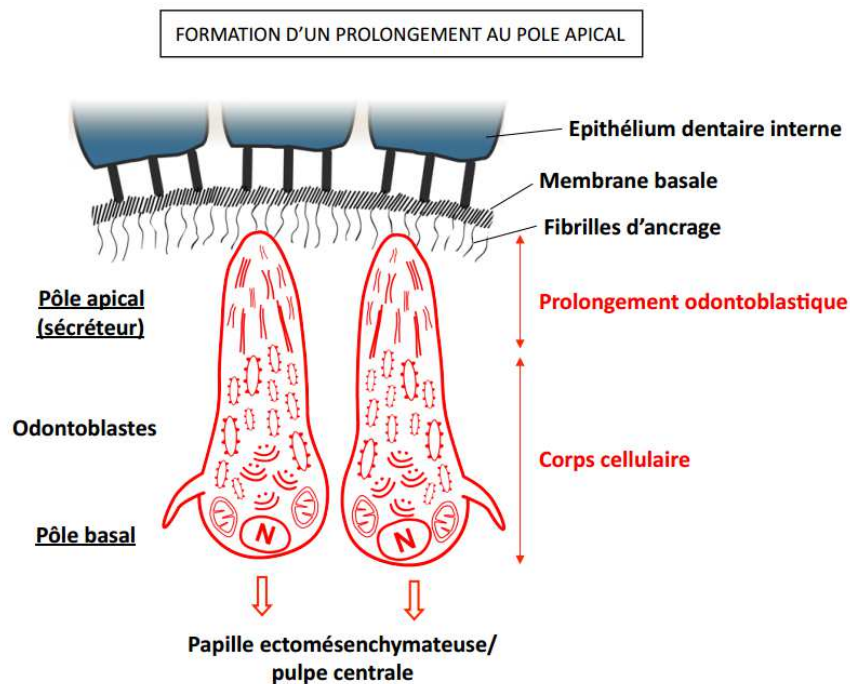
Les éléments du cytosquelette (microtubules, filaments intermédiaires et microfilaments) s'accumulent au pôle de la cellule au contact avec les fibrilles d'ancrage. Les mitochondries, quant à elles, restent dispersées dans l'ensemble de la cellule.

En même temps que cela s'organise on a également une croissance de la cellule avec une forte augmentation du REG, de la quantité d'appareil de Golgi et de mitochondries. Il en résulte un allongement de la cellule ; le corps cellulaire va atteindre une longueur de l'ordre de  $50\ \mu m$  (une cellule non différenciée de la papille ectomésenchymateuse a, à peu près, une taille de  $10\ \mu m$ ).

Le pôle de la cellule en contact avec la membrane basale va devenir le pôle sécrétoire. Le pôle de la cellule où on trouve le noyau devient le pôle basal.

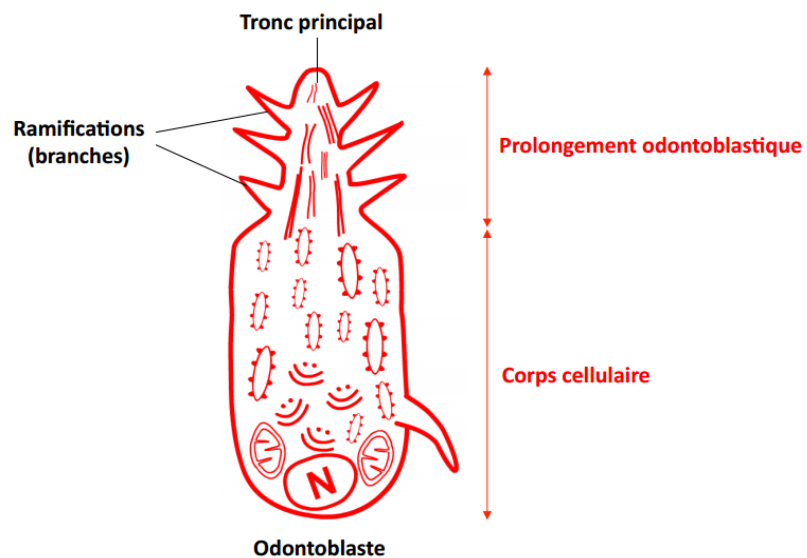
La cellule, à ce stade, a une forme de poire dont la partie située au contact de la membrane basale deviendra le futur **prolongement odontoblastique**.

C'est lorsque cette couche d'odontoblastes est formée sur la papille ectomésenchymateuse va prendre le nom de **pulpe dentaire**. La cellule va reculer en direction du centre de la pulpe et on aura un allongement progressif du prolongement odontoblastique. Dans la dentine adulte, ces prolongements odontoblastiques sont continus de la jonction émail/dentine jusqu'à la pulpe, donc jusqu'à 2 ou 3 mm de longueur.



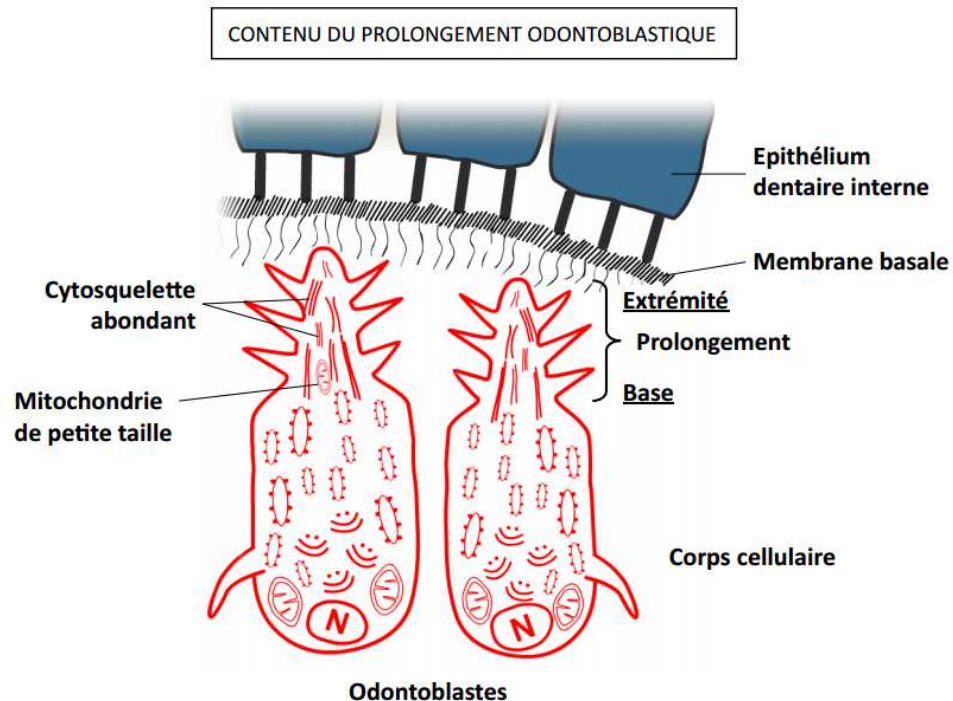
RAMIFICATIONS DU PROLONGEMENT ODONTOBLASTIQUE

En s'allongeant ce prolongement va aussi se ramifier, ce qui permettra des contacts entre les odontoblastes voisins.





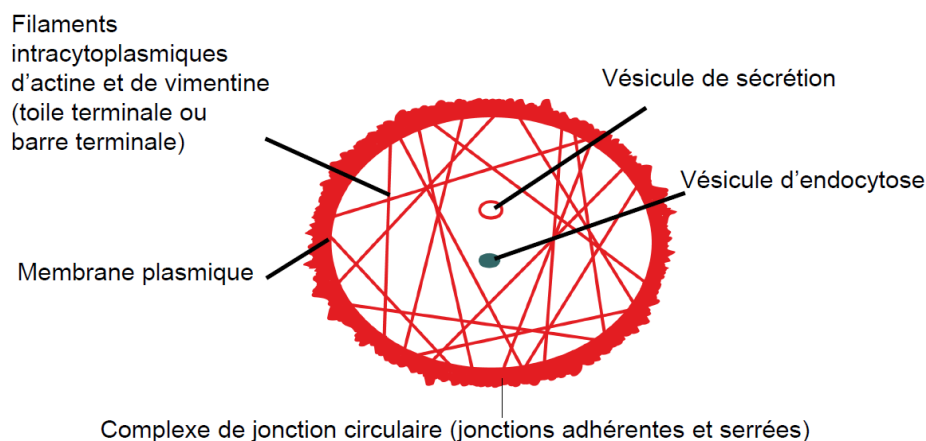
Ce prolongement a une composition spécifique avec un cytosquelette très abondant. On ne trouve pas d'organites cytoplasmiques impliqués dans la synthèse, on va trouver uniquement quelques mitochondries de petite taille à la base du prolongement. Ce prolongement, lorsque la production et la maturation de la pré-dentine aura commencée, va contenir de nombreuses vésicules de sécrétion et d'endocytose.



La matrice sécrétée en premier (pré dentine) est une **matrice collagénique non calcifiée**. On a donc l'établissement d'une structure (**le terminal web**, ou toile terminale) au niveau de la zone entre le corps cellulaire et le prolongement odontoblastique. A ce niveau on a constaté que de nombreux filaments d'actine et de vimentine se fixent à face interne de la membrane plasmique et vont former cette toile perpendiculairement à l'axe longitudinal cellulaire.

Ce terminal web fonctionne comme un filtre qui empêche les éléments du cytoplasme, en particulier les éléments de grandes tailles (Golgi, REG, mitochondries) de migrer dans le prolongement odontoblastique. Par contre le terminal web va laisser passer les vésicules de sécrétion et d'endocytose. Le passage de ces vésicules se fait au centre de la cellule, endroit où ce terminal web a les plus grandes mailles.

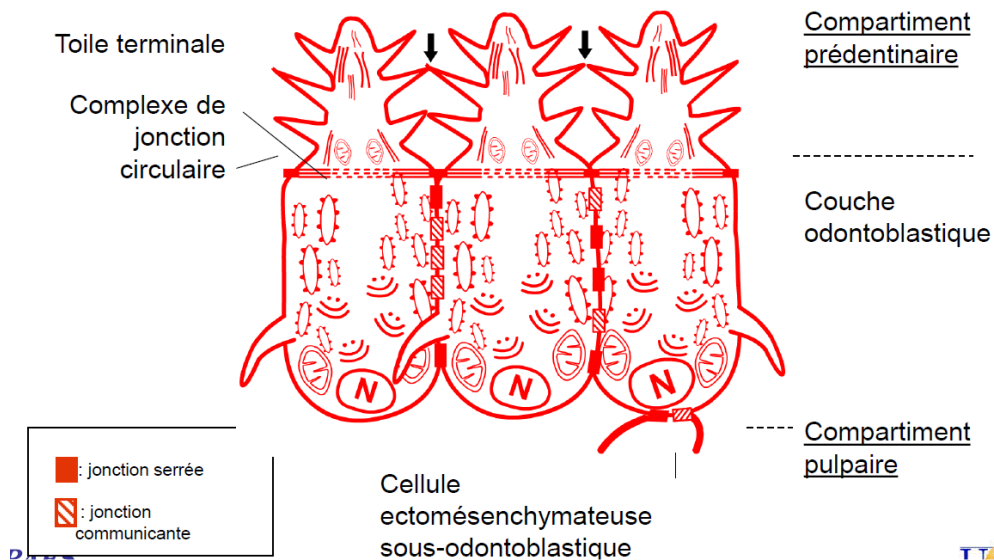
Sur la face externe de la membrane plasmique vont apparaître des complexes de jonction circulaires qui relient les odontoblastes entre eux, complexes de jonctions adhérentes et serrées.



On peut voir ce terminal web sur ce dessin : à l'intérieur de la cellule et au niveau de la face externe de la membrane plasmique on retrouve un complexe de jonctions serrées et adhérentes.  
 En hachuré : jonctions communicantes

La formation de ce terminal web et du complexe de jonctions aboutit à la formation d'une couche odontoblastique. On note également à ce stade de la formation des contacts entre les prolongements odontoblastique par l'intermédiaire de leur ramification.  
 Tout le territoire situé entre le complexe de jonction circulaire et la membrane basale est le **compartiment pré-dentinaire**, qui va contenir la pré-dentine. On a également établissement de jonctions (serrées ou communicantes) entre les corps odontoblastique. De même au pôle basal on a des jonctions cellulaires entre les odontoblastes et les cellules ectomésenchymateuses sous odontoblastique.

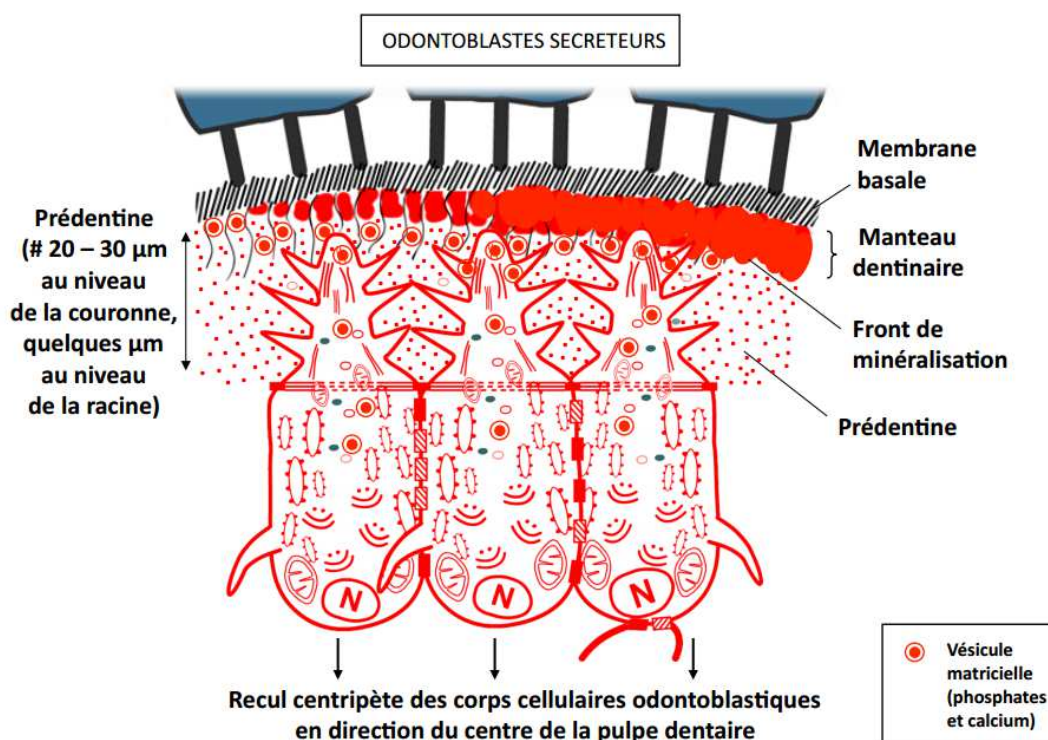
Séparation de 3 compartiments : pré-dentinaire, pulpaire et couche odontoblastique.



Cette couche odontoblastique et le terminal web ainsi que le complexe de jonctions circulaires doivent être formés pour que les odontoblastes soient fonctionnels et synthétisent la pré-dentine. Elle est d'abord sécrétée entre les fibres d'ancrage de la membrane basale puis plus tard autour des prolongements odontoblastiques.

En l'absence de pathologie dentaire, d'agressions, des odontoblastes déposent de la pré dentine durant toute la vie de la dent, donc de l'individu. Mais cette sécrétion n'est pas à vitesse constante mais se ralentit très fortement après l'éruption de la dent dans la cavité buccale.

Une fois sécrétée la pré dentine subit un phénomène de maturation puis se minéralise dans la partie la plus éloignée du corps cellulaire, entre les fibres d'ancrage. Cette première couche de dentine formée au contact de la membrane basale s'appelle le **manteau dentinaire**.



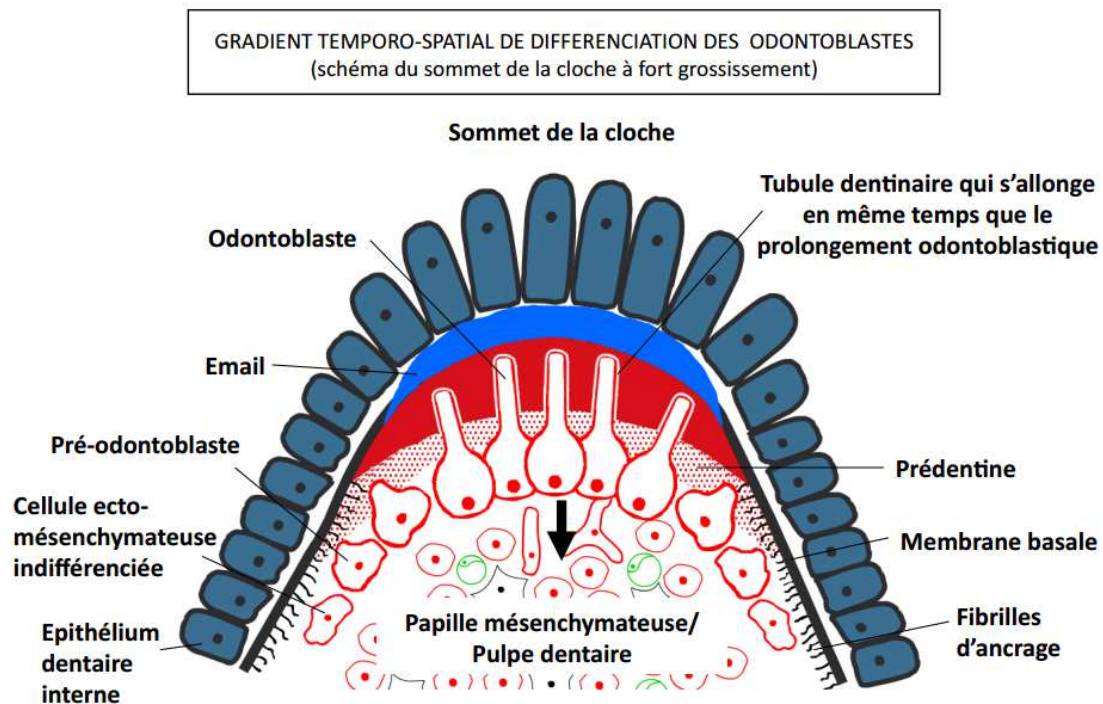


**Sur le schéma** : lorsque la dentine se forme, la membrane basale disparaît et il y a contact direct entre l'émail formé et la dentine. Cette zone est la jonction émail/dentine.

Cette différenciation des odontoblastes se fait suivant un gradient temporo-spatial très précis qui débute au sommet de la cloche, au centre de la cloche, pour se diriger vers la boucle cervicale. On voit également que le dépôt de pré-dentine entraîne un recul des corps cellulaires vers le centre de la pulpe dentaire. Ce recul entraîne un allongement du prolongement odontoblastique qui se retrouve donc entouré par un tissu minéralisé, la dentine, à son extrémité et par un tissu non minéralisé à sa base, la pré-dentine. Il est donc dans un petit tube appelé un **tubule dentinaire** qui a un diamètre d'environ  $2,5 \mu m$ .

La membrane basale disparaît au moment où l'émail va se former. La pré-dentine et la dentine se déposent donc au contact de la membrane basale puis celle-ci va disparaître.

On peut voir également deux capillaires (en vert dans la papille) ; l'étape de la minéralisation a besoin de calcium, de phosphate, d'énergie et de métabolite. La pulpe est richement vascularisée.

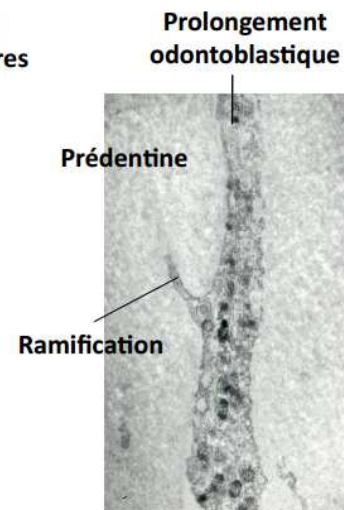
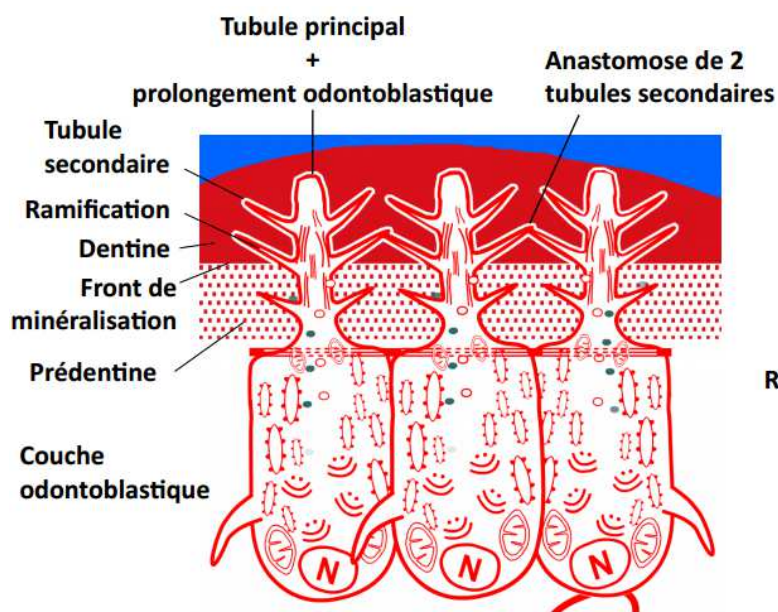


## Structure de la dentine

La dentine humaine est une structure poreuse formée par des milliers de tubules, en moyenne 10 000 tubules par  $mm^2$ , elle est donc très perméable surtout vis à vis des bactéries qui peuvent rentrer dans les tubules au cours de la carie dentaire. Cette perméabilité et le passage des bactéries est accrue par les tubules secondaires qui permettent les communications entre prolongements odontoblastiques voisins.

Sur MET, on voit un prolongement odontoblastique :

- ⇒ Son diamètre n'est pas constant mais conique, plus fin vers la jonction émail/dentine
- ⇒ Existence d'une ramification traversant la pré-dentine

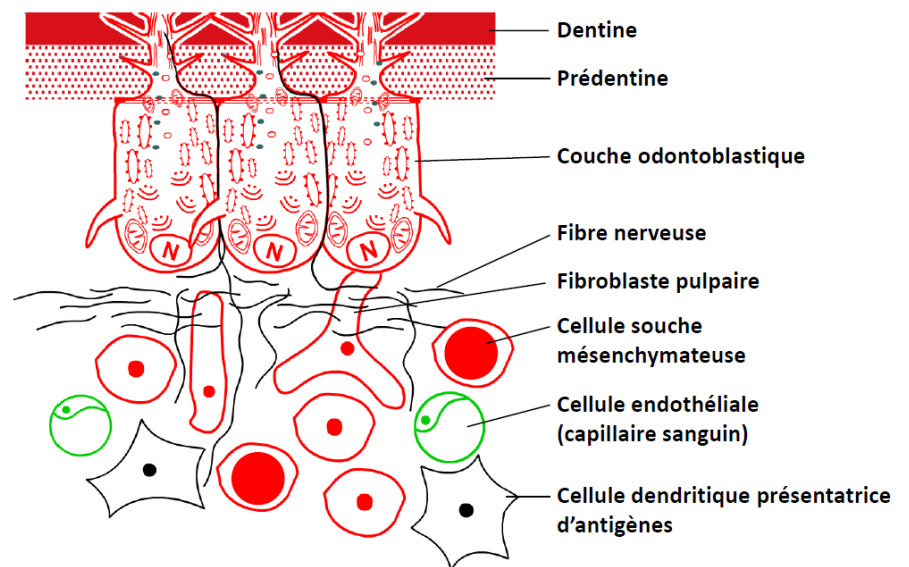


*Prolongement odontoblastique traversant la prédentine. Microscopie électronique à transmission.*

Les odontoblastes sont également en contact avec la papille dentaire. Cette papille dentaire est un tissu mésenchymateux contenant plusieurs types cellulaires :

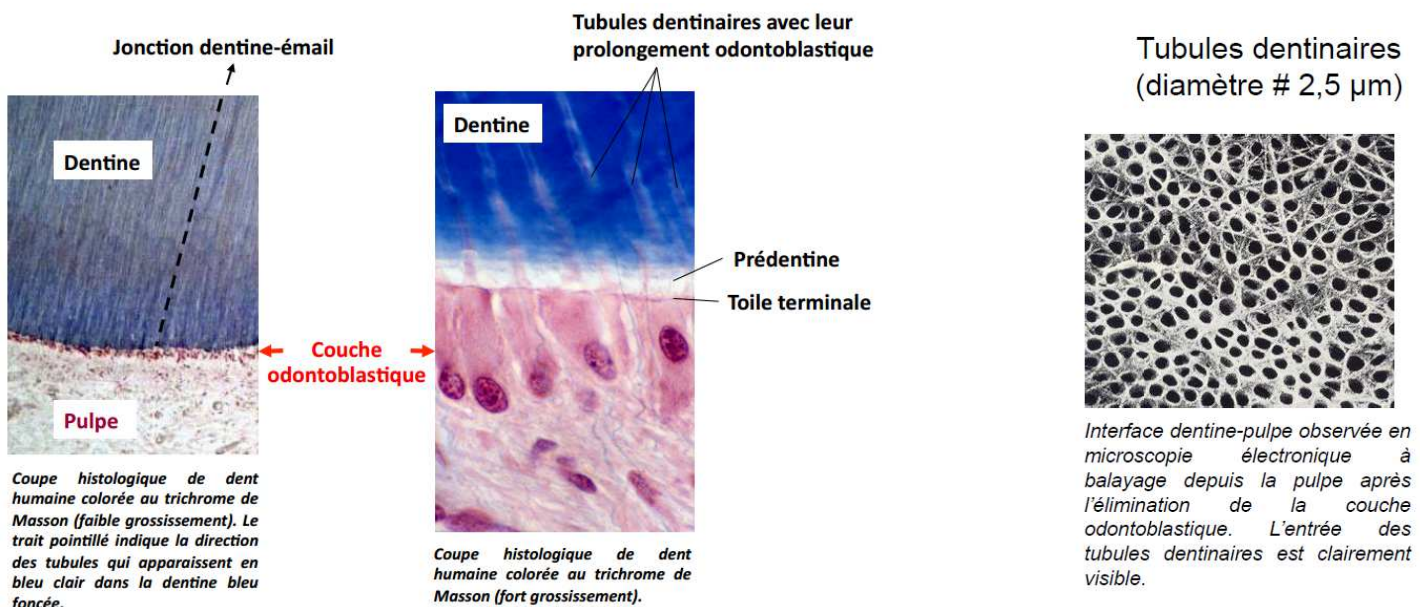
- **Des fibroblastes** : il existe des jonctions communicantes et serrées entre fibroblastes pulpaire et odontoblastes
- **Des cellules endothéliales** des capillaires sanguins en contact avec les odontoblastes qui leur apportent l'oxygène et les nutriments nécessaires à la production de la pré-dentine
- **Des cellules immunitaires**, en particulier des cellules dendritiques présentatrices d'antigène qui assurent la défense de la pulpe dentaire contre les agressions bactériennes
- **Un plexus nerveux** à proximité des odontoblastes avec certaines fibres nerveuses qui vont passer entre les corps des odontoblastes pour pénétrer dans les tubules et qui vont s'arrêter dans les régions proches du corps cellulaire. Ces fibres sont responsables de la sensation de froid

#### RELATIONS DES ODONTOBLASTES AVEC LES CELLULES SOUS-ODONTOBLASTIQUES



Sur la coupe de gauche en MO (faible grossissement) : on voit les tubules dentinaires parallèles à la ligne en pointillée. On a une couche odontoblastique en rouge et en dessous la pulpe dentaire. Si on agrandit la zone de contact on peut voir les tubules et les prolongements odontoblastiques à l'intérieur des tubules, les corps cellulaires des odontoblastes (noyaux au niveau du pôle basal), le terminal web et la pré-dentine (couche claire).

A l'intérieur de la dent, si on regarde en MEB la paroi calcifiée on voit les ouvertures de ces tubules qui sont en très grand nombre.



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).

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.

## Régulation de la différenciation odontoblastique

C'est un mécanisme parfaitement régulé.

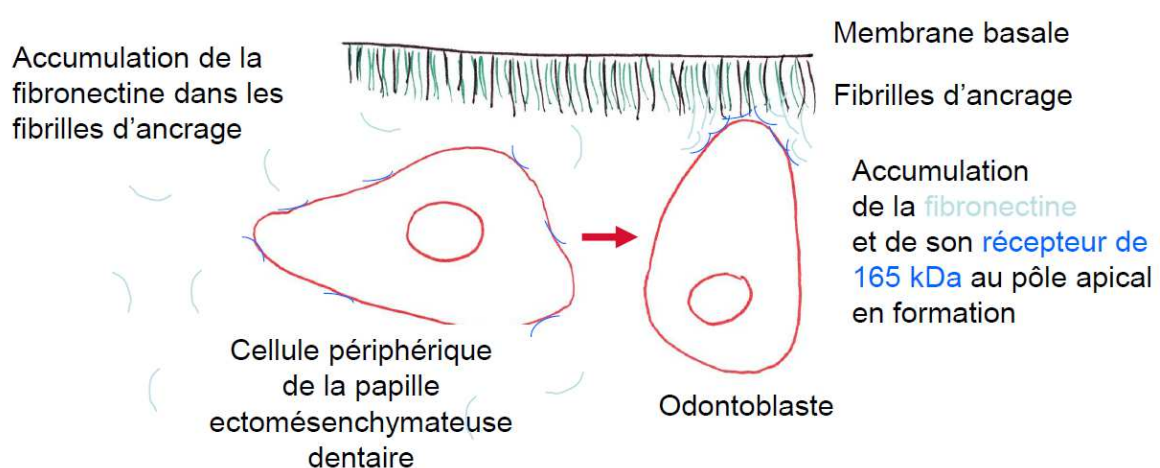
**Au niveau tissulaire** on a étudié cette régulation par des expériences de dissociation/réassociation en utilisant comme modèle la première molaire de la souris. On peut donc après destruction enzymatique de la membrane basale séparer la partie épithéliale de la partie ectomésenchymateuse et les mettre en culture en milieu séparé et les réassocier avec des stades de développement différents.

**Au niveau moléculaire** on peut cultiver des papilles ectomésenchymateuses en présence de molécules spécifiques pour voir si ces molécules ont un rôle et à quel moment elles ont un rôle dans la régulation de la différenciation odontoblastique.

- ⇒ Mise en évidence du rôle déterminant de la **fibronectine** et du **TGF $\beta$ 1** qui a un rôle dans l'induction de la différenciation odontoblastique.

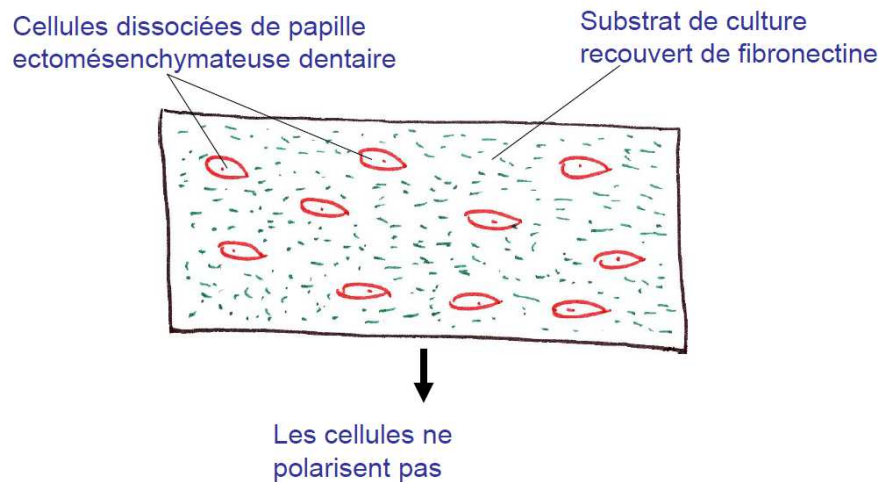
Lors du passage du stade de la cellule périphérique aux pré-odontoblastes on a un ancrage des cellules sur les fibrilles de la lamina fibroréticularis. On s'est aperçu que la fibronectine va s'accumuler dans la lamina fibroréticularis lorsque les cellules se rapprochent de la membrane basale. Les récepteurs de 165kD vont apparaître sur la membrane plasmique et vont être particulièrement nombreux au niveau de pôle cellulaire qui rentre en contact avec la membrane basale. On aura donc une réaction de type ligand/récepteur entraînant une cascade de réactions cellulaires, avec au final la polarisation de la cellule odontoblastique.

Si dans le même système de culture on met un anticorps anti-récepteur (empêchant le contact entre la fibronectine et son récepteur) on n'aura pas de polarisation odontoblastique. Donc la fibronectine et son récepteur membranaire sont essentiels pour obtenir la polymérisation odontoblastique.

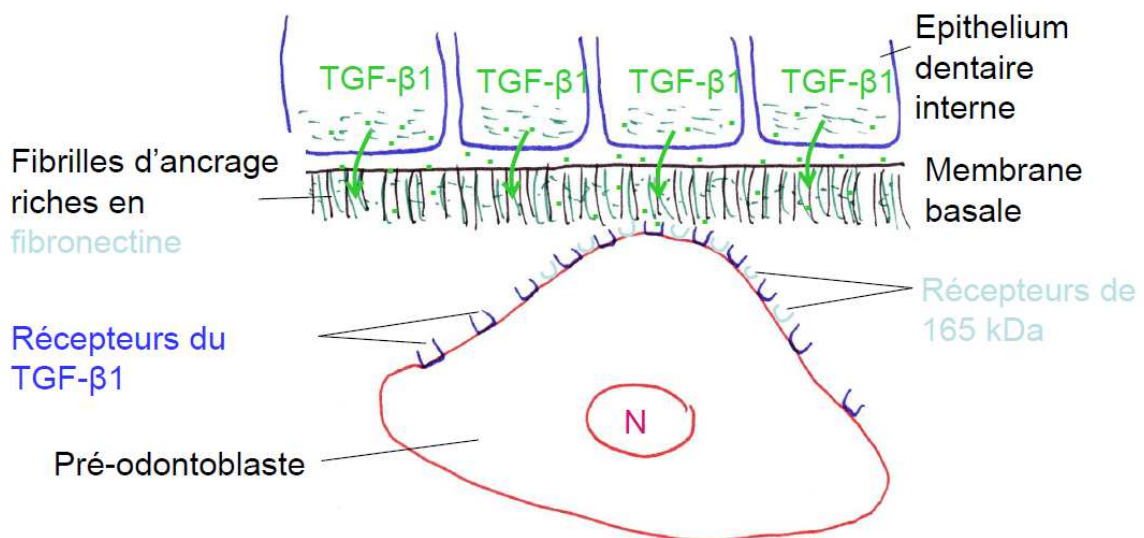




Néanmoins la fibronectine seule ne peut pas entrainer la différenciation odontoblastique. Si on fait un substrat et qu'on recoupe la fibronectine et qu'ensuite on cultive des cellules de la papille ectomésenchymateuse on n'obtient pas de polarisation cellulaire. Il est probable que pour que la polarisation se fasse on ait besoin d'associer la fibronectine avec d'autres composants des fibrilles d'ancrage de la membrane basale.



Un des composants de cette zone et dans la lamine fibroréticulaire est le **TGF $\beta$ 1**. C'est un facteur de croissance multifonctionnel et est sécrété en quantité importante par les cellules de l'épithélium dentaire interne. Il est stocké dans les fibres d'ancrage de la membrane basale enrichies en fibronectine. De plus les récepteurs membranaires à TGF $\beta$ 1 sont exprimés fortement à la surface des cellules ectomésenchymateuses périphériques, avant et au moment de leur polarisation.





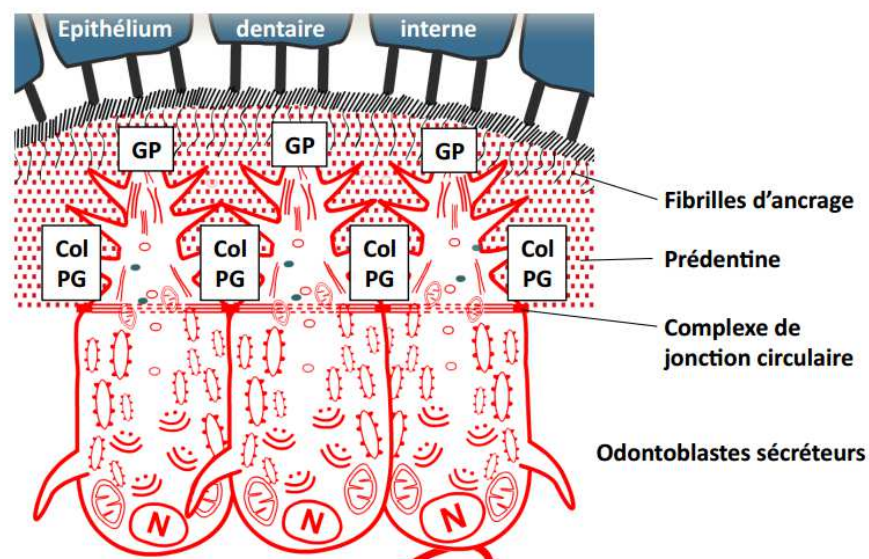
## Composition et maturation de la matrice dentinaire

Elle contient essentiellement du **collagène de type I** mais aussi des **glycoprotéines non collagéniques** impliquées dans la minéralisation. En plus faibles quantités on retrouve d'autres types de collagène, des protéoglycanes, des métallo protéases matricielles, des facteurs de croissance et d'autres composants d'origine diverses (protéines de l'émail et protéines sériques ainsi que des phospholipides).

Il existe deux sites principaux pour la sécrétion des constituants de la pré dentine :

- **Base du prolongement odontoblastique** (à proximité du corps cellulaire) : sécrétion principalement de collagène et de protéoglycanes
- **Extrémité du prolongement odontoblastique** (à proximité des fibres d'ancrage de la membrane basale) : sécrétion de glycoprotéines qui régulent le processus de minéralisation. Ce deuxième site va progressivement se déplacer au fur et à mesure de la synthèse de pré dentine et du déplacement du front de minéralisation. Il restera donc toujours au niveau de front du minéralisation (zone entre pré-dentine et dentine).

DEUX SITES PRINCIPAUX DE SECRETION DES CONSTITUANTS DE LA PRESENTINE PAR LES ODONTOBLASTES



Col : collagènes      PG : protéoglycanes      GP : glycoprotéines

La pré-dentine une fois sécrétée va subir une étape de maturation qui permet la structuration du réseau de collagène et la dégradation des glycoprotéines et protéoglycanes par des enzymes produites par les odontoblastes.

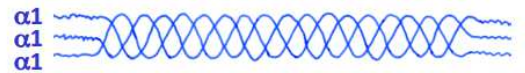
## • Le collagène

Le collagène de type I représente environ 85% de la matrice dentinaire.

\* 85% de collagène I classique :  $(\alpha 1[I])_2(\alpha 2[I])$



\* 15% de collagène I trimère :  $(\alpha 1[I])_3$



On a deux types de collagène de type I :

- Le classique formé de 3 chaînes : deux chaînes  $\alpha 1$  et une chaîne  $\alpha 2$  (85%)
- Les 15% restants sont des associations de 3 molécules  $\alpha 1$

**Le rôle principal** du collagène est de constituer l'armature de la matrice dentinaire qui est formée par un réseau de fibre de gros diamètre ( $\approx 200 \text{ nm}$ ). Le réseau collagénique ainsi formé est stabilisé par de nombreuses liaisons croisées covalentes qui s'établissent entre les fibres sous l'action de la **lysyl oxydase**. Cette enzyme est également sécrétée par les odontoblastes.

**Le second rôle** du collagène de type I est le support du minéral dentinaire. Ce minéral est formé principalement de cristaux d'hydroxyapatite déficiente en calcium et carbonatée.

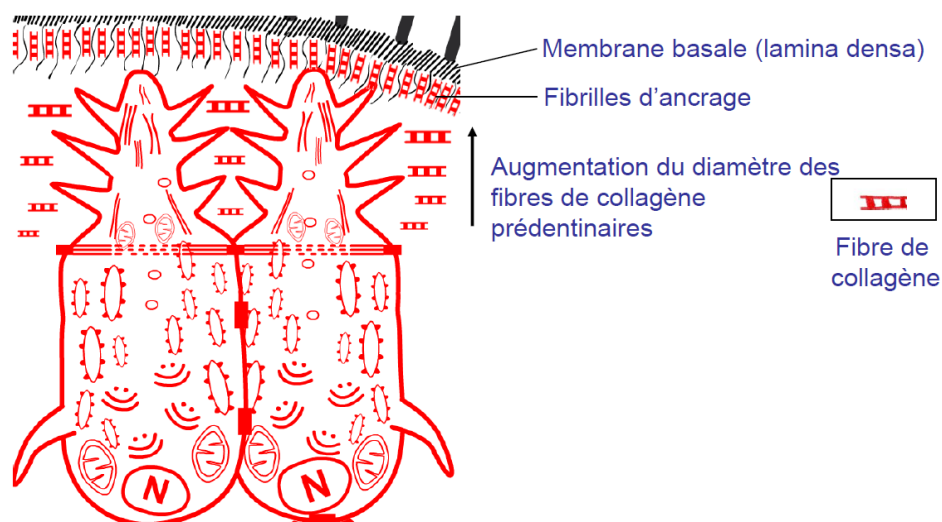
Dans la pré dentine, on trouve également d'autres types de collagènes :

- **Type V** (3% du collagène total synthétisé et sécrété par les odontoblastes), en association avec le collagène de **type I**
- Faible quantité de collagène de **type VI**, localisé à proximité des corps cellulaires odontoblastiques

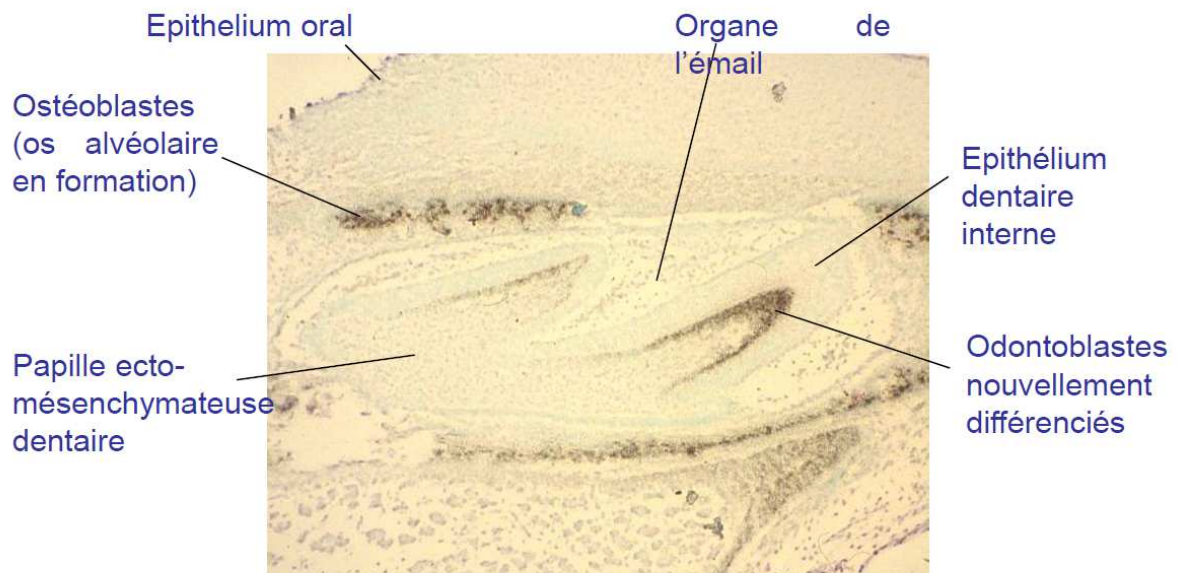
Dans la première couche de pré dentine sécrétée, située entre les fibres d'ancrage de la membrane basale, on trouve des fibres de collagène de petite taille orientées parallèlement à ces fibres. La présence de ces fibres mêlées aux fibres d'ancrage renforce la cohésion entre la dentine et la première couche d'émail qui va se déposer sur le manteau dentinaire.

Dans la pré dentine située autour des prolongements odontoblastiques, les fibres sont de plus gros diamètres et orientées perpendiculairement à l'axe du prolongement. Ces fibres confèrent au tissu une certaine élasticité qui lui permet d'amortir les chocs que subit la dentine lors de la mastication. Entre les fibrilles d'ancrage on trouve les fibrilles de collagène. Il n'y aura pas d'espace entre la dentine et l'émail grâce à ce système.

Il y a augmentation d'épaisseur des fibres en se rapprochant de la partie distale de la pré dentine.



L'expression du gène codant pour la chaîne  $\alpha 1$  du collagène de type I est mise en évidence par hybridation in situ. On visualisera ce gène par la présence de grains noirs au niveau des odontoblastes nouvellement différenciés au niveau de la papille dentaire (pulpe). Evidemment il n'y a pas de marquage dans la partie de l'organe de l'émail car c'est un tissu épithélial, il n'y a donc pas de collagène de type I. On a aussi production de collagène au niveau des ostéoblastes qui assurent la formation de l'os alvéolaire qui donnera la crypte osseuse autour de la dent.



*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.*

- **Les protéines non collagéniques**

On sait que la minéralisation de la pré dentine débute au niveau des fibres de collagène de type I mais le collagène seul n'induit pas la minéralisation. Celle ci 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 des fibres de collagène. Les odontoblastes produisent un grand nombre de protéines non collagéniques. Les plus abondantes appartiennent à la famille des **SIBLINGS**.

Elles sont au nombre de 5 dans la pré dentine :

- La sialophosphoprotéine dentinaire (DSPP)
- La phosphoprotéine matricielle dentinaire
- La sialoprotéine osseuse
- L'ostéopontine
- La phosphoglycoprotéine extracellulaire matricielle

**Elles partagent 7 caractéristiques communes :**

- ⇒ Elles sont principalement dans l'os et la dentine en quantités différentes
- ⇒ Sécrétées lors de la formation et minéralisation de ces deux tissus
- ⇒ Elles possèdent toutes une séquence adhésives RGD (arginine, glycine, acide aspartique) qui permettent à ces protéines de se lier à la membrane cellulaire sur des récepteurs de type intégrine
- ⇒ Cette liaison permet de transmettre un signal qui va activer des voies de signalisation intracellulaire
- ⇒ Elles sont toutes phosphorylées (acide, affinité pour le calcium)
- ⇒ Elles sont glycosylées
- ⇒ Leurs gènes, dont l'organisation est identique, sont situés sur le bras long du chromosome 4 dans la région q21

La SIBLING la plus importante dans la minéralisation de la pré dentine est la DSPP.

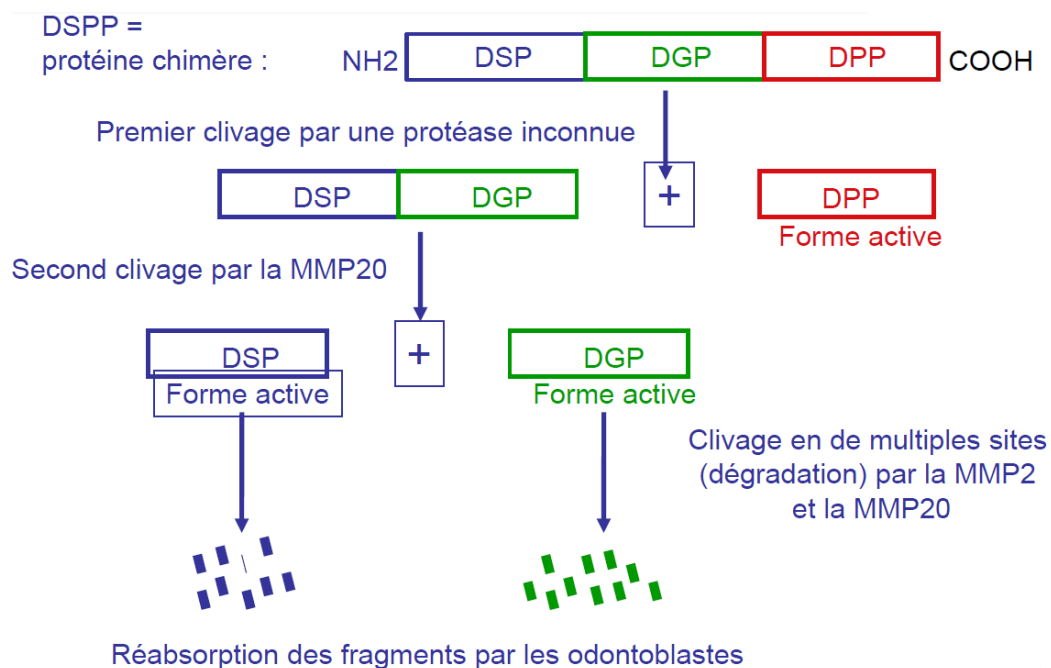
La sialophosphoprotéine dentinaire ou DSPP est une protéine chimère formée de 3 parties distinctes à l'origine de 3 protéines avec des fonctions différentes :

- La dentine sialoprotéine (DSP ou sialoprotéine dentinaire). Elle est produite du côté N-Terminale de la DSPP
- La glycoprotéine dentinaire ou DGP au milieu de la DSPP
- La phosphoprotéine dentinaire (DPP) du côté C-terminal de la DSPP

Cette protéine chimère va subir un premier clivage sous l'action d'une protéase et il y aura libération de DPP. Ce clivage est réalisé rapidement après la synthèse de DSPP. La DSPP n'est pas présente dans la pré dentine en tant que telle mais juste dans l'odontoblaste car ce premier clivage a lieu au moment de la sécrétion à proximité de la membrane plasmique. C'est ce clivage qui va permettre l'activation de la DPP.

Un deuxième clivage permet l'activation et la séparation de la DSP et de la DGP. Il est réalisé par une métallo protéinase matricielle, la **MMP20**, enzyme sécrétée par les odontoblastes à proximité de la membrane plasmique. La durée de vie de ces 2 protéines est courte car elles sont rapidement dégradées en de nombreux fragments et elles sont dégradées par la MMP2 et la MMP20.

Les fragments générés sont réabsorbés par les odontoblastes et réutilisés. Les molécules de DSP ne sont pas dégradées car on en retrouvera une partie dans les tubules dentinaires.





## DSP

La DSP est une molécule de 95kD qui représente de 5 à 8% des protéines non collagéniques de la matrice dentinaire. Elle est faiblement phosphorylée, fortement glycosylée et contient beaucoup d'acide sialique. Environ 1/3 des sucres portés par la DSP sont constitués par de l'acide sialique. On a également mis en évidence que cette protéine porte deux chaînes de chondroïtine-6-sulfate. La structure finale de cette protéine est donc d'être un protéoglycane. La localisation par immunocytochimie a montré que cette DSP est principalement présente dans la paroi des tubules dentinaires et on a émis l'hypothèse que cette glycoprotéine pourrait maintenir le diamètre du tubule en bloquant la minéralisation de la matrice et maintenir l'ouverture tubulaire.

## DGP

La DGP est la moins connue des 3 protéines issues de la DSP. C'est une petite protéine de 19kD phosphorylée sans fonction connue.

## DPP

La DPP est la plus grosse des 3 protéines avec 140kD. C'est aussi la plus abondante car elle représente la moitié des protéines non collagéniques de la matrice dentinaire. C'est la protéine la plus acide jamais découverte chez les mammifères avec un poids isoélectrique voisin de 1. Cette acidité s'explique par la composition de la protéine en acides aminés : 85% d'acide aspartique et de phosphosérine. Ces deux acides sont à peu près en quantités équivalentes. La séquence primaire de la protéine est surtout constituée de répétition de motifs DS et DSS. Ces répétitions constituent des domaines très négatifs qui vont fortement se lier avec des ions calciums (positifs et divalents). Cette 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 I et induit la formation d'hydroxyapatite.

D'autres études ont montré l'influence des SIBLING sur la minéralisation : on voit que 3 de ces SIBLINGS ont un rôle dans la minéralisation : la sialophosphoprotéine dentinaire, la phosphoprotéine dentinaire matricielle 1 et la sialoprotéine osseuse.

Deux SIBLINGS (ostéopontine et la phosphoglycoprotéine extracellulaire matricielle) inhibent la minéralisation.

- **Autres**

Les autres protéines non collagéniques de la matrice dentinaire sont essentiellement 2 protéines riches en acide gamma carboxy glutamique (gla protéine) :

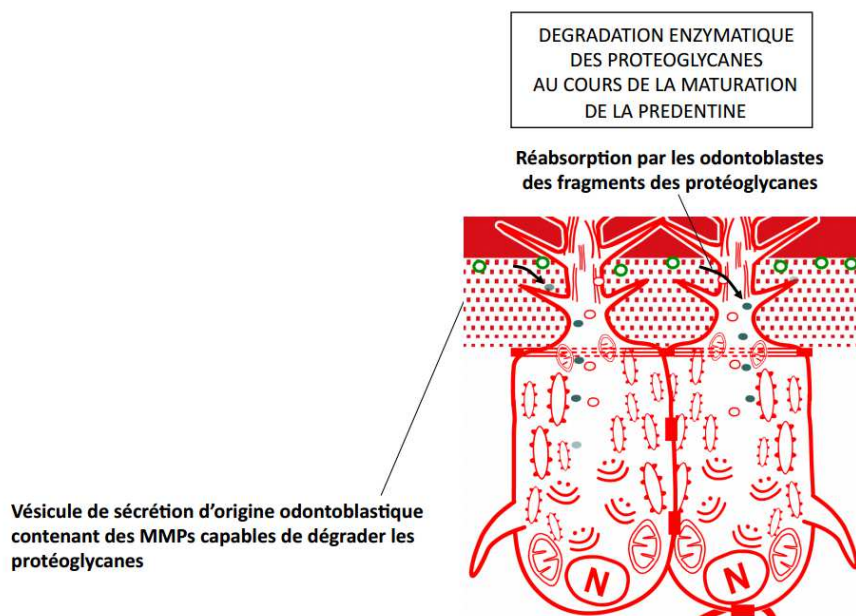
- **Ostéocalcine** : 85% des protéines-Gla
- **La protéine-Gla matricielle** : 15% restants

Ces deux protéines régulent négativement la minéralisation en inhibant la formation de l'hydroxyapatite. On trouvera aussi diverses glycoprotéines acides : l'ostéonectine, la thrombospondine et la glycoprotéine acide osseuse BAG-75.

## Les protéoglycanes

Ils sont peu abondants et représentent moins de 5% des protéines non collagéniques de la matrice dentinaire. Ce sont surtout des protéoglycanes portant des chaînes de chondroïtine-4 sulfate. Lors de la maturation de la pré dentine, la plupart des protéoglycanes sont dégradés à proximité du front de minéralisation principalement par des métallo protéinases (MMP3). Environ 40% des protéoglycanes vont ainsi disparaître de la pré dentine lors de la maturation.

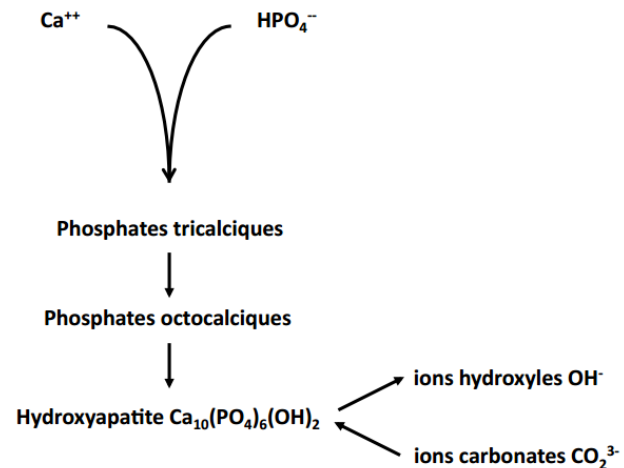
La MMP3 qui est sécrétée par les odontoblastes intervient dans cette disparition en dégradant les chaînes de chondroïtine-4-sulfate. La structure de ces protéoglycanes comprend de nombreux groupes sulfates et carboxyle qui leur permet de se fixer au calcium et à le rendre indisponible pour la minéralisation. Les protéoglycane fixent aussi la minéralisation en inhibant la fibrigénèse du collagène. Leur destruction progressive permet la croissance du diamètre des fibres de collagène en partant du corps cellulaire jusqu'au front de minéralisation.



## Minéralisation de la matrice dentinaire

La dentine adulte minéralisée contient en poids à peu près 70% de minéral. Ce minéral est une hydroxyapatite carbonatée.

Les cristaux d'hydroxyapatites (calcium + phosphate) ne sont pas formés directement mais en passant par des intermédiaires demandant moins d'énergie chimique. Ces cristaux d'hydroxyapatites peuvent héberger des ions carbonates (hydroxyapatite carbonatée), mais aussi des ions fluor.

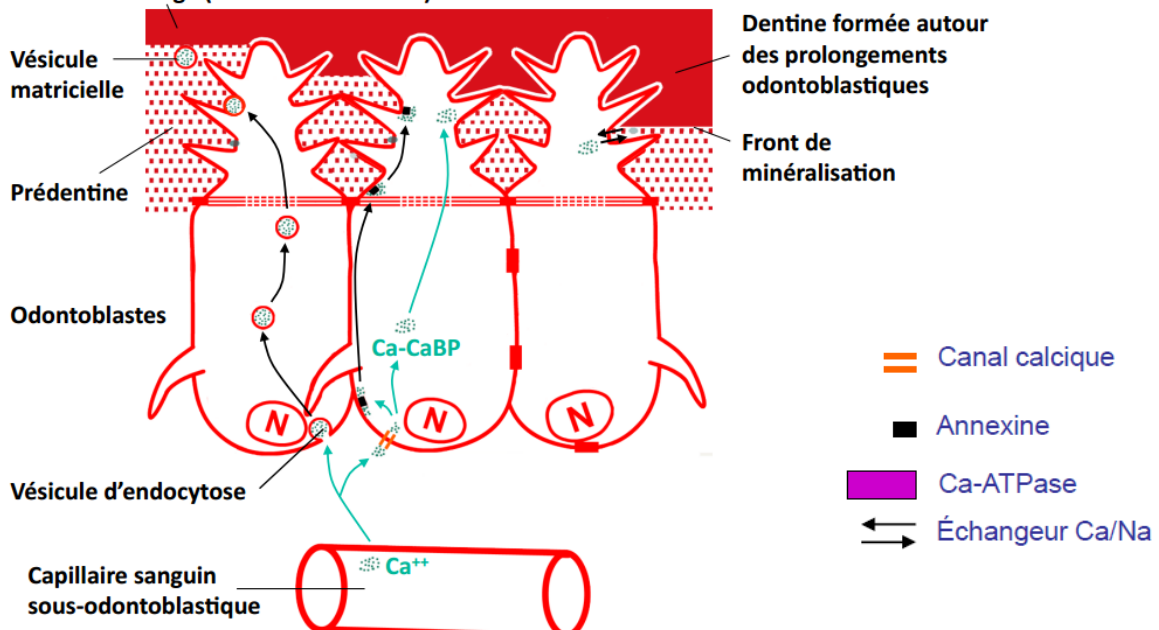


Pour qu'il y ait minéralisation, il faut la présence de calcium au niveau de la pré dentine. Une quantité importante de calcium est transportée à travers la couche odontoblastique depuis les capillaires sous odontoblastiques jusqu'à la pré dentine. Les odontoblastes sont reliés par des jonctions serrées peu perméables au calcium, donc la majeure partie du calcium transite par le cytoplasme odontoblastique. Ce transport actif par la cellule présente l'avantage d'un meilleur contrôle de la quantité de calcium qui arrive dans la pré-dentine ce qui favorisera l'association correcte des ions calcium et phosphates.

Le calcium doit être transporté dans la cellule sans qu'il y ait augmentation de la concentration de calcium libre intra cytoplasmique sinon on aurait une modification des fonctions cellulaires essentielles. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour l'entrée du calcium au niveau de pôle basal de l'odontoblaste (cf schéma).

- ⇒ Il pourrait entrer par l'intermédiaire de **vésicules d'endocytose** capables de se déplacer jusqu'au pôle apical (odontoblaste de gauche)
- ⇒ La deuxième voie est l'utilisation de **canaux calciques** localisés dans la membrane cellulaire de l'odontoblaste. Dans ce cas là, le calcium une fois rentré dans la cellule aurait deux possibilités de déplacement :
  - Soit il se lie à des protéines de liaison du calcium, **calcium binding protein**
  - Soit ils se lient à des protéines acides de la membrane cellulaire appelées **annexines**. Elles sont connues pour se lier fortement au calcium et sont capables de se déplacer le long du feuillet interne de la membrane plasmique. La sortie du calcium se ferait différemment selon l'endroit de la minéralisation de la pré-dentine.

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

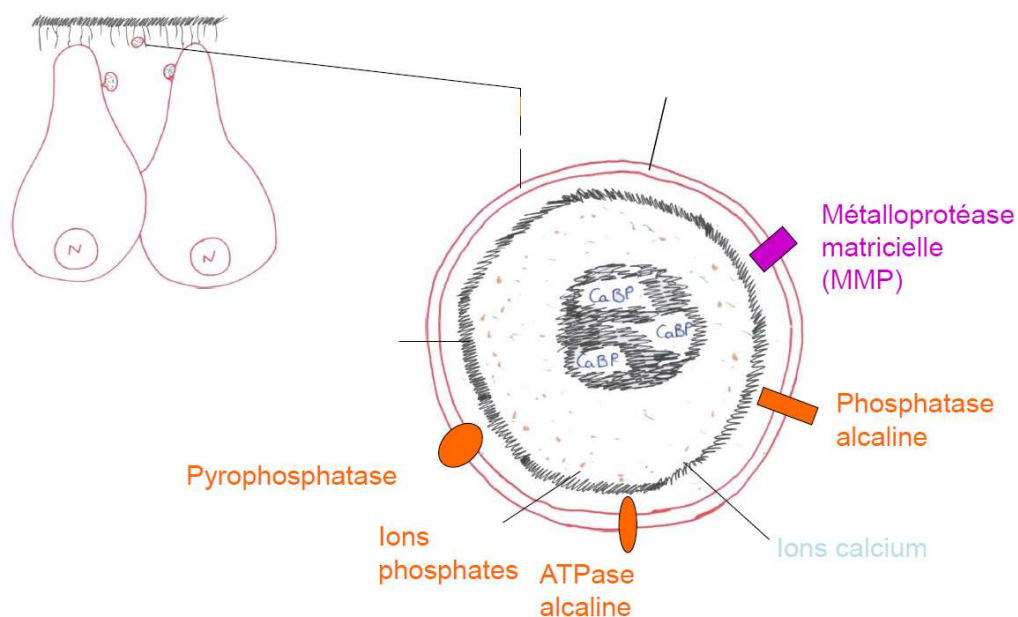


**Minéralisation entre les fibres d'ancrage :** le calcium stocké dans des vésicules qui bourgeonnent (matricielles) pourrait directement être sécrété. C'est à l'intérieur de ces vésicules qu'a lieu la formation des cristaux d'hydroxyapatite (rupture de la paroi et minéralisation qui s'étend aux fibres de collagène avoisinante)

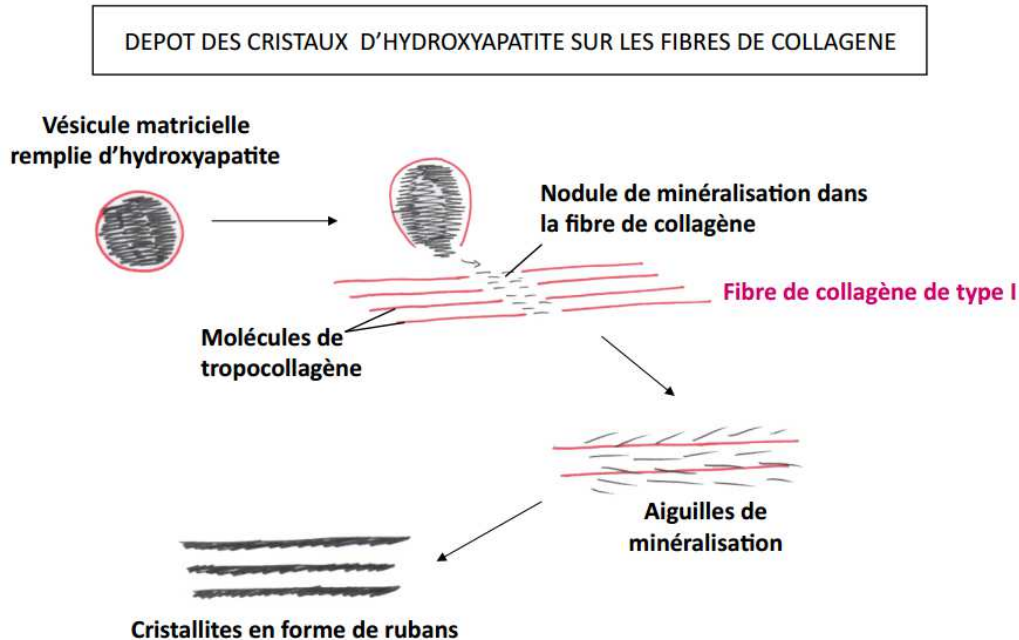
**Minéralisation au contact des prolongements odontoblastiques :** plus de vésicule matricielle, le calcium sort directement de la cellule dans la matrice pré-dentinaire. Dans ce cas là, le calcium doit sortir par l'intermédiaire de protéines transmembranaires, canaux calciums ATP-ase ou échangeurs sodium/calcium. Ces systèmes ont été localisés dans la membrane odontoblastique à proximité du front de minéralisation.

Les vésicules matricielles se trouvent aussi au niveau du tissu osseux. Lorsqu'on a formation de ces vésicules, on a accumulation de calcium et de phosphate à l'intérieur de la vésicule matricielle. Elles ont un diamètre d'environ 200 nm. Leur membrane contient de nombreuses enzymes (cf schéma) et possède deux feuillettes. Les **métalloprotéinases** (MMP2, 3, 9 et 13) vont avoir comme action la dégradation partielle ou totale des glycoprotéines ou protéoglycanes présents dans la matrice dentinaire. Cela permettra de créer un environnement favorable à la minéralisation. On trouvera aussi des **phosphatase alcalines** (libération de phosphates des phosphoprotéines), **ATP-ases alcalines** (hydrolysatation de l'ATP) et **pyro phosphatase** (augmentation de quantité de phosphatases libres).

Les vésicules matricielles concentrent une partie importante du calcium, il se forme donc des cristaux d'hydroxyapatite à l'intérieur de la vésicule matricielle. Les premiers cristaux à apparaître le font au niveau du feuillet interne de la paroi des vésicules en relation avec les phospholipides membranaires puis ils apparaîtront au centre de la vésicule en relation avec les kind binding protéines qui libèrent le calcium. L'accumulation de cristaux assure le remplissage de la vésicule après sa rupture.

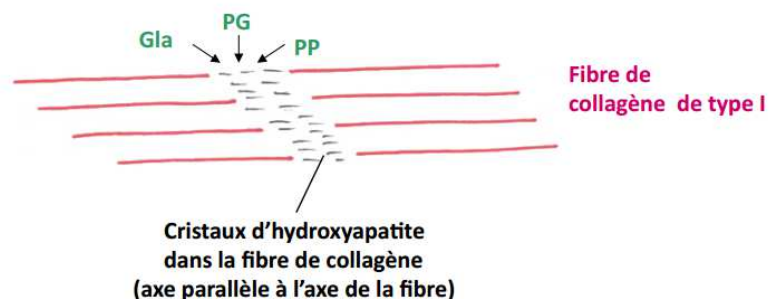


Lorsque la vésicule est pleine, le minéral perce la membrane et va se déposer à l'intérieur des fibres de collagène pour former des nodules à partir desquelles la minéralisation se propage. La coalescence des nodules donne des cristallites en forme d'aiguille qui fusionnent eux mêmes latéralement pour former des cristallites plus larges en forme de ruban.



Au niveau des prolongements odontoblastiques, la minéralisation a lieu directement dans la matrice car il n'y a pas de vésicule matricielle dans la pré dentine à ce niveau. Les cristaux se forment directement à l'intérieur des fibres de collagène de type I de manière à ce que leur axe longitudinal soit parallèle avec l'axe longitudinal de la fibre de collagène. On retrouvera à ce niveau dans les zones creuses des fibres de collagène les gla protéine, des protéoglycanes et des phosphoprotéines qui vont réguler la croissance de ces cristaux.

*Minéralisation de la pré dentine déposée autour des prolongements odontoblastiques*



PP : phosphoprotéine  
 Gla : protéine-Gla  
 PG : protéoglycane



La dentine n'est pas un tissu homogène percé de tubules. On retrouvera des zones dans la dentine où la minéralisation est un peu imparfaite et on voit que cette minéralisation est liée à la fusion de **calcosphérites**.

Ces calcosphérites sont des structures globulaires très grosses qui vont être traversées par les tubules. Elles sont d'habitude parfaitement fusionnées mais elles peuvent ne pas l'être et on aura un espace ; c'est comme ça qu'on a pu les observer.

