

# Ultrastructure des microcalcifications du mésenchyme pulpaire des dents temporaires humaines

ARYS, A., PHILIPPART, C., DOUROV, N.

*Laboratoire d'Anatomie-Pathologique et de Microscopie Electronique. Faculté de Médecine.  
Université Libre de Bruxelles. 808 route de Lennick, Bât. C. 1070 Bruxelles (Belgique)*

## RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail est de corréler les observations au microscope électronique à balayage et en micro-radiographie, des micro-calcifications du mésenchyme pulpaire des molaires temporaires.

Les résultats montrent que la pulpe contient de nombreuses calcifications sphériques ou ovalaires correspondant à la définition des pulpolithes.

Un deuxième type de minéralisation a été trouvé sous la forme de dépôts diffus de sels de calcium. La coalescence des calcifications diffuses aboutit à la formation de plages plus larges de tissu minéralisé.

Un troisième type de calcification est constitué de cristaux rhombes organisés sous la forme de sphérulites. Ce type de concrétions dont l'origine est inconnue ne paraît pas avoir été observée précédemment au microscope électronique à balayage.

Ces résultats préliminaires montrent que les calcifications apparaissent sous des formes variées suggérant que des mécanismes très différents gouvernent la promotion des dépôts de sels de calcium dans le mésenchyme pulpaire des molaires temporaires.

## MOTS-CLES:

Calcifications, Pulpe, Dents temporaires, Ultrastructure

## SUMMARY

Scanning electron microscopic observations of pulp calcifications in deciduous molars were correlated with microradiographic findings.

Numerous spherical calcifications were found in appearance similar to those in the permanent dentition.

In a second type, mineralization took the form of diffuse deposits of calcium.

The discrete diffuse foci coalesced into large islands of mineralized connective tissue.

A third type of calcification was observed in which rhombic crystals were associated in a spherulitic pattern.

The exact cause of the crystal formation is unknown. Moreover, as we are aware, the spherulitic calcifications have never been previously reported in this location.

The preliminary results indicated that mineralization in the pulp of deciduous molars, takes a variety of forms, suggesting that calcium deposition can occur by different processes.

## KEY WORDS:

Pulp calcifications - deciduous teeth - ultrastructure

## INTRODUCTION

De nombreuses observations font apparaître la grande fréquence des calcifications intrapulpaires chez des sujets de plus de 10 ans (Hill, 1934; James, 1957; Orban, 1986).

Toutefois, la majorité des études chez des sujets jeunes portent sur des dents définitives extraites pour des raisons orthodontiques (Moss-Salentijn et Hendricks-Klyvert, 1983).

Des dépôts calcifiés ont été signalés dans la pulpe des dents de lait notamment à la fin de la phase de résorption physiologique des racines (Zerosi, 1961; Fortier et Demars, 1983; Nitzan et coll. 1986). Les changements dégénératifs du tissu pulpaire ainsi que des interactions inductives concernant la dentinogénèse proprement dite seraient impliqués dans leur formation.

Cependant, la littérature ne fournit que peu d'informations concernant l'histologie et l'ultrastructure des calcifications intrapulpaires des dents temporaires.

L'objectif du présent rapport est d'investiguer l'ultrastructure des calcifications rencontrées dans le mésenchyme pulpaire des molaires temporaires.

## MATERIEL ET METHODES

### Microscopie électronique à balayage

16 molaires temporaires fraîchement extraites, ont été fixées dans la glutaraldéhyde 2,5%, pendant 12 heures puis conservées dans un tampon glucosé 0,2M (pH=7,2) à 4°C.

5 autres molaires fixées dans le formol 10% ont été sectionnées en deux parties afin d'effectuer sur une moitié de dent, des coupes par usure sans décalcification préalable.

Nous avons pratiqué la section circonférentielle de la couronne dentaire au disque diamanté sous irrigation constante. Un découpage ultérieur s'est avéré nécessaire en fonction des surfaces intra-pulpaires que nous voulions examiner.

Le mésenchyme a été éliminé par dissection et une dizaine de fragments ont été conservés intacts pour les investigations portant sur le tissu pulpaire. La digestion des matières organiques résiduelles à la surface dentinaire est effectué par passages répétés dans des solutions d'hypochlorite de sodium à 2%.

Après déshydratation dans des solutions d'alcool à concentrations croissantes, une déshydratation finale est effectuée au point critique.

Les pièces sont ensuite collées sur un porte objet métallique à l'aide d'un ruban adhésif type scotch tape en métal. Une couche d'or d'une épaisseur de 10 à 40 nm est déposée sous vide sur toute la surface.

L'examen est réalisé au microscope électronique à balayage Jeol 50A opérant à 15 kV.

### Microradiographies

Les dents destinées à l'étude microradiographique n'ayant pas subi de décalcification préalable sont conservées dans du formol à 10%.

Elles sont déshydratées à l'aide de méthanol absolu, dégraissées au chloroforme et éclaircies dans le toluol.

Les hémisections des dents sont ensuite enrobées au méthacrylate de méthyle selon la méthode utilisée par Vincent (1955) et débitées en coupes de 120 micromètres d'épaisseur à l'aide d'une tronçonneuse automatique (type 32, Safag, Bienne, Suisse) équipée d'un disque diamanté. Elles sont réduites à une épaisseur uniforme de 80 micromètres par usure entre deux plaques de verre dépoli constamment humectées de méthanol.

Une microradiographie est obtenue pour chaque coupe en la plaçant au contact d'une émulsion à grains fins (Kodak Spectroscopic plates 649.0) soumise pendant 15 minutes à un rayonnement X mou à la distance focale de 61 mm. Les rayons X sont produits par un tube Machlett à anode de tungstène et à fenêtre de béryllium de 1 mm d'épaisseur. Le générateur de type Baltographe BF 50/20 (Balteau, Liège, Belgique) opère à 13 kV et 18 mA.

Le développement se déroule pendant 4 minutes à 20° C, dans du métinol (Agfa-Gevaert, Belgique). Les émulsions sont ensuite fixées, rincées à l'eau courante et séchées pour être montées comme des préparations histologiques ordinaires.

La coupe par usure non décalcifiée est finalement récupérée pour être colorée par le bleu de méthylène selon la technique décrite par Dhem (1967).

## RESULTATS

Les microradiographies (Figs. 1 et 2) révèlent que la pulpe contient de nombreux dépôts calcifiés sphériques disposés librement dans le mésenchyme ou en contact avec les parois dentinaires.

L'examen au microscope électronique à balayage, montre que la pulpe des molaires temporaires peut contenir de nombreuses masses calcifiées sphériques ou ovalaires (Fig. 3).

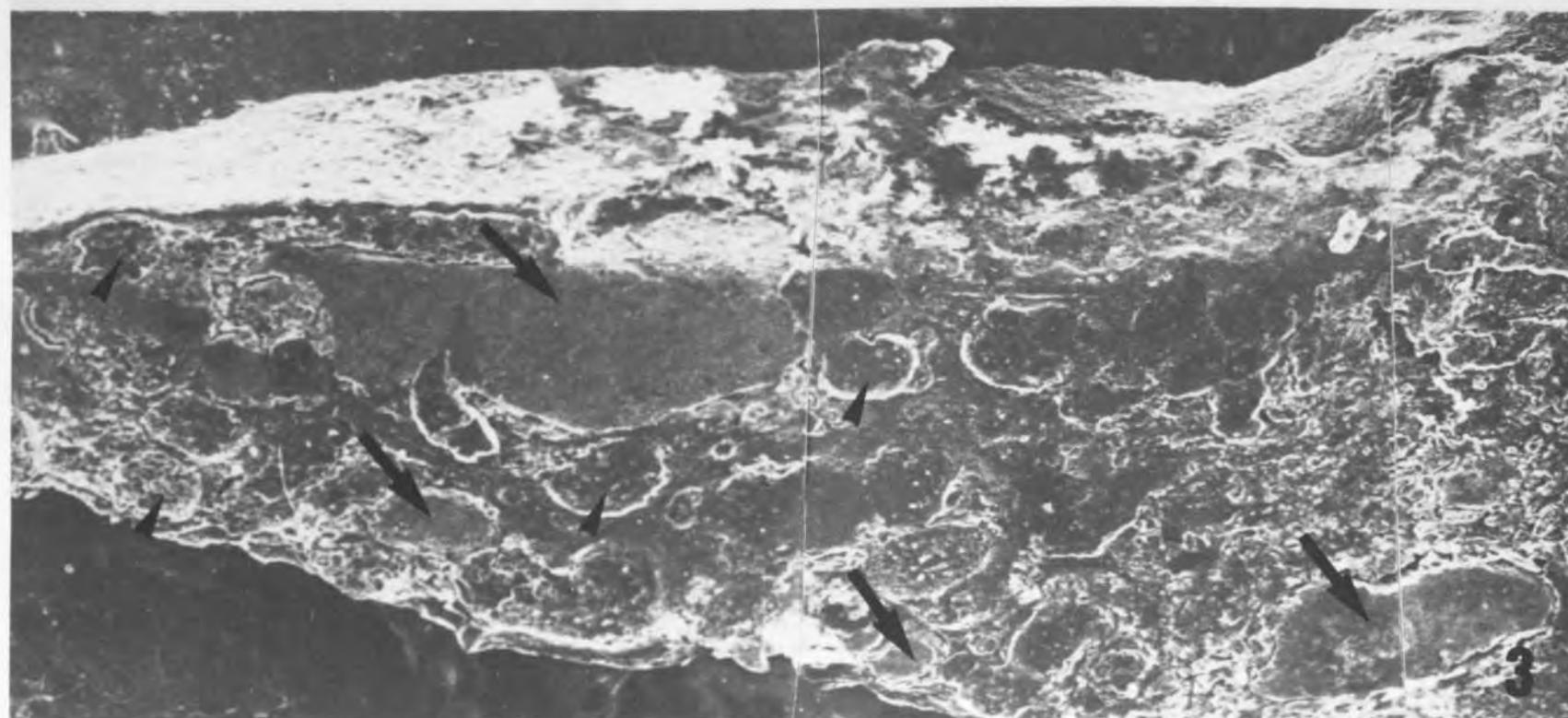
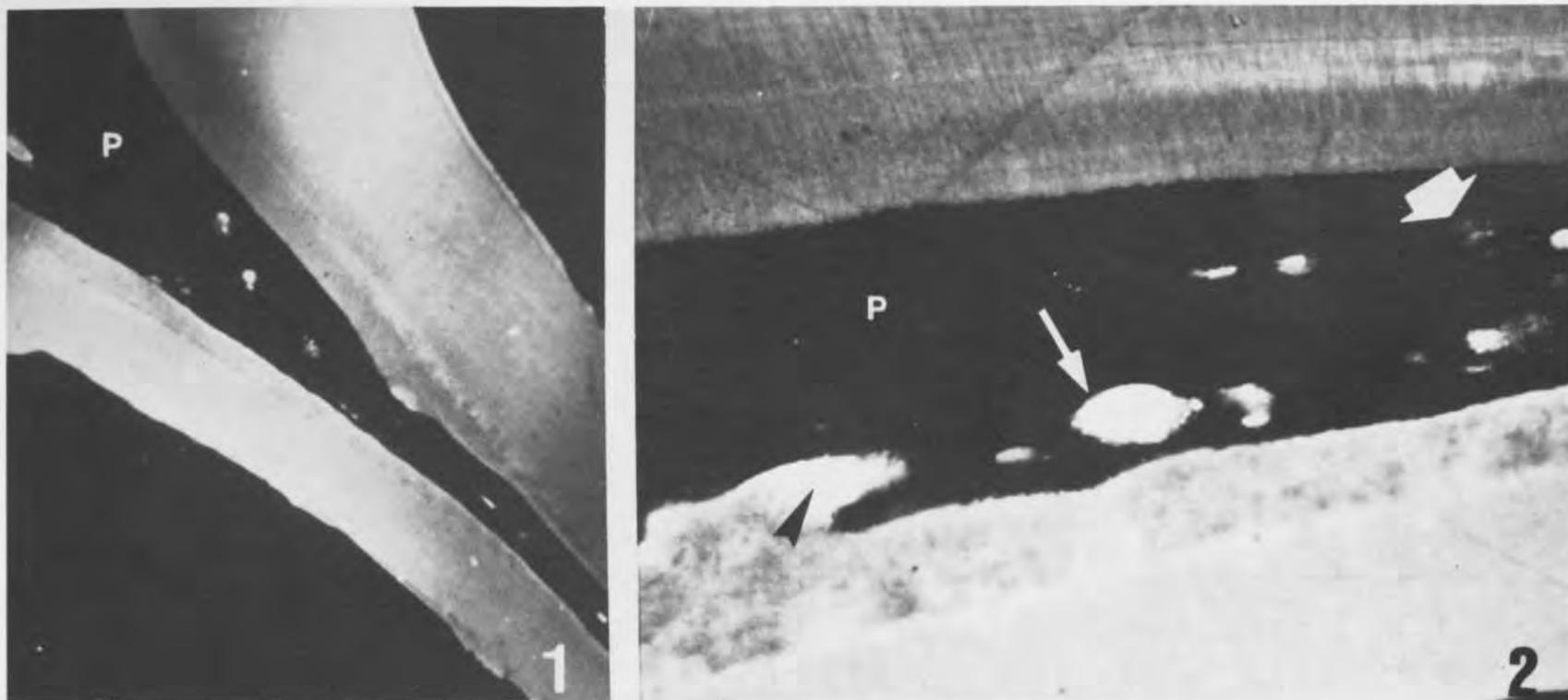


Fig. 1: Foyers de microcalcifications dans un canal radiculaire sous l'aspect de fines granulations ou de concrétions denses. P = pulpe. Microradiographie,  $\times 12$ .

Fig. 1: Discrete foci of mineralization and larger spherical deposits found in the root canal of a deciduous molar. P = Pulp. Microradiography,  $\times 12$ .

Fig. 2: Canal radiculaire d'une seconde molaire temporaire inférieure largement cariée montrant des pulpolithes (flèche), des calcifications diffuses (flèche grasse) et des calcifications incorporées (tête de flèche). P = pulpe. Microradiographie,  $\times 64$ .

Fig. 2: Radicular part of a decayed second lower molar, showing pulp stones (arrow), diffuse mineralized deposits (bold arrow) and embedded calcifications (arrowhead). P = pulp. Microradiography,  $\times 64$ .

Fig. 3: Observée au microscope électronique à balayage, la pulpe radiculaire contient un grand nombre de concrétions calcifiées sphériques (flèches) ainsi que de nombreux vaisseaux sanguins (têtes de flèches) remplis d'hématies. M.E.B.,  $\times 50$ .

Fig. 3: In the SEM, the radicular part of extirpated pulp shows numerous spherical mineralized deposits (arrows) as well as numerous blood vessels (arrowheads) filled with red cells. (Magnification  $\times 50$ ).

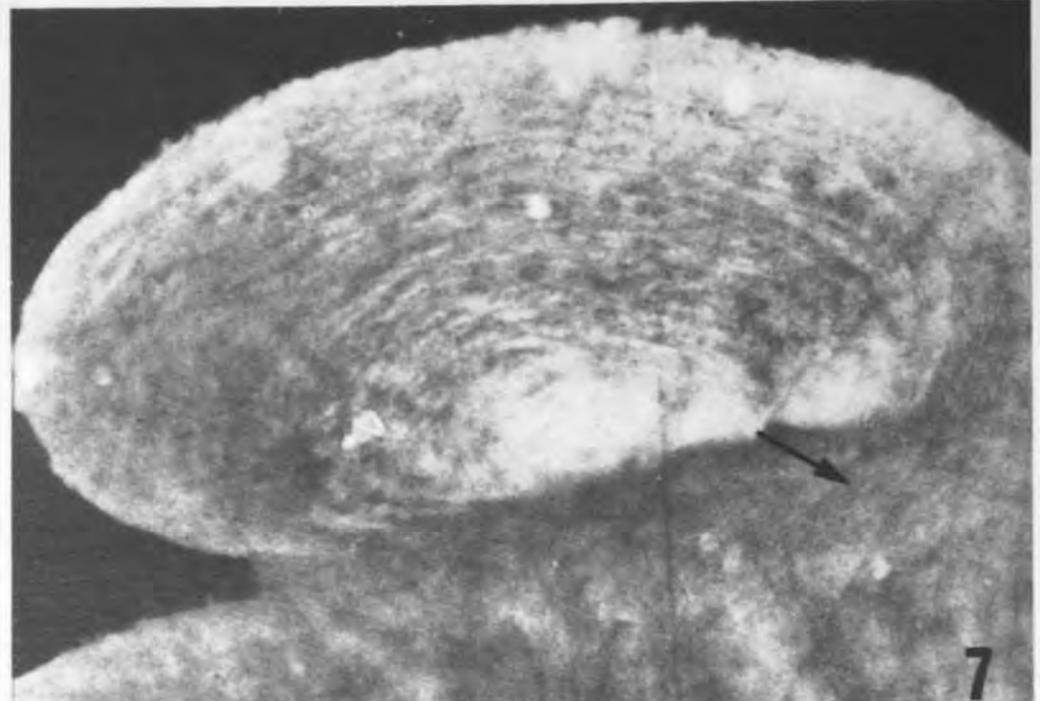
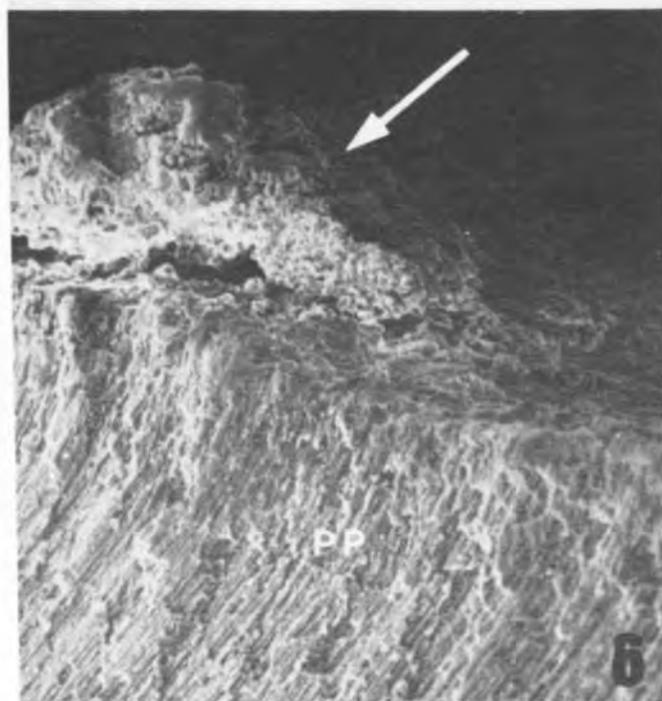
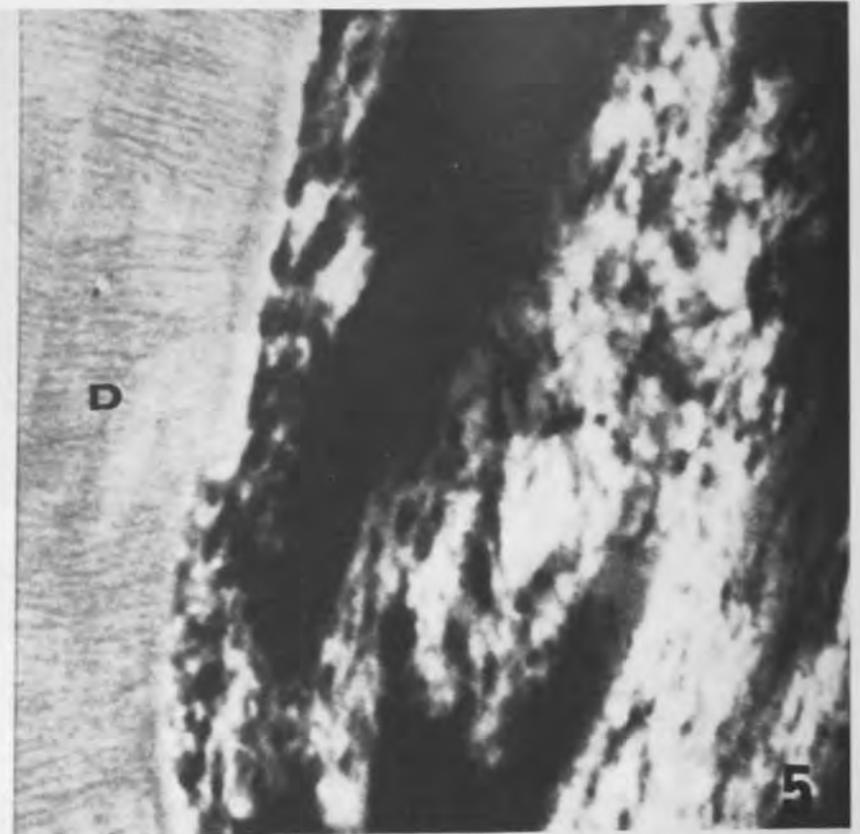


Fig. 4: Microcalcifications diffuses dans un canal radiculaire de molaire temporaire. Les dépôts de sels calcaires (flèches) sont disposés parallèlement à l'axe des fibres de collagène. Des plages de calcifications diffuses (flèche ouverte) dont le grand axe suit l'orientation du canal radiculaire, présentent un contour déchiqueté et comportent de multiples microlacunes. M.E.B.,  $\times 62$ .

Fig. 4: Diffuse mineralized deposits in the root canal of a deciduous molar. The deposits lie parallel to the collagen fibers. Dystrophic areas of mineralized connective tissue (empty arrow) follow the same axis and nating a microlacunar pattern. (Magnification  $\times 62$ ).

Fig. 5: Microradiographie d'une plage de calcification diffuse aux contours irréguliers et de structure micro-lacunaire. D = dentine.  $\times 170$ .

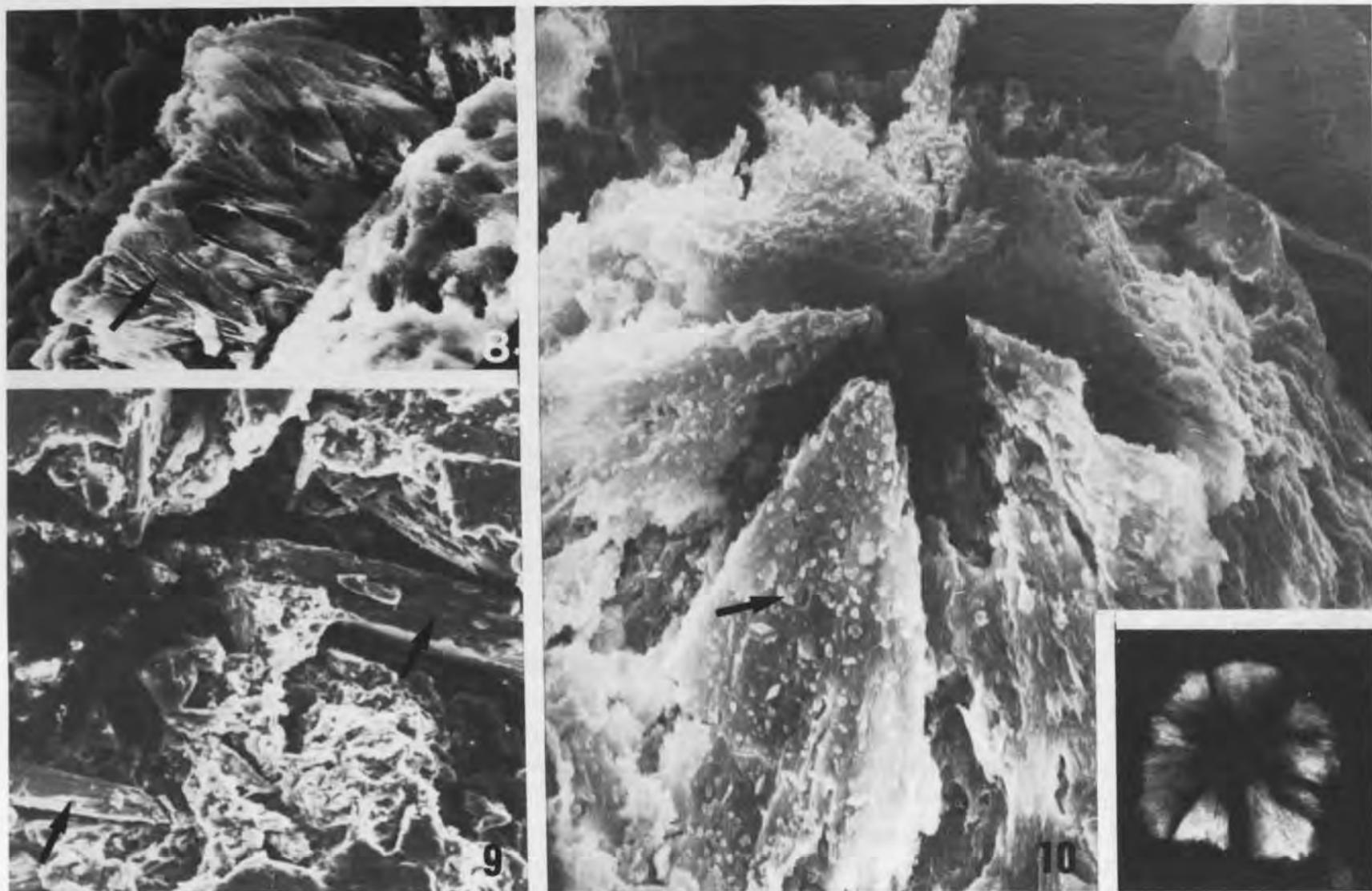
Fig. 5: Microradiograph of dystrophic mineralized connective tissue exhibiting a microlacunar pattern. D = dentin. (Magnification  $\times 170$ ).

Fig. 6: Calcification partiellement incorporée (flèche) au niveau du plancher pulpaire (PP), observée au microscope électronique à balayage ( $\times 75$ ).

Fig. 6.: Partially embedded pulp stone (arrow) observed in the pulpal floor. SEM,  $\times 75$ .

Fig. 7: Calcification incorporée de forme ovale et de configuration en strates concentriques. Notez la déviation des canalicules dentinaires (flèche) latéralement à la base de la concrétion. Microradiographie,  $\times 68$ .

Fig. 7: Spherical embedded calcification showing concentric mineralized layers. The dental tubules are redirected along the base of the pulp stone. Microradiography,  $\times 68$ .



Les canaux radiculaires peuvent être quasiment obli-  
térés par des dépôts de calcifications diffuses micros-  
copiques, disposées suivant l'axe des fibres de colla-  
gène pulpaire (Figs. 4 et 5). Par coalescence de ces  
fins granules calcifiés, la minéralisation diffuse prend  
l'aspect d'une plage étendue à contours irréguliers  
(Fig. 5).

Sur le plancher de la chambre pulpaire, des calcifica-  
tions sphériques en voie d'incorporation dans la den-  
tine secondaire sont visibles (Fig. 6). Celles-ci ne con-  
tiennent pas de canalicules dentinaires. Une nette  
déflexion dans l'orientation des canalicules de  
Tomes est observable (Fig. 7).

Il est possible d'observer sur les parois dentinaires  
examinées en microscope électronique à balayage et  
sur les microradiographies, des structures calcifiées  
d'allure cristalline (Fig. 8). Ces calcifications sont  
formées de cristaux rhombes également identifiables  
dans la pulpe (Fig. 9). Plus fréquemment, les cristaux  
rhombes sont disposés radiairement en convergence  
vers un centre lacunaire suivant une configuration  
connue par les minéralogistes sous le nom de sphéru-  
lite (Fig. 10).

De fins cristallites polyédriques, pouvant atteindre  
une longueur de 2 microns sont détectés à la surface  
des cristaux rhombes (Fig. 10).

Fig. 8: Cristaux allongés de petite taille, disposés en gerbes (flèche) et accolés à la paroi dentinaire dont les orifices de Tomes sont visibles dans la partie droite de la figure. M.E.B.,  $\times 1600$ .

Fig. 8: Deposition of small mineralized crystals (arrow) found on the dentinal wall. Dentinal tubules are detectable in the right side of the figure. SEM,  $\times 1600$ .

Fig. 9: Cristaux rhombes (flèches) observés au microscope électronique à balayage dans la pulpe d'une molaire temporaire ( $\times 250$ ).

Fig. 9: Rhombic crystals (arrows) observed by the SEM in the pulp of a deciduous molar. (Magnification  $\times 250$ ).

Fig. 10: Calcification sphérulitique constituée de cristaux rhombes convergeant vers une lacune centrale et recouvert de multiples cristallites polyédriques (flèche). M.E.B.,  $\times 500$ .

En encart, microradiographie d'un sphérule appartenant à la même dent, illustrant la disposition radiale des cristaux rhombes finement striés et séparés par du tissu conjonctif ( $\times 170$ ).

Fig. 10: Rhombic crystals converging towards an empty central space form the spherulitic calcifications. The crystals display a beaded surface structure (arrow). SEM,  $\times 500$ .

In insert, microradiograph of a spherulite found in the same tooth showing the radial organization of the crystals and interspersed layers of connective tissue. (Magnification  $\times 170$ ).

## DISCUSSION

La pulpe des molaires temporaires contient fréquemment des quantités parfois considérables de matériel calcifié (Arys et Dourov, 1986). Nous avons observés que la taille des calcifications varie de quelques micromètres à plusieurs millimètres.

Les micro-calcifications diffuses se présentent comme des dépôts de calcium irréguliers disposés linéairement le long des fibres de collagène ou des vaisseaux sanguins de la pulpe radiculaire. La minéralisation diffuse peut également entreprendre des plages étendues du mésenchyme.

Les calcifications sphériques ou ovalaires correspondent à la définition usuelle des pulpolithes (Orban, 1986). Etant donné que nous n'avons pas objectivé la présence de canalicules dentinaires nous ne pouvons pas faire de distinction entre les soit-disant « vrais » et « faux » denticules. Cette différenciation est actuellement toujours matière à débat (Johnson et Bevelander, 1956; Langeland, 1957; Moss-Salentiijn et Hendricks-Klyvert, 1983; Yacoob et Hamid, 1986).

Pour distinguer les concrétions sphériques en contact avec les parois dentinaires, il est convenu de parler de pulpolithes adhérents ou englobés (Moss-Salentiijn et Hendricks-Klyvert, 1985; Ten Cate, 1985; Orban, 1986). Il est possible que le contact d'un pulpolithe initialement libre dans la pulpe puisse provoquer une induction de l'activité des odontoblastes (Pindborg, 1970). Les quantités plus importantes de dentine secondaire observées de part et d'autre des foyers minéralisés et la déviation notable du trajet des canalicules de Tomes, suggèrent en effet, que la dentinogénèse s'accélère dès que les odontoblastes entrent en contact avec un pulpolithe.

Les cristaux rhombes observés au microscope électronique à balayage ont une apparence similaire aux « fibres calcifiées » décrites par Seltzer et coll. (1977). L'organisation la plus structurée de ces cristaux consiste en la formation de masses calcifiées sphérulitiques paraissant inédites à ce jour, et qui se distinguent nettement des autres types de calcifications intrapulpaire.

Des structures calcifiées ressemblant à de la dentine et des dépôts cristallins sphérulitiques ont été précédemment rapportés lors de l'observation des pulpolithes de dents d'adulte au microscope électronique à balayage (de Rysky et coll., 1981).

L'étude ultrastructurale des microcalcifications du mésenchyme pulpaire des molaires temporaires suggère que divers processus de minéralisation peuvent coexister.

L'incorporation des pulpolithes dans les parois dentinaires résulte de l'activation du processus normal de la dentinogénèse.

Des changements dégénératifs du tissu pulpaire, comme l'augmentation numérique et volumétrique des fibres de collagène (Tronstad et Langeland, 1971; Seltzer et Bender, 1984), provoquent l'attraction des sels minéraux et les dépôts de calcifications diffuses. Nous pensons en accord avec Seltzer et coll. (1977), que la coalescence des fibres minéralisées aboutit à la formation de plages plus étendues de mésenchyme calcifié.

La présence de calcifications sphérulitiques contenant des cristaux rhombes séparés par du tissu conjonctif non minéralisé suggère l'existence d'un troisième mode de minéralisation qu'il serait à rapprocher des observations de Seltzer et coll. (1977) dans la pulpe radiculaire des dents d'adulte.

Les conditions physico-chimiques exactes qui gouvernent la formation des calcifications ne sont pas connues avec précision. L'interprétation éventuelle de la composition réelle de la phase minérale des micro-calcifications intrapulpaire donnerait des renseignements précieux sur la composition du milieu supportant les premiers dépôts de sels minéraux in vivo et sur le processus de la minéralisation proprement dit.

Ces résultats représentent donc les préliminaires d'une étude multidisciplinaire des calcifications intrapulpaire ayant recours à un grand nombre de méthodes convergentes d'observation et d'analyse des tissus calcifiés.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Messieurs les Professeurs A. Dhem (Département d'Anatomie, UCL) et J. Homes (Laboratoire de Morphologie Végétale, ULB) pour avoir été cordialement accueillis dans leurs laboratoires.

## BIBLIOGRAPHIE

- Arys, A., Dourov, N. — Les calcifications intrapulpaire et le front dentinaire minéralisé des dents de lait: corrélation entre la microscopie électronique à balayage et la microradiographie. *Bull. Group. Int. Rech. Sc. Stomat. et Odont.*, 29: 57, 1986.
- De Rysky, S., Mongiorni, R., Menghini, C., Piacentini, C., Sapelli, P.L., Foresti, E. — Etude cristallographique et ultramicroscopique (SEM) des calcifications pulpaire. Résultats préliminaires. *Bull. Group. Int. Rech. Sc. Stomat. et Odont.*, 24: 89-102, 1981.
- Dhem, A. — Le remaniement de l'os adulte. Thèse Université de Louvain. Arcia. Maloine, 1967.

**Fortier, J.P., Demars, C.** — Abrégé de pédodontie. Paris. Masson Ed, 1983.

**Hill, T.J.** — Pathology of the dental pulp. *J. Amer. Dent. Ass.*, 21: 820-844, 1934.

**James, V.E.** — Early pulpal calcifications of permanent teeth of young individuals. *J. Dent. Res.*, 37, 973, 1958.

**Johnson, P.L., Belevander, G.** — Histogenesis and histochemistry of pulpal calcification. *J. Dent. Res.*, 35: 714-722, 1956.

**Langeland, L.** — Tissue changes in the dental pulp. An experimental histological study. *Odontol. Tijdskr.*, 65: 239-386, 1957.

**Moss-Salentijn, L., Hendricks-Klyvert, M.** — Epithelially Induced Denticles in the Pulp of Recently Erupted, Noncarious Human Premolars. *J. Endodont.*, 9: 554-560, 1983.

**Moss-Salentijn, L., Hendricks-Klyvert, M.** — Dental and Oral Tissues. Philadelphia. Lea and Febiger Ed, 1985.

**Nitzan, D.W., Michaeli, Y, Y., Weinreb, M., Azaz, B.** — The effect of aging on tooth morphology: a study on impacted teeth. *Oral Surg.*, 61: 54-60, 1986.

**Orban, B.** — Oral Histology and Embryology. St Louis. The CV Mosby Co. Ed, 1986.

**Pindborg, J.J.** — Pathology of Dental Hard Tissues. Copenhagen. Munksgaard, 1970.

**Seltzer, S., Rainey, E, Gluskin, A.H.** — Correlation of scanning electron microscope and light microscope findings in uninfamed and pathologically involved human pulps. *Oral Surg.*, 43, 910-928, 1977.

**Seltzer, S, Bender, I.B.** — The Dental Pulp: Biologic Considerations in Dental Procedures. Philadelphia. J.B. Lippincott Co Ed., 1984.

**Ten Cate, A.R.** — Oral Histology: Development, Structure and Function. St Louis. CV Mosby Co. Ed, 1985.

**Tronstad, L., Langeland, K.** — Effect of attrition on subjacent dentin and pulp. *J. Dent. Res.*, 50: 17-30, 1971.

**Vincent, J.** — Recherches sur la constitution de l'os adulte. Thèse Université Catholique de Louvain. Arscia, Bruxelles. 1955.

**Yaacob, H.B., Hamid, J.A.B.** — Pulpal calcifications in primary teeth: A light microscope study. *J. Pedodont.*, 10, 254-264, 1986.

**Zerosi, C.** — La biologie de la pulpe dans les processus de résorption des dents temporaires. *Bull. Group. Int. Rech. Sc. Stomat.*, 1: 61-96, 1961.

**Adresse des auteurs:** Dr. A. Arys, Laboratoire d'Anatomie Pathologique et de Microscopie Electronique. 808, route de Len-  
nick, Bât. C; 1070 Bruxelles, Belgique.