

# Régénération tissulaire guidée: observation ultrastructurale au microscope électronique à transmission et au microscope électronique à balayage

V. CATTANEO, C. PIACENTINI, F. VEZZONI, M. SILVESTRI, R. BORATTO, P. MENGHINI

## RÉSUMÉ

Les Auteurs ont effectué des recherches ultrastructurales au M.E.T. et au M.E.B. sur quelques membranes de PTFE employées pour guider la régénération tissulaire dans la correction de défauts osseux angulaires ou de la zone de la bifurcation radiculaire après traitement chirurgical.

Les observations au M.E.B. ont confirmé celles que d'autres auteurs ont effectuées en mettant en évidence, à la surface des membranes des corps cellulaires de fibroblastes adhérents aux structures réticulaires du PTFE, mélangés à des amas coagulés de matériel fibrineux et à des éléments figurés du sang.

En outre, la présence, dans les champs examinés, de corps bactériens à forme ronde et allongée, est constante, signe de contamination bactérienne.

Au M.E.T., ces observations ont trouvé une correspondance exacte et les techniques spécifiques ont permis de démontrer que les cellules fibroblastes présentes sont en phase active de synthèse de collagène. Ce dernier apparaît amassé en position extracellulaire, mélangé aux amas de fibrine.

De la même façon on a démontré la présence, aussi bien en position extra-cellulaire qu'à l'intérieur des macrophages, des corps bactériens ronds et allongés.

## MOTS-CLÉS:

Membrane PTFE - fibroblastes - macrophages - ultrastructure

## SUMMARY

PTFE membranes are used for guided tissue regeneration in order to treat angular bone defects or forca-tion involvements in surgical treatment.

Ultrastructural investigations have been performed by means of electron transmission and scanning microscopy. In agreement with previous reports, fibroblast cells adhering to the reticular structure of PTFE membrane were observed; these were interposed among coagulated clusters of fibrinous material and blood cells round shaped. Elongated bacterial cells were always present in the microscope fields analysed.

These observations were confirmed by means of transmission microscopy; moreover specific techniques enabled us to demonstrate that fibroblast cells were synthesizing collagene, which was present in the form of extracellular fibers mixed to fibrine clusters. Roundish and elongate bacterial cells were always observed both in the extracellular matrix and into macrophages.

## KEY WORDS:

Membranes PTFE - fibroblast - macrophages - ultrastructure

## INTRODUCTION

Le problème de guider la réparation tissulaire dans la guérison d'un lambeau parodontal est d'une grande actualité. En effet, si d'une part la migration apicale des cellules épithéliales peut produire ce que l'on appelle «l'attache épithéliale longue», d'autre part, une prolifération du conjonctif gengival détermine, en général, une réabsorption radiculaire ou la formation d'un tissu fibreux non orienté, alors qu'une prolifération de cellules osseuses produit une ankylose (Karring et coll., 1980; Nyman et coll., 1982). Du moment qu'aucune de ces éventualités n'apparaît optimale du point de vue physiologique, des études expérimentales chez l'homme et chez l'animal ont introduit des techniques chirurgicales particulières. Celles-ci, en utilisant l'interposition de membranes en PTFE (polytetrafluoroéthylène), permettent une régénération guidée d'un véritable ligament parodontal au moyen des fibroblastes du parodonte profond qui sont ainsi facilités dans leur migration. (Nyman et coll., 1982; Gottlow et coll., 1984; Isidor et coll., 1986; Nyman et coll., 1982; Pontoriero et coll., 1984; Gottlow et coll., 1986; Pontoriero et coll., 1988; Mat-tout et coll., 1990.

L'application de ces techniques opératoires donne des résultats cliniquement intéressants.

Etant donné que les données fournies par la littérature à ce propos sont nettement insuffisantes (Selvig et coll., 1990), parallèlement à l'emploi clinique de la membrane en PTFE, depuis deux ans, nous effectuons, dans le Laboratoire de Microscopie Electronique de notre Clinique, des analyses ultrastructurales ayant pour but de vérifier la nature des populations cellulaires présentes sur les membranes. Nous avons voulu en outre vérifier la présence effective d'une pollution bactérienne sur les membranes enlevées et à quelle phase du traitement chirurgical parodontal mis en œuvre, on peut attribuer cette pollution.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

On a examiné 15 membranes en PTFE utilisées dans le traitement chirurgical parodontal pour la correction de défauts osseux angulaires et de la bifurcation radiculaire selon la technique de la régénération parodontale guidée.

Après quatre semaines, les membranes ont été enlevées et on les a abondamment lavées dans une solution physiologique afin d'éliminer le plus possible le sang qui se trouve sur leur surface.

Chacune des membranes a été coupée en deux parties pour l'observation au M.E.B. et au M.E.T.

La fixation a eu lieu dans du glutaraldéhyde à 2% dans un tampon cacodylate.

La post-fixation s'est effectuée dans du tétroxyde d'osmium dans le même tampon et après la déshydratation dans l'échelle ascendante des alcools, les échantillons ont été préparés pour leur observation au M.E.T. et au M.E.B. selon les méthodes habituelles.

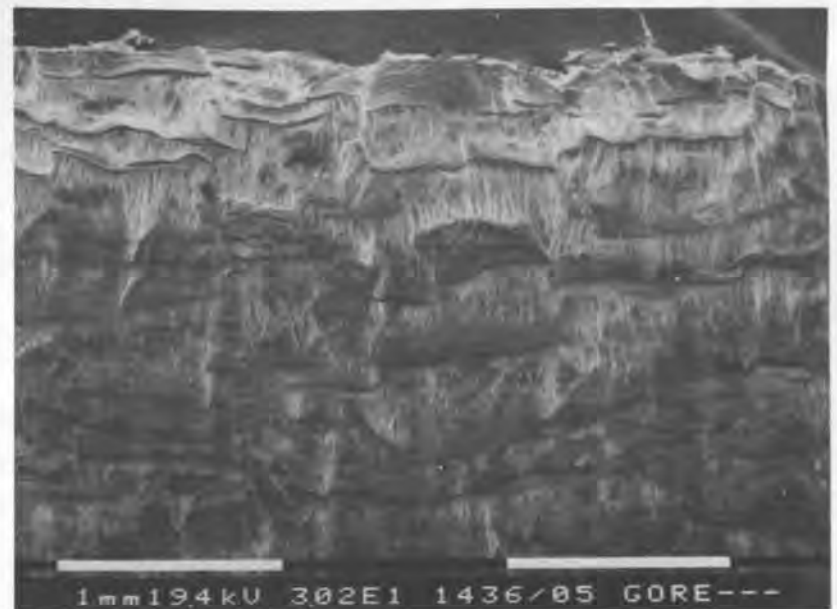


Fig. 1: Aspect ultrastructural de la surface d'une membrane en PTFE. On peut noter la cohésion des faisceaux fibrillaires qui constituent le tissu et la morphologie rugueuse du tissu lui-même. MEB 30X

Fig. 1: Ultrastructural view of a PTFE membrane surface. The compactness of fibrillar bundles forming the tissue and its rough morphology are evident. SEM 30X.

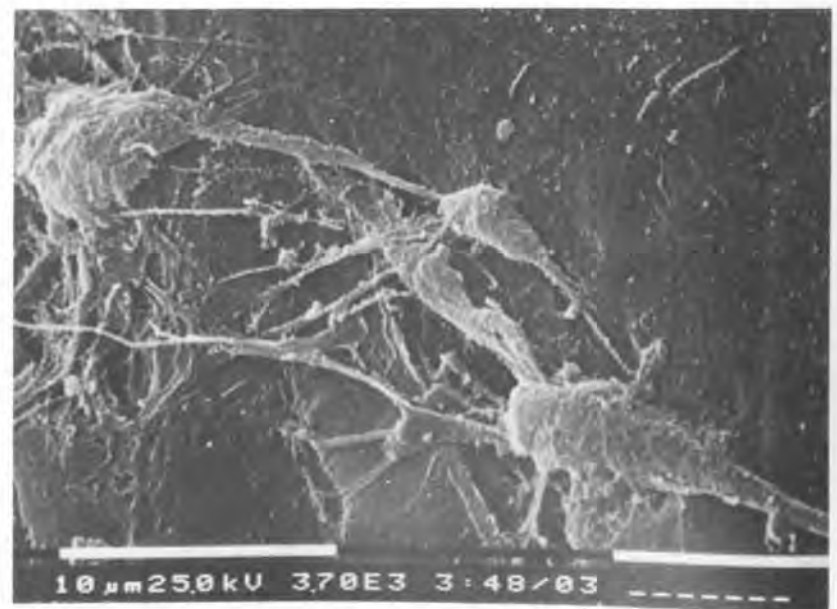


Fig. 2: Cellules adhérentes au substrat avec les caractéristiques morphologiques typiques des fibroblastes. MEB 3700X

Fig. 2: Typical fibroblastic cells adhering to the substrate. SEM 3700X

## RÉSULTATS

Les caractéristiques structurelles de la membrane en PTFE sont telles qu'elles ne permettent pas la migration cellulaire à travers ce tissu qui, à l'observation en surface, apparaît constitué de faisceaux de fibres particulièrement serrées (Fig. 1).

Cette surface est toutefois suffisamment rugueuse pour offrir aux produits de sécrétion des tissus la possibilité de faire corps avec elle.

Dans de nombreux champs d'observation on peut noter aussi des cellules adhérentes au substrat, bon nombre de celles-ci ont une morphologie fuselée et avec les prolongements cytoplasmiques qui sont typiques des fibroblastes (Fig. 2).

Parmi ces cellules on note aussi une trame de filaments parfois étroitement entrelacés et dépourvus d'une organisation clairement définie (Fig. 3).

A l'analyse au M.E.T. ces cellules correspondent à des fibroblastes en activité productive évidente (Fig. 4), avec présence, dans la matrice extracellulaire, de fibrilles de collagène sectionnées en faisceaux dans des directions aussi bien longitudinale que transversale (Fig. 5).



Fig. 3: Parmi les fibroblastoides on note un réseau de filaments diversement entrelacés. MEB 655X

Fig. 3: Among fibroblastoid cells a net of filaments can be seen. SEM 655X

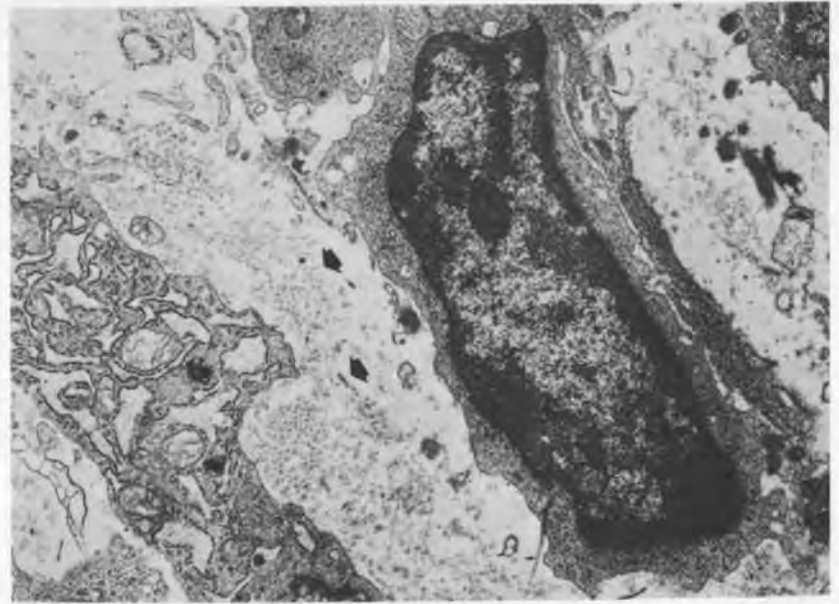


Fig. 4: Fibroblastes en activité productive évidente (reticulum endoplasmique granulaire développé). On peut observer la présence de collagène extracellulaire sectionné transversalement (flèches). MET 8000X

Fig. 4: Collagene producing fibroblastic cells as demonstrated by the development of the granular endoplasmic reticulum. Extracellular collagene can be seen (arrows). TEM 8000X

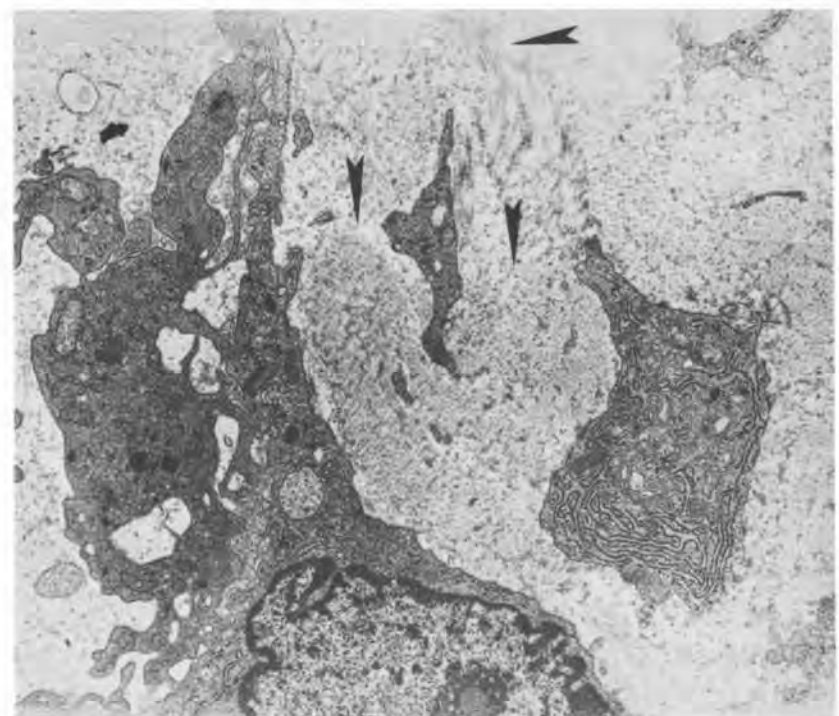


Fig. 5: Présence dans la matrice extracellulaire de fibrilles collagènes sectionnées aussi bien transversalement que longitudinalement (flèches). MET 6200X

Fig. 5: Extracellular matrix showing collagene fibers disected in transverse and longitudinal bundles (arrows). TEM 6200X



En de nombreux champs d'observation la surface recouverte de fibrine aussi que les corps cellulaires qui adhèrent aux membranes présentent la superposition de corps bactériens (Fig. 6).

L'observation de sections transversales par rapport à la direction de la membrane révèlent, outre la présence de fibroblastes, la présence aussi de macrophages en activité phagocytaire évidente, parfois en étroite relation avec ces derniers (Fig. 7).

Une étude plus approfondie des images au M.E.T. des macrophages, a mis en évidence soit des corps bactériens dans la matrice extracellulaire, soit des vacuoles de phagocytose à l'intérieur de la cellule qui sont le résultat de son activité phagocytaire (Fig. 8).

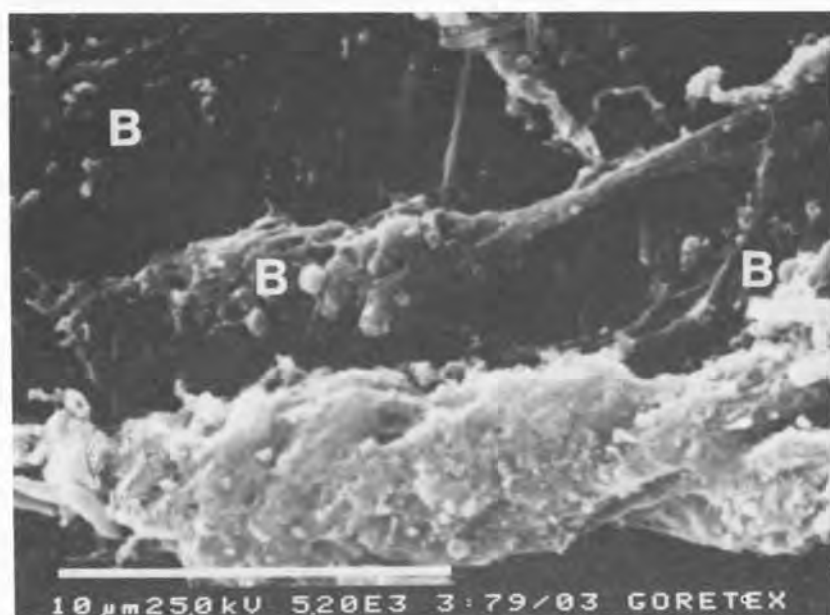


Fig. 6: Aussi bien la surface recouverte de fibrine que les corps cellulaires adhérents à la membrane présentent la superposition de corps bactériens (B). MEB 5200X

Fig. 6: Bacterial (B) cells overlapping both the fibrous surface and the cells bodies adhering to the membrane. SEM 5200X

#### DISCUSSION

Nos observations semblent confirmer que l'emploi de membranes de PTFE dans le traitement chirurgical parodontal a comme résultat d'empêcher la migration apicale de cellules provenant de l'épithélium gingival.

En effet, nos observations ultrastructurales ont confirmé les données, d'ailleurs insuffisantes et partielles, de la littérature, en démontrant au M.E.T. aussi et d'une façon très claire, la présence de cellules fibroblastes en fonction productive évidente avec des fibres collagènes néoformées en différentes formes organisées.

En même temps que la présence de fibroblastes et de fibrine, d'éléments cellulaires et de matériel amorphe, on a démontré la présence de corps bactériens et

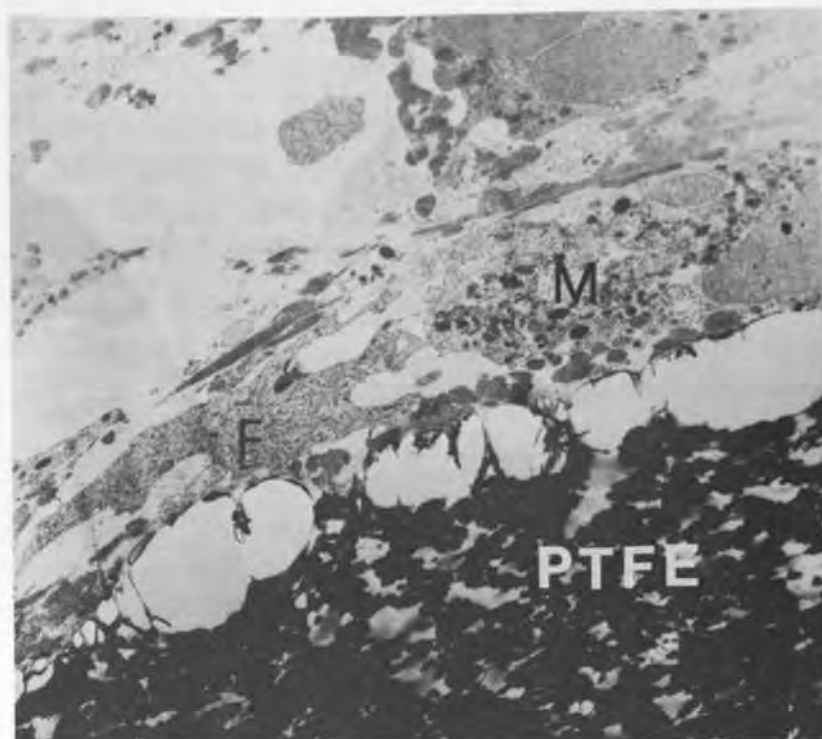


Fig. 7: Section transversale à l'orientation de la membrane (PTFE). On peut noter l'étroit voisinage entre les fibroblastes (F) et les macrophages (M) en activité phagocytaire. MET 4200X

Fig. 7: Transverse section of the membrane (PTFE). The close proximity between fibroblast (F) and phagocytosing macrophages (M) can be observed. TEM 4200X

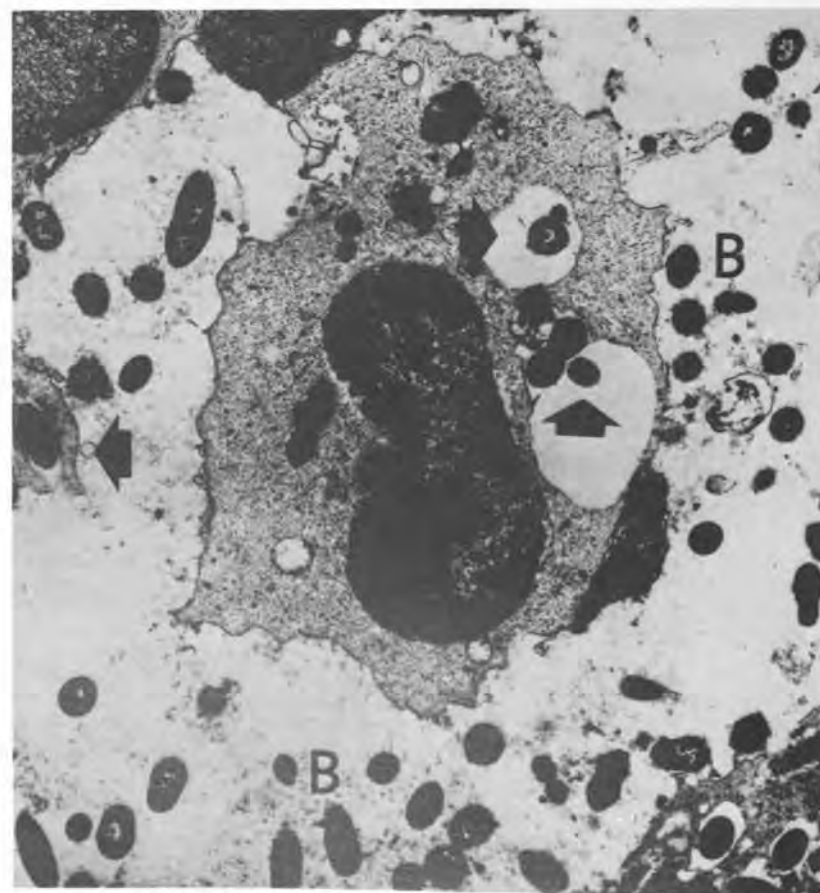


Fig. 8: Corps bactériens dans la matrice extracellulaire (B). Vacuoles de phagocytose (flèches) dans le cytoplasme des macrophages renferment des corps bactériens.

A gauche on peut observer un pseudopode du macrophage qui est en train d'englober une bactérie (flèche). MET 5300X  
Fig. 8: Bacterial cells into the extracellular matrix. Phagocytic vacuols (arrows) into the cytoplasm of bacteria containing macrophages. On the left the pseudopod of a macrophage phagocytizing a bacterial cell can be observed (arrow). TEM 5300X

de cellules macrophages. On a rencontré ces dernières dans la partie la plus apicale de la membrane.

Cette dernière donnée, avec l'observation de vacuoles endocellulaires contenant des corps bactéroïdes, résultat d'une activation évidente du macrophage, nous semble invalider l'opinion exprimée par certains auteurs (Selvig K.A. et coll., 1990). Selon ces derniers, la contamination bactérienne des membranes serait le résultat de l'extraction chirurgicale de la membrane elle-même après la période préfixée de permanence dans son siège d'application. En effet, la présence de macrophages, ainsi que les rapports que ces derniers ont montré vis à vis des fibroblastes, ou encore la présence de résidus de corps bactériens dans les vacuoles intracytoplasmiques semblent indiquer que cette composante cellulaire a été activée à l'égard d'une pollution bactérienne, à une époque très antérieure à l'ablation de la membrane.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] Isidor F., Karring T., Nyman S., Lindhe J. — The significance of coronal growth of periodontal ligament tissue for new attachment formation. *J. Clin. Periodontol.*, 13: 145-150, 1986.
- [2] Gottlow J., Nyman S., Karring T., Lindhe J. — New attachment formation as a result of controlled tissue regeneration. *J. Clin. Periodontol.*, 11: 494-503, 1984.
- [3] Gottlow J., Nyman S., Lindhe J., Karring T., Wennstrom J. — New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. *J. Clin. Periodontol.*, 13: 604-616, 1986.
- [4] Karring T., Nyman S., Lindhe J. — Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. *J. Clin. Periodontol.*, 7: 96-105, 1980.
- [5] Mattout P., Mattout C., Remusat M., Carrier-Clerambault V. Regeneration tissulaire guidée: étude clinique et microscopique. *Actual. Odonto-stomatol.*, 169: 31-39, 1990.
- [6] Nyman S., Gottlow J., Karring T., Lindhe J. — The regenerative potential of the periodontal ligament. *J. Clin. Periodontol.* 9: 257-265, 1982 a.
- [7] Nyman S., Lindhe J., Karring T., Rylander H. — New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, 9: 290-296, 1982 b.
- [8] Pontoriero R., Lindhe J., Nyman S. — Guided tissue regeneration in degree II furcation-involved mandibular molars. A clinical study. *J. Clin. Periodontol.*, 15: 247-254, 1988.
- [9] Pontoriero R., Lindhe J., Nyman S. — Guided tissue regeneration in the treatment of furcation defects in mandibular molars. a clinical study of degree III involvements. *J. Clin. Periodontol.* 16: 170-174, 1989.
- [10] Selvig K.A., Nilveus R.E., Fitzmorris L., Kersten B., Khorsandi S. — Scanning electron microscopic observations of cell population and bacterial contamination of membranes used for guided periodontal tissue regeneration in humans. *J. Periodontol.*, 61: 515-520, 1990.