

Incorporation du ^3H -cortisole dans la pulpe dentaire et changements induits

KARADŽOV, C*, HRISTIĆ, M.***, SEDLECKI, S.*, JOKIĆ, N.*

* *Faculté de Stomatologie, Université de Belgrade (Yougoslavie)*

** *Institut de Recherches Biologiques Dr. Sinisa Stankovic, Belgrade (Yougoslavie)*

RÉSUMÉ

L'incorporation d'hydrocortisone tritiée (^3H -Cortisol) à la pulpe de molaires de rats Wistar a été étudiée par autoradiographie. Il a été démontré, en microscopie classique, que cette hormone, une heure après l'injection chez le rat, se conjugue aux odontoblastes, aux autres cellules conjonctives pulpaire et aux cellules endothéliales des vaisseaux sanguins de la pulpe. Si le mécanisme exact de l'action de l'hydrocortisole demeure encore inconnu, l'incorporation de cortisol marqué au noyau des cellules plaide en faveur d'une action directe de cette hormone sur le métabolisme des cellules pulpaire.

Le présent travail montre en outre, à l'échelle structurale et ultrastructurale, qu'un traitement pendant 4 semaines par des doses élevées d'hydrocortisone (16 et 32 mg/kg), au cours de la période de croissance intensive chez le rat, induit une dégénérescence des odontoblastes, des autres cellules conjonctives pulpaire et des vaisseaux sanguins de la pulpe, avec pour conséquence une diminution du potentiel de défense, de régénération et de réparation du complexe dentino-pulpaire.

MOTS-CLES:

Pulpe dentaire - Rat - Hydrocortisone - ^3H -Cortisole

SUMMARY

The incorporation of labelled hydrocortisone (^3H -Cortisol) in the dental pulp of Wistar rats has been tested using autoradiography. Light microscopy showed that an hour after injection the hormone is incorporated in the nuclei of the odontoblasts, subodontoblastic and endothelial cells of the dental pulp.

It was also demonstrated at the ultrastructural level that a 4 week-treatment with high rates of hydrocortisone (16 and 32 mg/kg) at the time of rat intensive growth induces degeneration of the odontoblasts, pulp connective tissue cells and capillaries. High rates of hydrocortisone thus induces a decrease in the protective and reparative responses of rat molar pulp.

KEY WORDS:

Dental Pulp - Rat - Hydrocortisone - ^3H -Cortisole

INTRODUCTION

La plupart des effets physiologiques des hormones gluco-corticostéroïdes sont le résultat de leur conjugaison aux récepteurs spécifiques qui se trouvent dans le cytoplasme des cellules des tissus-cibles. Le complexe hormono-récepteur passe dans le noyau,

où il agit sur le génome. Ce complexe agit également sur les phospholipides de la membrane cellulaire.

Etant donné que la plupart des cellules possèdent les récepteurs de l'hydrocortisone, le champ d'action des corticostéroïdes est très vaste (Djordjević-Marković et coll., 1984; Bozović et Devečerski, 1986).

Les gluco-corticostéroïdes peuvent passer du cytoplasme au noyau sans interaction initiale avec la protéine du récepteur. Une interaction directe de l'hydrocortisone et des autres hormones gluco-corticostéroïdes avec les protéines du noyau a été constatée dans les organes-cibles cataboliques (Trajković, 1974).

Des expérimentations animales ont montré que les glucocorticoïdes, utilisés en traitement prolongé, induisaient des changements dans les odontoblastes, le tissu conjonctif et les vaisseaux sanguins de la pulpe dentaire (Glickman et Shklar, 1954; Applebaum et Seelig, 1955), l'intensité des changements dépendant de la dose utilisée (Applebaum et Seelig, 1955; Anneroth et Bloom, 1966).

Nous avons précédemment montré que l'hyperémie est le signe principal des changements qui interviennent dans le tissu pulpaire, chez le rat, sous l'effet de doses massives d'hydrocortisone (Karadžov et coll., 1986; Jokić, 1987; Karadžov et col., 1987). Lorsque les doses augmentent, il se produit des oedèmes perivasculaires, en particulier dans la zone odontoblastique, des hémorragies dans la partie centrale de la pulpe et un éclatement des vaisseaux à la périphérie.

Le but du présent travail est, d'une part, de savoir si le cortisol (hydrocortisone) se conjugue aux cellules pulpaires et agit ainsi directement sur ces cellules, d'autre part d'étudier, à l'échelle ultrastructurale, les changements cellulaires induits dans la pulpe dentaire du rat par un traitement prolongé par des doses élevées d'hydrocortisole.

MATERIEL ET METHODES

L'incorporation des hormones dans la pulpe dentaire a été étudiée par autoradiographie, à l'aide d'hydrocortisone tritiée.

Du ^3H -cortisole (hydrocortisone 1, 2, 6, 7- ^3H (N); NET-396-NEN d'activité spécifique = 91 Ci/mol), a été injecté, à raison de 200 μCi par 100 grammes de poids, à des rats Wistar, au 46^{ème} jour de leur vie. Une heure après l'injection, les animaux ont été sacrifiés. Le secteur molaire des maxillaires a été fixé dans du Bouin, puis décalcifié dans une solution neutre d'EDTA à 20%. Des coupes histologiques sériées ont été faites et revêtues d'une émulsion ILFORD L⁴. Le développement et la fixation des autoradiographies ont été faits après 7 mois d'exposition. Les coupes ont été colorées au vert de méthyle-pyronine. Les clichés ont été examinés en microscopie classique.

L'expérimentation sur les effets à long terme, sur la pulpe, de l'injection d'hydrocortisone à doses élevées, a été faite chez des rats femelles de même race,

âgés de 15 jours au début de l'expérimentation et partagés en 3 groupes, qui ont reçu, pendant 4 semaines, 5 injections sous-cutanées par semaine: 0,1 ml de solution physiologique, pour le groupe témoin, 16 mg/kg d'hydrocortisone acetate (Hydrocortisone-Galenika), pour le second groupe, 32 mg/kg du même produit, pour le troisième groupe. Les animaux ont été sacrifiés immédiatement après la fin du traitement.

Le secteur molaire des maxillaires a été fixé et décalcifié selon le protocole décrit précédemment. Des coupes sériées ont été réalisées et colorées à l'hématoxyline-éosine et au Gabe-Azan.

Pour l'examen en microscopie électronique, les deuxièmes molaires ont été fixées dans la glutaraldéhyde, post-fixées au tétroxyde d'osmium à 1% et incluses dans l'araldite. Les coupes ont été colorées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb.

RESULTATS

L'examen des autoradiographies montre la présence d'hydrocortisone tritiée exclusivement dans les noyaux des cellules pulpaires et dans les orifices des vaisseaux.

Les noyaux des odontoblastes sont très marqués par l'hydrocortisone tritiée (Fig. 1), qui, sur certaines coupes, apparaît fixée sur la membrane du noyau. Tous les odontoblastes de la région des cornes pulpaires sont ainsi marqués, alors que, dans la région des fissures, on trouve quelques noyaux sans marquage. Dans le parenchyme pulpaire, certaines cellules apparaissent marquées, d'autres pas. La région sous-odontoblastique de la pulpe renferme davantage de cellules marquées que la partie centrale. Les cellules du tissu conjonctif sont peu marquées. Dans les vaisseaux, les cellules endothéliales sont nettement marquées.

L'analyse des coupes mesio-distales des molaires de rats traités pendant 4 semaines à l'hydrocortisone met en évidence, à l'échelle structurale et ultrastructurale, des changements histologiques intervenant dans le tissu pulpaire.

Dans la zone odontoblastique, on observe plusieurs noyaux présentant des signes de dégénérescence, à des degrés divers: noyaux pycnotiques, absence d'organites dans le cytoplasme (Figs 2, 3, 4), comparés au odontoblastes du groupe témoin (Fig. 5).

On trouve également des noyaux pycnotiques dans la couche odontoblastique, où l'on note une vacuolisation intercellulaire. L'examen en microscopie électronique met en évidence un élargissement, plus ou moins marqué, des espaces intercellulaires. Là où

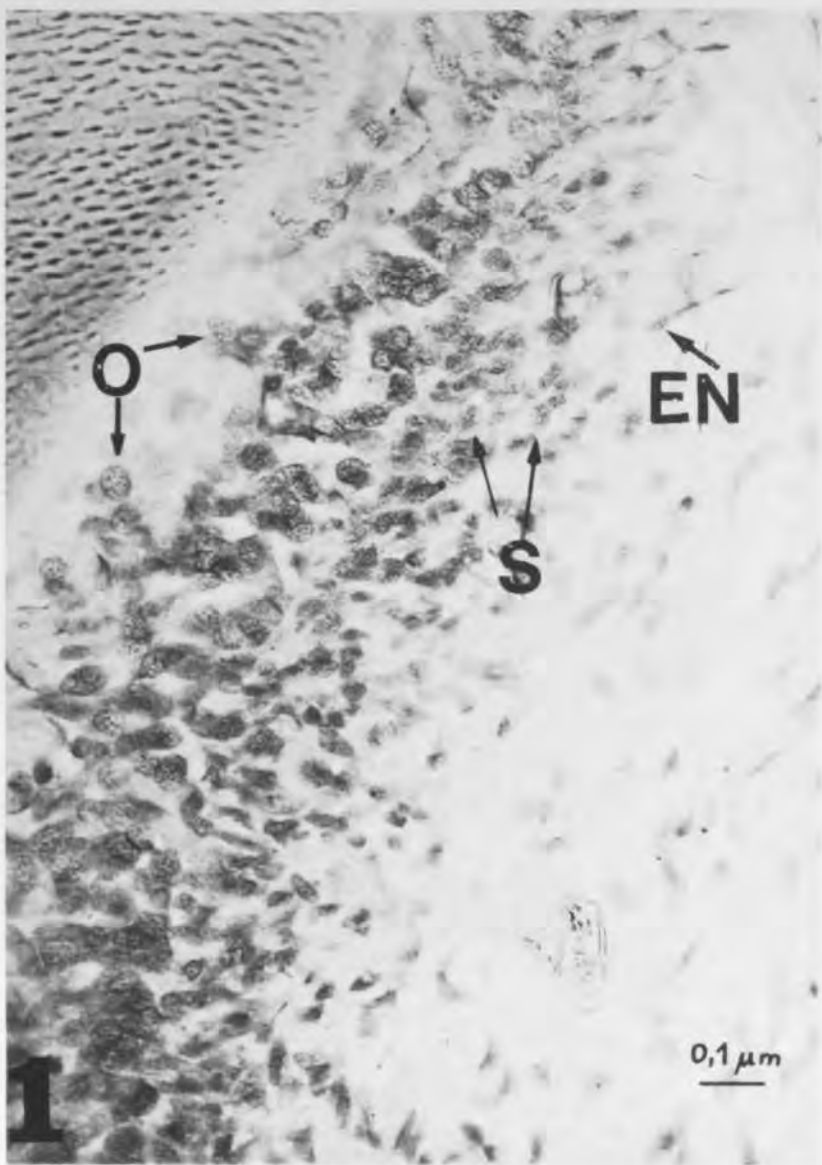


Fig. 1: Molaire de rat. Marquage par le ^3H -cortisole des noyaux des odontoblastes (O), des cellules subodontoblastiques (S) et des cellules endothéliales capillaires de la pulpe (EN).
 Fig. 1: Rat molar. ^3H -cortisole labelling in the nuclei of odontoblasts (O), subodontoblastic cells (S) and endothelial cells (EN) of pulp capillaries.



Fig. 2: Corne pulpaire d'une molaire de rat traité par des doses de 16 mg/kg d'hydrocortisone. Notez les noyaux pycnotiques des odontoblastes et des cellules de la zone subodontoblastique.
 Fig. 2: Pulp horn of a molar from rat treated with 16 mg/kg of hydrocortisone. Note pycnotic nuclei of odontoblasts and subodontoblastic cells.

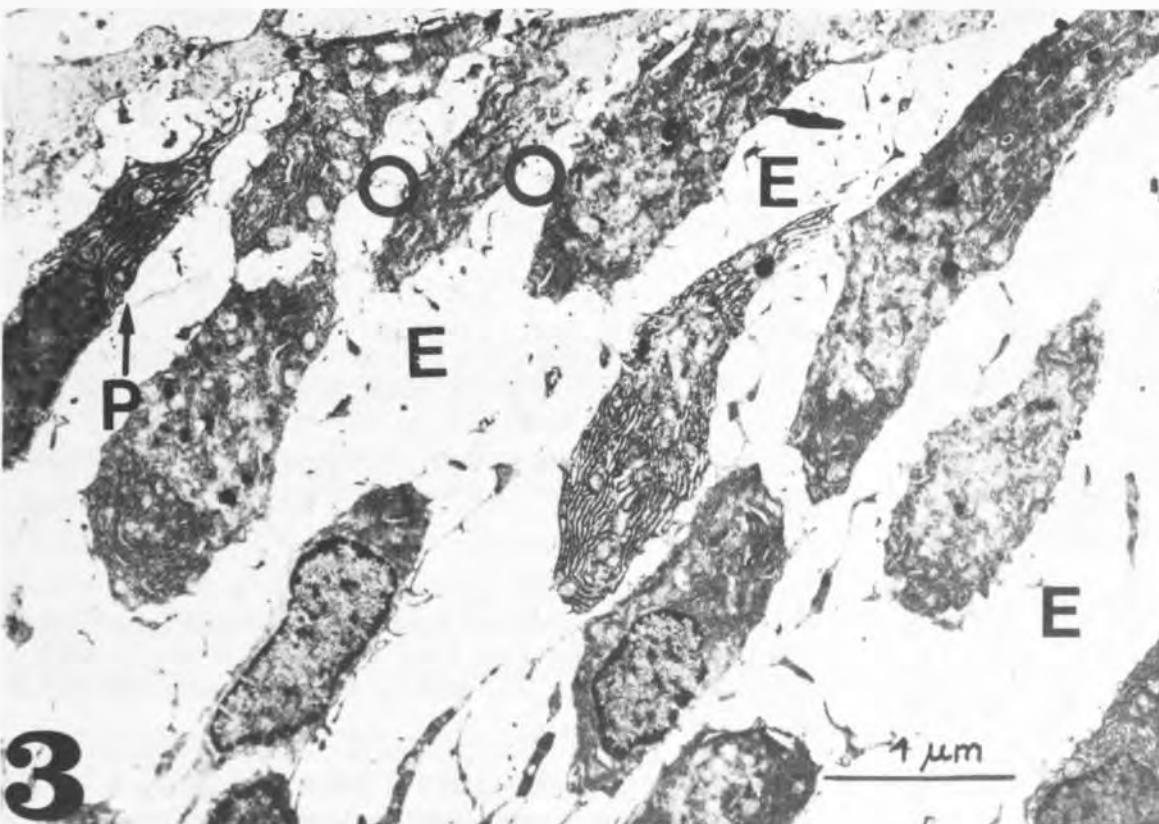


Fig. 3: Couche odontoblastique dans une molaire de rat traité par des doses de 16 mg/kg d'hydrocortisone. Oedème intercellulaire (E), Pycnose du noyau (P), complexe de jonction (sphère). M.E.T.
 Fig. 3: Odontoblastic layer in a molar of rat treated with 16 mg/kg of hydrocortisone. Intercellular oedema (E), pycnotic nucleus (P), Junction complex (sphere). T.E.M.

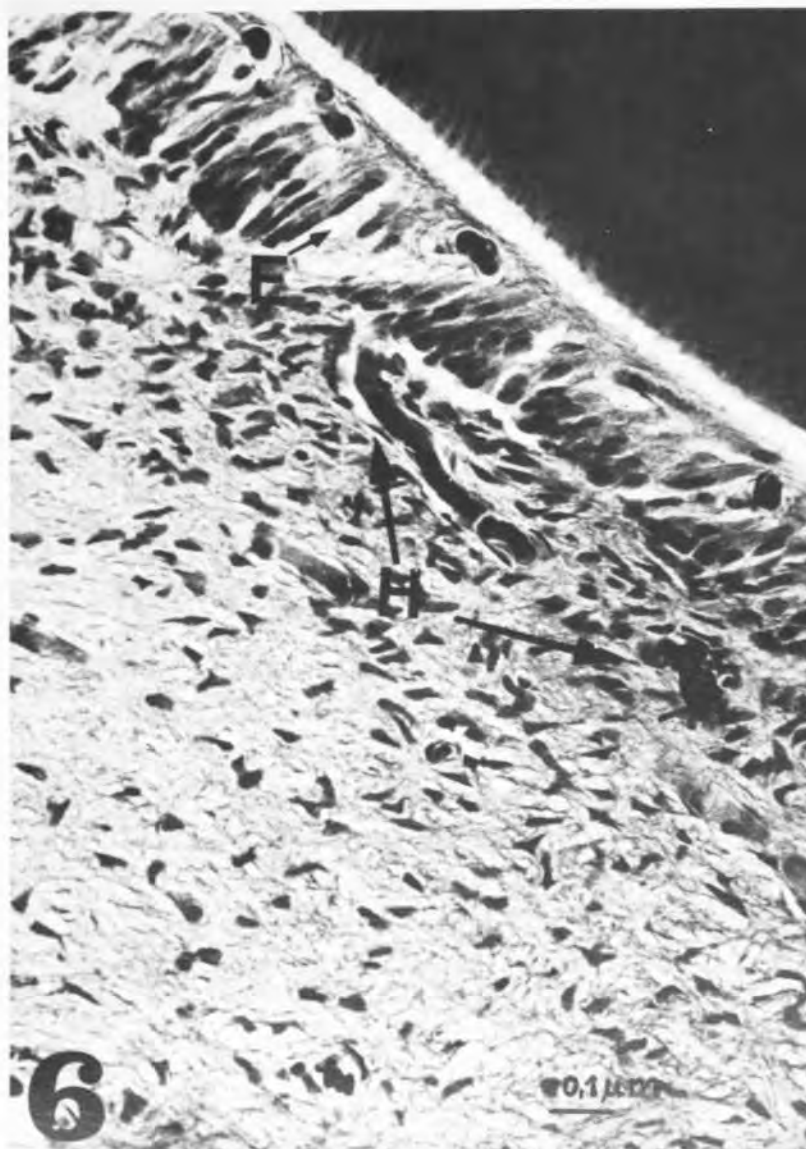
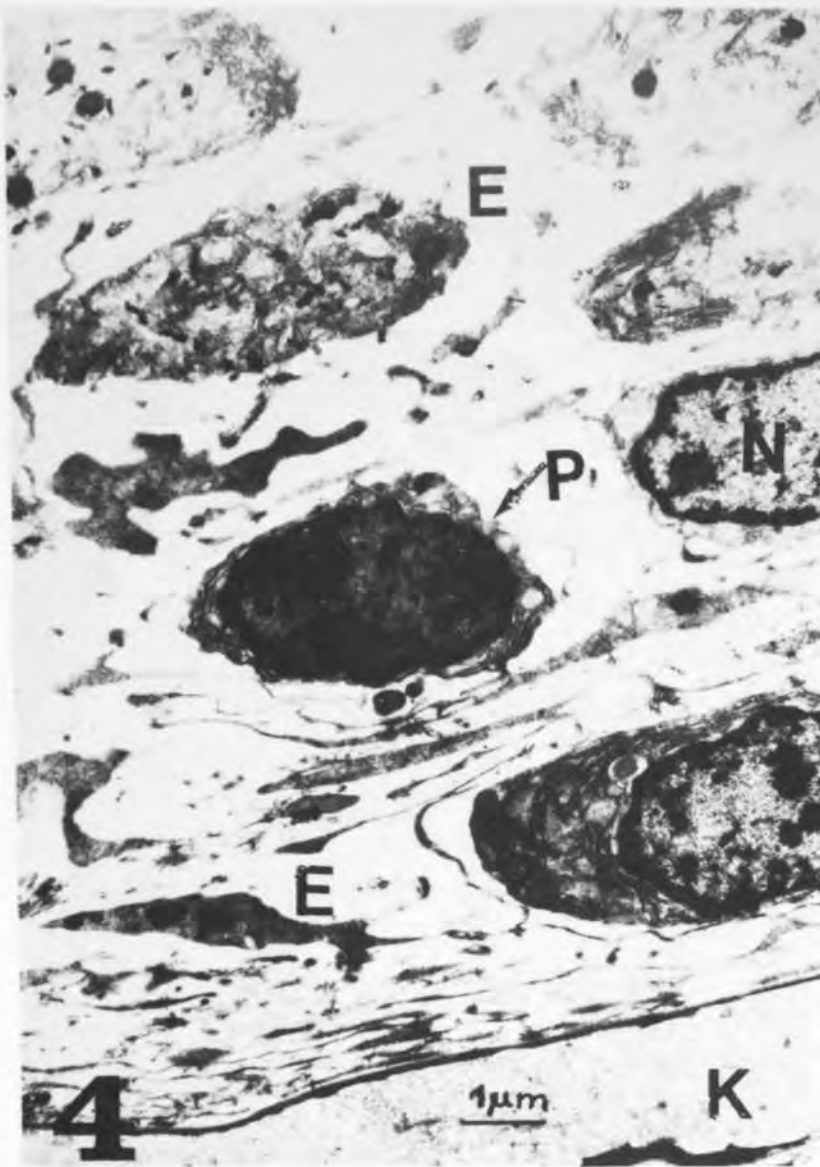


Fig. 4: Odontoblastes d'une molaire de rat traité à l'hydrocortisone. Notez la pycnose complète des odontoblastes isolés (P), le noyau (N), l'oedème (E) et le capillaire dilaté (K). M.E.T.

Fig. 4: Odontoblasts in a molar of rat treated with hydrocortisone. Note pycnosis of isolated odontoblasts (P), oedema (E) and dilated capillary (K). T.E.M.

Fig. 5: Odontoblastes d'une molaire de rat du groupe témoin. Noyau (N), reticulum endoplasmique (ER), complexe de jonction (sphère), M.E.T.

Fig. 5: Odontoblasts in a molar of control rat. Nucleus (N), endoplasmic reticulum (ER), junction complex (sphere). T.E.M.

Fig. 6: Corne pulpaire d'une molaire de rat traité par des doses de 16 mg/kg d'hydrocortisone. Oedème (E) dans la couche odontoblastique, hyperémie (H) dans les couches odontoblastique et subodontoblastique.

Fig. 6: Pulp horn of a molar from rat treated with 16 mg/kg of hydrocortisone. Note oedema (E) in the subodontoblastic layer and hyperemia (H) in odontoblastic and subodontoblastic layers.

l'élargissement est important, on n'observe pas de complexes de jonction (Figs 3, 4). Les petits groupes d'odontoblastes apparaissent séparés, non seulement par des espaces intercellulaires élargis, mais aussi par des capillaires dilatés. On constate une hyperémie dans les couches odontoblastique et sous-odontoblastique. Par endroits, la dilatation capillaire est suivie d'hémorragie (Figs 6, 7). Les parois des capillaires sont très minces (Fig. 8) par rapport à celles du groupe témoin (Fig. 9).

La plupart des cellules conjonctives de la partie centrale de la pulpe ont un noyau pycnotique, les fibrilles de collagène sont amincies et peu nombreuses. Le tissu conjonctif présente l'aspect d'une atrophie réticulaire (Figs 7, 10, 11).

DISCUSSION

La présente expérimentation établit qu'une heure après l'injection d'hydrocortisone tritiée chez des rats Wistar, celle-ci est incorporée aux odontoblastes, aux autres cellules conjonctives et aux cellules endothéliales des vaisseaux pulpaire. Le corticoïde est transféré par voie circulatoire jusqu'aux cellules, traverse leur membrane et, par le cytoplasme, parvient jusqu'au noyau. Cependant, la méthodologie mise en œuvre ne nous permet pas de déterminer avec certitude si le corticoïde se conjugue au noyau par la protéine du récepteur ou par une autre protéine.

Nos résultats mettent en évidence l'effet des corticoïdes sur la structure histologique de la pulpe, confirmant ainsi, sans équivoque, les données de la littérature sur l'action des corticostéroïdes (Glickman et Schklar, 1954; Applebaum et Seelig, 1955; Anneroth et Bloom, 1966) et le résultat de nos précédentes expérimentations sur l'effet de l'hydrocortisone sur les tissus dentaires, en fonction des doses administrées (Karadžov et coll., 1986; Jokić, 1987; Karadžov et coll., 1987).

C'est entre le 15^{ème} et le 45^{ème} jour de la vie du rat (notre période expérimentale) que, selon Schour et Massler (1962), se forment les racines des premières et deuxièmes molaires et que se met en place une occlusion fonctionnelle. La couronne de la troisième molaire est déjà formée au 21^{ème} jour et, dès le 24^{ème}, commence la furcation des racines, l'occlusion fonctionnelle étant établie au 40^{ème} jour, soit quelques jours avant la fin de notre expérimentation.

Le traitement par des doses élevées d'hydrocortisone (16 et 32 mg/kg) au cours de cette période induit, dans la pulpe de rat, un élargissement des espaces

intercellulaires (odontoblastes) au voisinage des vaisseaux dilatés. Ce phénomène se produit vraisemblablement à la suite d'un oedème périvasculaire. Nous avons constaté des hémorragies capillaires, non seulement dans la région centrale de la pulpe, mais aussi dans la zone des odontoblastes. En accord avec Bernick (1961) et Pinzon et coll. (1967), nous avons constaté que la pulpe des molaires de rat est très bien vascularisée. Chez le jeune rat, le filet vasculaire terminal s'étend jusqu'à la prédentine, tandis que chez le rat plus âgé, il va jusqu'aux odontoblastes. Selon Mjör et Fejerskov (1979), les vaisseaux sanguins pulpaire sont caractérisés par des parois très minces et fragiles. A des doses physiologiques, l'action des glucocorticoïdes se caractérise par une diminution de la perméabilité de l'endothélium vasculaire (Brobeck, 1979). A doses plus élevées, le cortisole a un effet nuisible sur l'intégrité des petits vaisseaux. L'augmentation du catabolisme des protéines tissulaires et la diminution de l'anabolisme conduisent à l'atrophie des vaisseaux sanguins et à la rupture de leurs parois (Bozović et Devečerski, 1986). Comme les cellules endothéliales des vaisseaux pulpaire sont capables d'incorporer l'hydrocortisone, un traitement prolongé par des doses élevées peut induire des oedèmes périvasculaires et des hémorragies.

Les odontoblastes, dont les noyaux incorporent l'hydrocortisone tritiée, dégèrent en cas d'utilisation de doses massives de cette hormone. Les effets nocifs se traduisent, sur ces cellules, par des troubles fonctionnels allant jusqu'à l'inhibition et, de ce fait, par des répercussions sur la synthèse du collagène dentinaire et sur le processus de minéralisation.

On sait que les fibroblastes sont les cellules prédominantes dans la pulpe dentaire, chez l'homme comme chez le rat. leur fonction est de synthétiser les protéines, surtout collagéniques.

Notre étude montre que l'utilisation de doses élevées d'hydrocortisone provoque la pycnose du noyau des fibroblastes, réduisant ainsi l'activité cellulaire, comme l'indiquent, à l'échelle de la microscopie classique, l'aspect d'atrophie réticulaire et, à l'échelle ultrastructurale, la production réduite de fibrilles de collagène que nous avons observés.

Nos résultats confirment les données d'Uitto et coll. (1975), qui, étudiant *in vitro* l'effet des glucocorticoïdes sur la synthèse du collagène pulpaire chez le lapin, ont constaté que cet effet dépendait du type de corticoïde utilisé et de sa concentration. Ces auteurs ont montré une diminution de 62% de la synthèse du collagène sous l'effet de l'hydrocortisone. A la concentration de 10^{-3} M, il se produit une inhibition

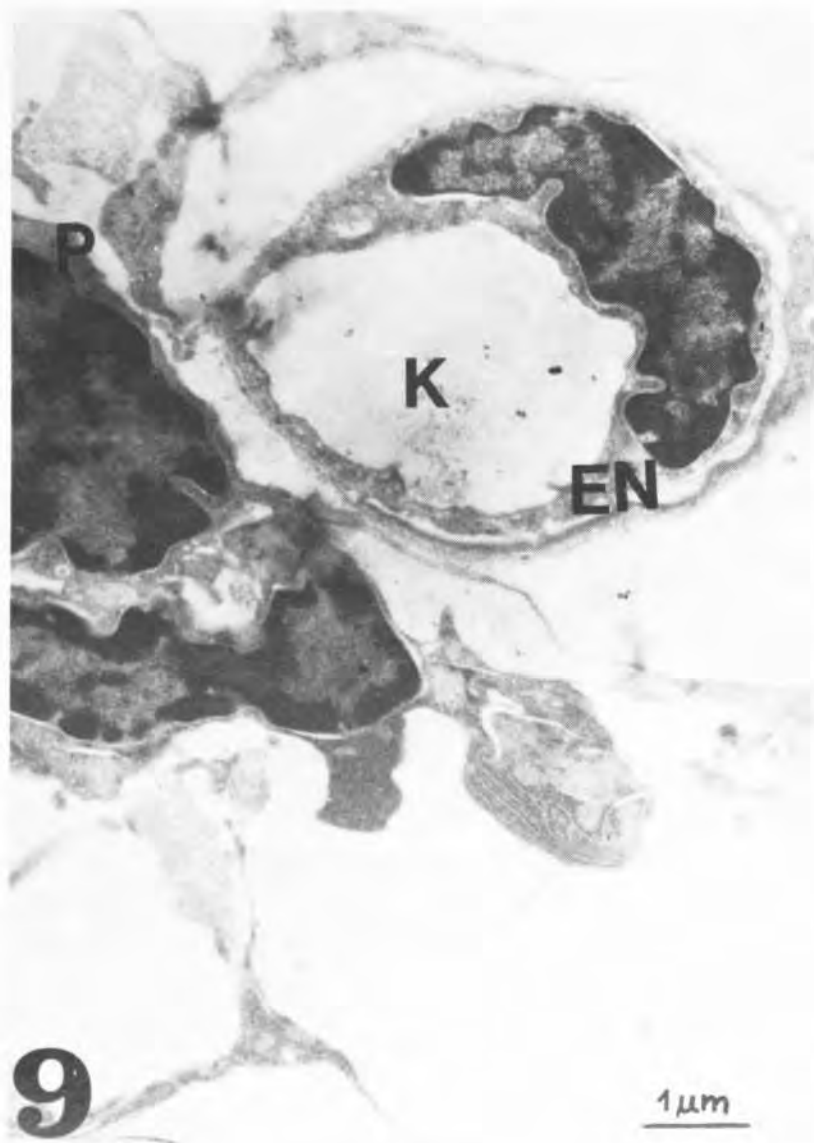
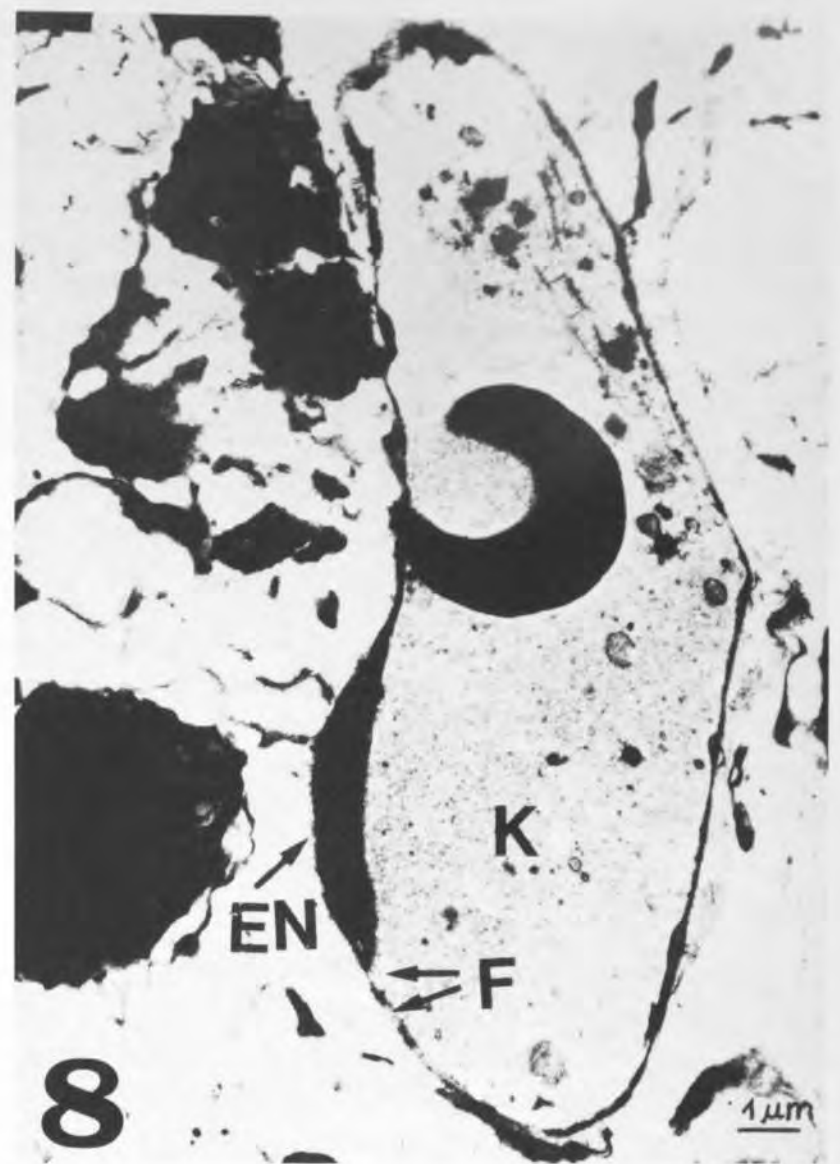
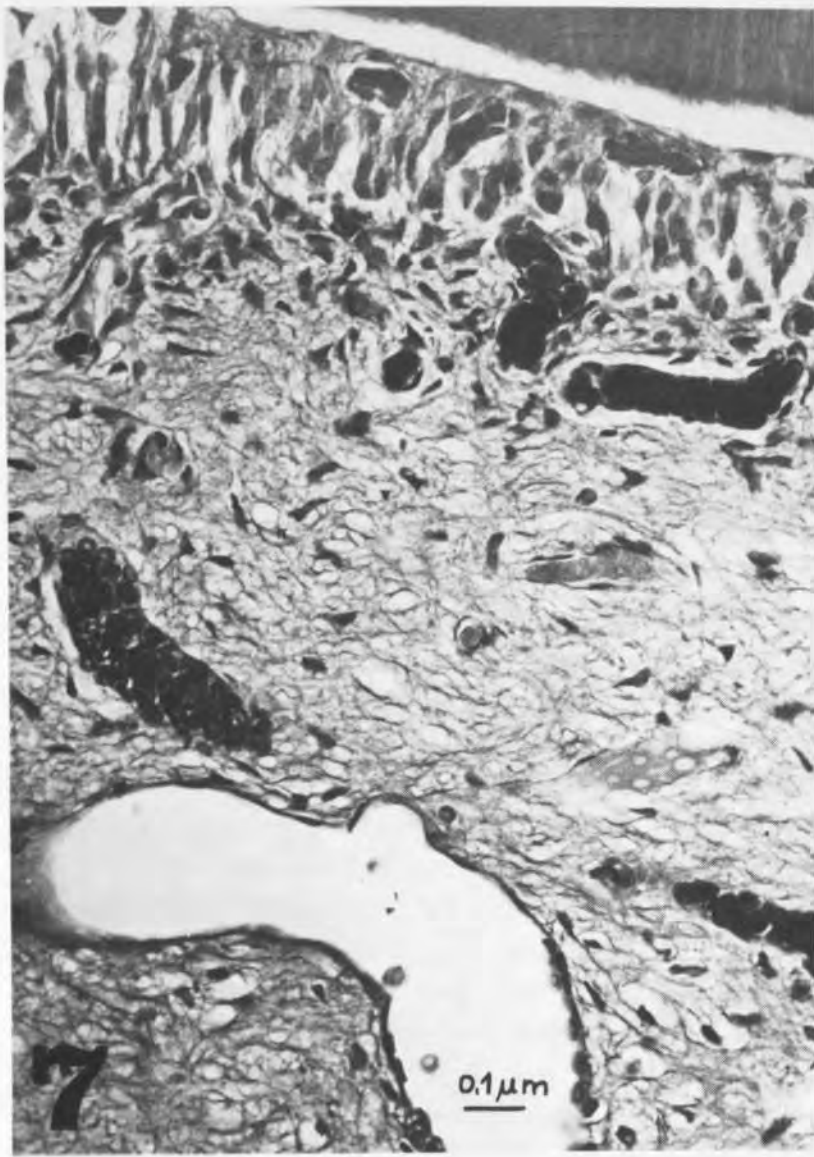


Fig. 7: Pulpe d'une molaire de rat traité par des doses élevées d'hydrocortisone. Notez l'atrophie réticulaire, la dilatation des vaisseaux et l'hémorragie.

Fig. 7: Pulp horn of a molar from rat treated with high rates of hydrocortisone. Note reticular degeneration, dilated vessels and haemorrhage.

Fig. 8: Pulpe d'une molaire de rat traité à l'hydrocortisone. Notez le capillaire dilaté (K), à paroi amincie, la fenestration (F) et les cellules endothéliales pycnotiques (EN).

Fig. 8: Pulp horn of a molar from rat treated with hydrocortisone. Note dilated capillary (K) with thinner walls, fenestration (F) and pycnotic endothelial cells (EN).

Fig. 9: Pulpe de molaire de rat témoin. Capillaire à la périphérie de la pulpe (K), cellule endothéliale (EN), péricyte (P).

Fig. 9: Pulp horn of a molar from control rat, Capillary (K) at the periphery of the pulp, endothelial cell (EN), pericyte (P).

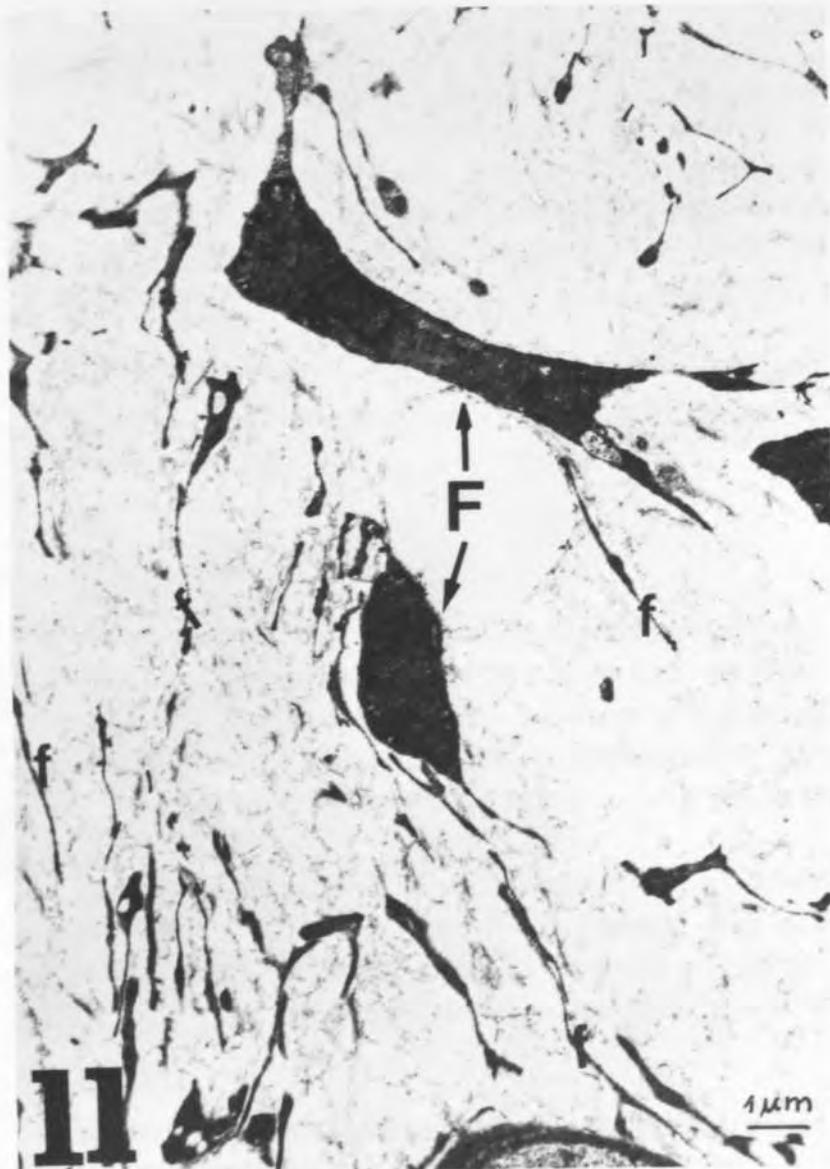


Fig. 10: Pulpe de molaire de rat témoin. Fibroblastes (F) et fibrilles conjonctives (f).

Fig. 10: Molar pulp from control rat. Fibroblasts (F), connective fibrils (f).

Fig. 11: Pulpe de molaire de rat traité à l'hydrocortisone. Cellules conjonctives (F) avec pycnose, réduction et amincissement des fibrilles de collagène (f).

Fig. 11: Molar pulp from rat treated with hydrocortisone. Pycnotic connective cells (F), collagen fibrils (f) are decreased in number, and thinner.

statistiquement significative de la synthèse du collagène et des autres protéines pulpaire. Si l'on diminue la concentration d'hydrocortisone, on obtient une diminution significative de la synthèse du collagène, sans effet notable sur les autres protéines pulpaire.

En conclusion, le présent travail indique que l'hydrocortisone pourrait avoir une action directe sur le métabolisme des cellules pulpaire et qu'injecté à fortes doses, en traitement prolongé, chez le rat, elle induit des transformations cellulaires ayant pour conséquence une diminution du potentiel de défense, de régénération et de réparation du complexe dentino-pulpaire.

RÉFÉRENCES

Anneroth, G., Bloom, G. — Structural changes in the incisors of cortisone-treated rats. *J. Dent. Res.*, 45: 229-235, 1966.

Applebaum, E., Seelig, A. — Histological changes in jaw and teeth of rats following nephritis adrenalectomy and cortisone treatment. *Oral Surg.*, 8: 881-891, 1955.

Bernick, S. — Age changes in the vascular and nerve supply to the molar teeth of rats. *J. Dent. Res.*, 40: 651, 1961.

Božović, B., Devečerski, M. — Klinička endokrinologija, Institut zaštite na radu Beograd, Beograd, 1986.

Brobeck, J.R. — Physiological basis of medical practice. 10th edition. Baltimore, Williams and Wilkins, 1979.

Djordjević-Marković, R., Ribarić-Stepić, N., Kanazir, D. — Interakcija korteksolona sa receptorom za glukokortikoidne hormone. Zbornik radova 3. Kongresa endokrinologa Jugoslavije. Novi Sad, I knjiga: 15-23, 1984.

Glickman, I., Shklar, G. — The effect of systemic disturbance on the pulp of experimental animals. *Oral Surg.*, 7: 550-558, 1954.

Jokić, N. — Proučavanje uticaja hidrokortizona na zubna tkiva, parodonticijm i vilice pacova. Doktorska disertacija, Belgrade, 1987.

Karadžov, O., Jokić, N., Djukanović, D., Kalafatić, D. — L'influence de différentes doses d'hydrocortisone sur la pulpe et la papille interdentaire de rat. C.R. XIXème Semaine Médicale Balkanique, Belgrade, 1986.

Karadžov, O., Jokić, N., Djukanović, D., Kalafatić, D. — La pulpe et la papille interdentaire des rats traités par l'hydrocortisone. *Bull. Group. Int. Rech. Sci. Stomatol. Odontol.*, 30: 65-77, 1987.

Mjör, I.A., Fejerskov, O. — Histology of the human tooth. 2d ed. Copenhagen, Munksgaard (Copenhagen Scandinavian University Books), 1979.

Pinzon, R.D., Kozlov, M., Burch, W.P. — Histology of rat molar pulp at different ages. *J. Dent. Res.*, 46: 202-208, 1967.

Schour, I., Massler, M. — The Teeth. In: Harris, E.J., Griffith, J.O.: The rat in laboratory investigations. New York. Hafner Publication Company, 1962.

Trajković, D. — Mehanizam delovanja hidrokortizona na genom celije enkariota. Doktorska disertacija. Beograd, 1974.

Uitto, V.J., Antila, R., Ranta, R. — Effects of topical glucocorticoid medication on collagen biosynthesis in the dental pulps. *Acta Odont. Scand.*, 33: 287-298, 1975.