

# Structure et ultrastructure de la pulpe de *Vipera aspis* (viperidae)

KATTIE, A.L.\*\*\*, LE CABELLEC, M.T.\*, COTTREL, M.\*, KEREBEL, L.M.\*

\* Unité de Recherche INSERM, U.225, Université de Nantes (France)

\*\* Département de Pédiodontie, Institut d'Odonto-Stomatologie, Abidjan (Côte d'Ivoire)

## RÉSUMÉ

Le présent travail, en microscopie photonique et en microscopie électronique à transmission, a permis d'apporter les premières informations sur la pulpe des crochets à venin des Vipéridés (serpents venimeux de mœurs terrestres ou semi-aquatiques).

Cette pulpe se caractérise par sa pauvreté en fibres de collagène et en fibroblastes et par une importante vascularisation.

Les odontoblastes sont très polarisés, riches en organites cellulaires, leurs interconnexions se font au niveau d'expansions latérales par des « gap junctions ».

Les prolongements odontoblastiques, en fin de sécrétion, ont un cytoplasme pauvre, composé essentiellement de microfilaments.

## MOTS-CLÉS:

Vipéridés - Crochets à venin - Pulpe - Structure - Ultrastructure

## SUMMARY

The present paper using classical and transmission electron microscopy brings the first data on the pulp of the fangs of Viperidae (poisonous serpents with terrestrial or semi-aquatic habits).

The pulp of the fangs of Viperidae shows a poor collagen and fibroblast content and a high developed vascular system.

The odontoblasts are polarized, with a high organelle content. The interconnections are constituted of lateral « gap junction » systems.

At a late secretion stage, the odontoblastic processes show a poor cytoplasm, mainly constituted of microfilaments.

## KEY-WORDS:

Viperidae - Fangs - Pulp - Structure - Ultrastructure

## INTRODUCTION

Selon Phisalix (1922), « les crochets constituent l'une des extraordinaires formes d'adaptation du système dentaire à la vie et au mode d'alimentation des espèces ». Ces dents, en effet, ne sont pas faites pour couper ou pour déchirer, mais servent plutôt à la rétention et à l'ingestion des proies (Poole, 1956; Guibe, 1970; Anthony, 1973).

A la lecture de la littérature scientifique sur le sujet, on se rend compte de l'intérêt suscité par ces « petits crochets », depuis bientôt deux siècles. C'est ainsi que les tissus durs (émail, dentine, ciment) des crochets des Vipéridés (serpents venimeux de mœurs terrestres ou semi-aquatiques) ont fait l'objet de nombreuses études (Owen, 1840; Tomes, 1875, 1923; Noyes, 1953; Poole, 1956, 1957; Frazetta, 1966; Schmidt et Keil, 1971; Vaeth et coll., 1985; Nessi de Avinon et coll., 1986).

Cependant, il n'existe pas, à notre connaissance, d'étude de la pulpe. Cela pourrait être due à des raisons diverses: difficultés pour obtenir des pièces fraîches, risques inhérents à la haute toxicité des venins, petitesse des pièces à fixer.

Le but du présent travail est d'apporter les premiers éléments sur la structure et l'ultrastructure de la pulpe de *Vipera aspis*.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Une vipère appartenant à l'espèce *Vipera aspis* a été endormie par inhalation de chloroforme pur. La tête a été sectionnée au bistouri et immédiatement fixée dans du formol neutre 1/4. Les mâchoires ont été disséquées et conservées dans le bain de fixation, pendant 3 jours à 4° C, puis décalcifiées pendant 14 jours dans un bain composé de 85% d'eau distillée, 10% de formaldéhyde, 5% d'acide nitrique.

Une mâchoire a alors été incluse dans du paraplast et des coupes de 5 µm environ d'épaisseur ont été réalisées avec un microtome Reichert-Jung. Ces coupes ont été colorées au trichrome de Masson et à l'hématoxyline phosphotungstique de Mallory.

Le premier crochet de remplacement de *Vipera aspis* a été fixé in extenso dans une solution de glutaraldéhyde, dans un tampon cacodylate à pH 7,2. La pièce a été déshydratée dans des bains d'éthanol de degré croissant, puis incluse dans un mélange de méthyle/butyle méthacrylate.

Des coupes ultra-fines ont été faites à l'aide d'un ultra-microtome MT1 Sorval Porter-Blum, équipé d'un couteau de diamant. Les observations ont été faites au microscope électronique à transmission JEOL 200 CX, sous une tension de 100 kV.

#### RÉSULTATS

##### Situation du canal pulpaire

Sur des coupes transversales, la pulpe des Vipéridés est comprise entre une couche externe de dentine épaisse recouverte d'un tissu externe calcifié et une couche interne, plus fine, qui sépare la cavité pulpaire du canal à venin (Fig. 1).

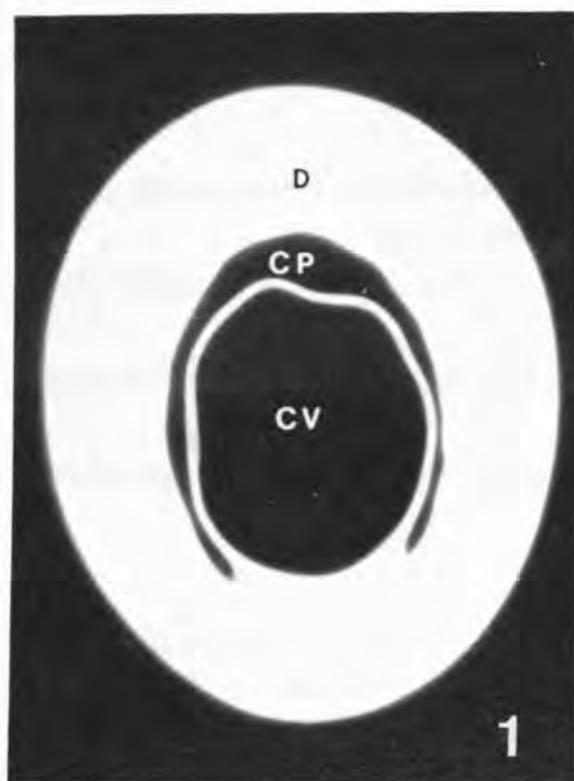


Fig. 1: Coupe transversale médiane d'un crochet (CP: canal pulpaire, CV: canal à venin, D: dentine). Microradiographie × 900 environ.

Fig. 1: Medium transverse section of a fang. Pulp canal (CP) - Poison canal (CV) - Dentine (D). Microradiography × about 900.

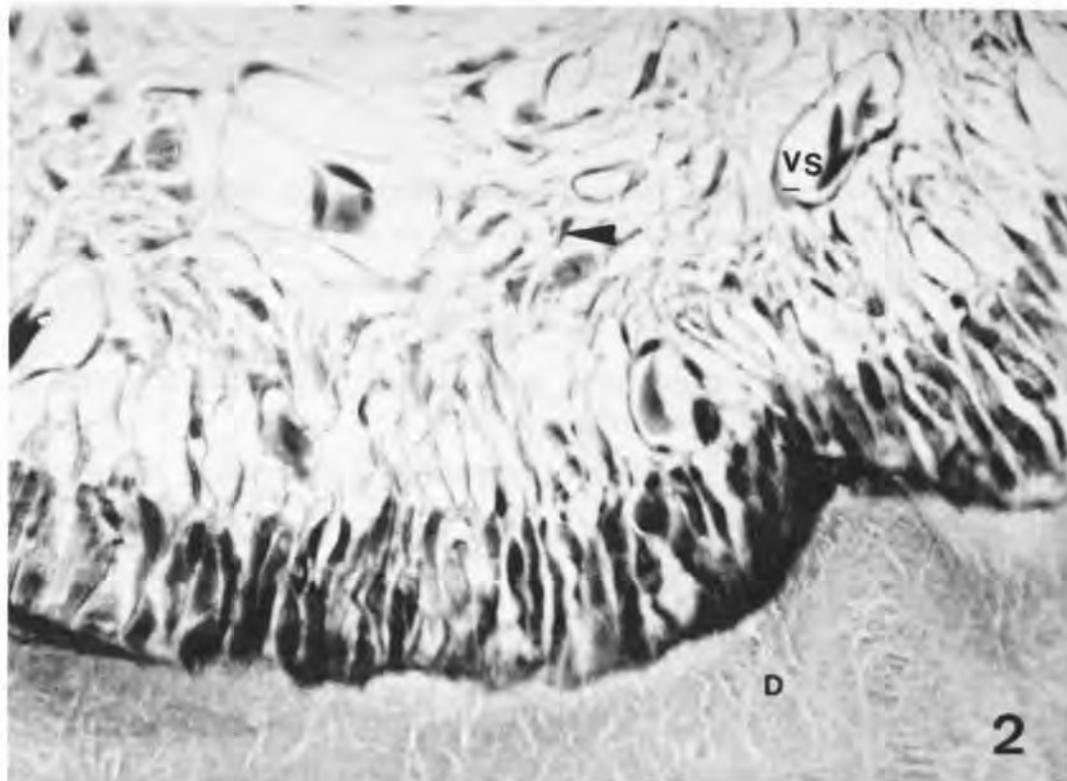


Fig. 2: Odontoblastes disposés en palissade à la périphérie de la pulpe. Remarquer la disjonction importante entre les odontoblastes. Dentine (D) - Noyau de fibroblaste (flèche) - Vaisseau sanguin (VS). Coupe décalcifiée colorée au trichrome de Masson × 800 environ.

Fig. 2: Odontoblasts arranged as a closely packed layer of columnar cells at the periphery of the pulp. Note the disjunction between the odontoblasts. Dentine (D) - Fibroblast nucleus (arrow) - Blood vessel (VS). Decalcified section, Masson's trichrome × about 800.

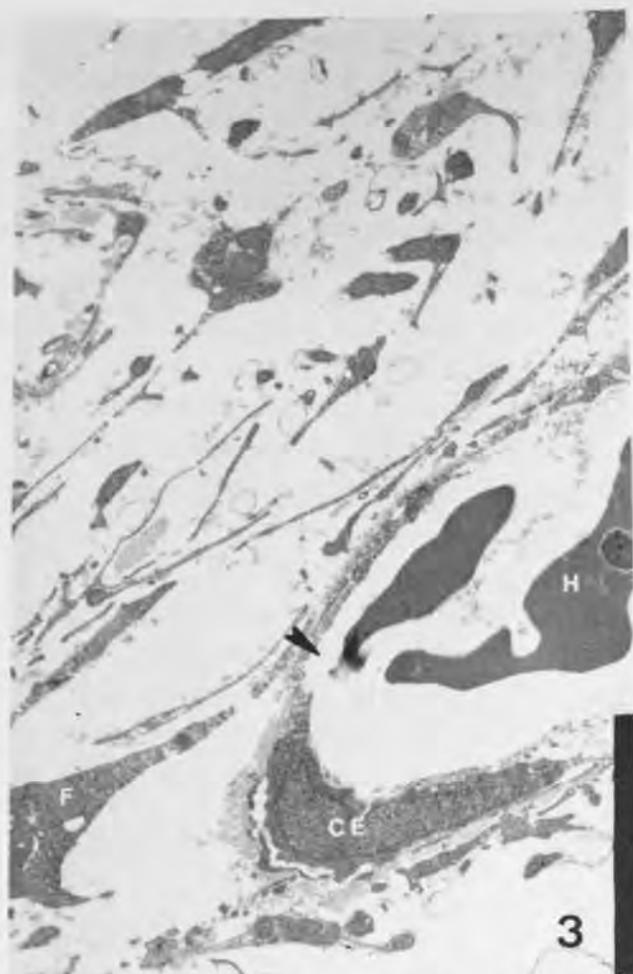


Fig. 3: Pulpe. Cellule endothéliale (CE) - Fibroblaste (F) - Vaisseau sanguin (flèche) - Hématie (H). MET  $\times$  7000 environ.

Fig. 3: Pulpe. Endothelial cell (CE) - Fibroblast (F) - Blood vessel (arrow) - Erythrocyte (H). TEM  $\times$  about 7000.

Les fibres de collagène sont peu nombreuses, le plus souvent organisées en trousseaux, qui parcourent la pulpe en toutes directions. Ces fibres sont plus nombreuses à proximité des vaisseaux, de la couche des odontoblastes et des fibroblastes (Fig. 2).

Les vaisseaux sanguins sont très importants, aussi bien en taille qu'en nombre. Les veinules se distinguent nettement des artérioles par leur intima épaisse. Leur paroi renferme les noyaux des cellules endothéliales. Les hématies sont nettement identifiables par leur nucléole énorme.

Les fibroblastes constituent la principale population cellulaire de la pulpe observable en microscopie photonique. Ils ne semblent pas organisés dans un seul plan. Leur noyau est très apparent. Autour des fibroblastes, on distingue les fibres de collagène organisées en trousseaux (Fig. 2).

Les odontoblastes se situent à la périphérie de la pulpe. Ils mesurent  $5 \mu\text{m}$  de diamètre environ et sont disposés en couche monocellulaire formant le traditionnel rempart en palissade.

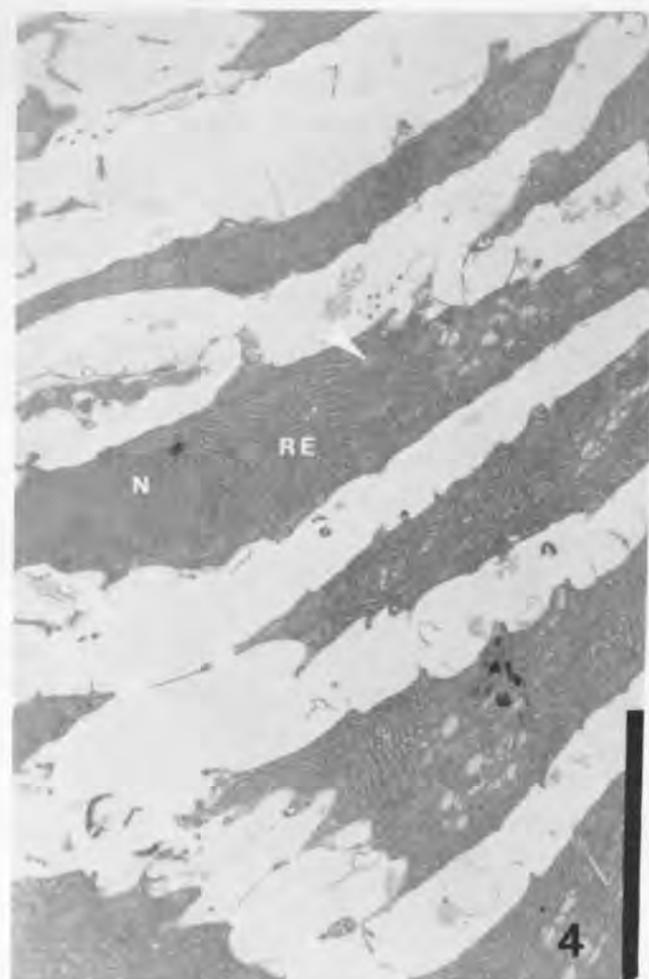


Fig. 4: Odontoblastes jeunes, non polarisés et non fonctionnels. Vésicule protéique (flèche) - Noyau (N) - Reticulum endoplasmique (RE). MET  $\times$  7000 environ.

Fig. 4: Young, unpolarized non-functional odontoblasts. Proteinic vesicle (arrow) - Nucleus (N) - Endoplasmic reticulum (RE). TEM  $\times$  about 7000.

Les odontoblastes sont très polarisés. Leur noyau, très important, est situé dans la partie basale du corps cellulaire. On observe parfois l'empreinte négative de l'appareil de Golgi.

Le corps cellulaire a une forme ovale allongée, et de fins prolongements s'insinuent dans la dentine circumpulpaire. Entre les odontoblastes, on observe parfois des vaisseaux sanguins.

La MET (Fig.3) confirme la pauvreté de la pulpe en protéines fibrillaires. On note de nombreux espaces électroniquement vides.

Les fibroblastes contiennent de nombreuses vésicules de sécrétion très denses aux électrons. Les noyaux, de grande taille, situés en position médiane, contiennent de l'hétérochromatine, la membrane nucléaire apparaît bien conservée, les mitochondries occupent une place importante.

Dans la lumière des vaisseaux, des hématies nucléées sont visibles.

Les odontoblastes possèdent un noyau très important, à l'intérieur duquel on note de nombreuses plages d'hétérochromatine localisées à la périphérie de l'enveloppe nucléaire (Fig. 4).

A l'opposé du pôle apical, presque entièrement occupé par le noyau et l'appareil de Golgi, le pôle basal contient de nombreuses mitochondries, ainsi qu'un reticulum endoplasmique lisse et granulaire et de nombreux ribosomes. A la partie la plus basale de l'odontoblaste, on trouve de très nombreuses vésicules de sécrétion et des phagolysosomes.

Les odontoblastes, généralement séparés par un espace de 0,10 à 0,15  $\mu\text{m}$  environ, ont parfois des contacts avec leurs voisins. La jonction entre les digitations latérales de deux odontoblastes adjacents semble se faire par un système de «gap junctions» (Fig. 5), visible également au niveau de la prédentine.

A distance de la prédentine, séparés d'elle par des odontoblastes fonctionnels, on observe des odontoblastes non fonctionnels (non polarisés), dont l'ultrastructure s'apparente cependant à celle des odontoblastes fonctionnels (Fig. 4).

Dans la dentine, le prolongement odontoblastique, lorsqu'il est cerné par de la prédentine et qu'il est en pleine activité, présente un cytoplasme riche en organites intracytoplasmiques. On y trouve de nombreuses mitochondries, des ribosomes et de nombreuses vésicules de sécrétion (Fig. 6 et 7). Puis, à mesure que la dentine se minéralise, le cytoplasme s'appauvrit en organites. Le cytosquelette s'organise en faisceaux et présente alors un aspect de filet à mailles très lâches. Sont également présents des lysosomes, des filaments d'actine ou des microfilaments, un reticulum endoplasmique en fin de sécrétion et de très rares mitochondries (Fig. 7).

Le prolongement odontoblastique présente souvent, à son extrémité, des sortes de bourgeonnements, qui pourraient être l'ébauche des ramifications. En section transversale, les ramifications canaliculaires apparaissent sous une forme arrondie ou ovale.

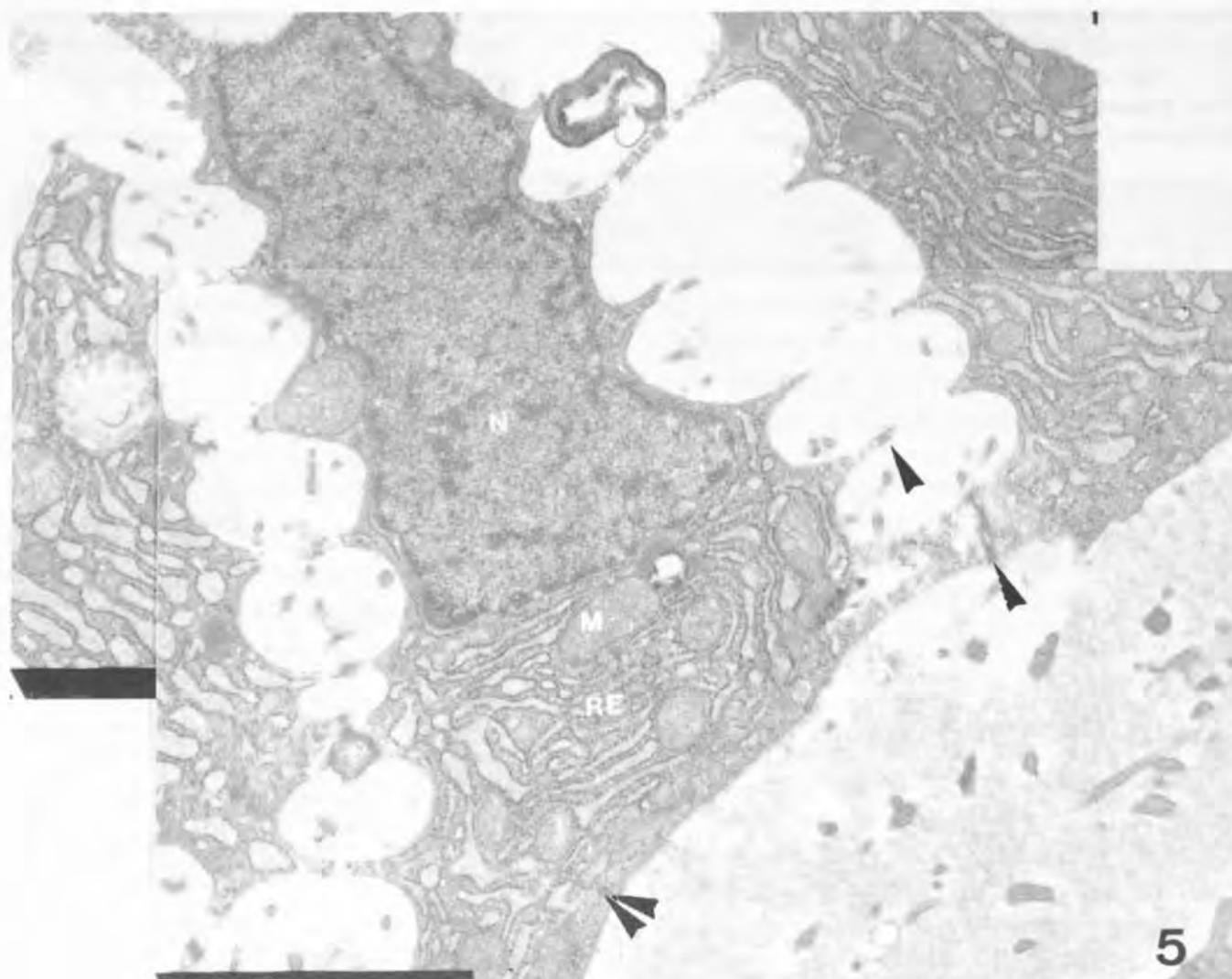


Fig. 5: Odontoblaste fonctionnel. Systèmes de «gap-junctions» (flèches) - Vésicule protéique (double flèche) - Mitochondrie (M) - Noyau (N) - Reticulum endoplasmique (RE). MET  $\times$  14000 environ.

Fig. 5: Functional odontoblast. «Gap junction» systems (arrows) - Proteinic vesicle (double arrow) - Mitochondria (M) - Nucleus (N) - Endoplasmic reticulum (RE). TEM  $\times$  about 14000.

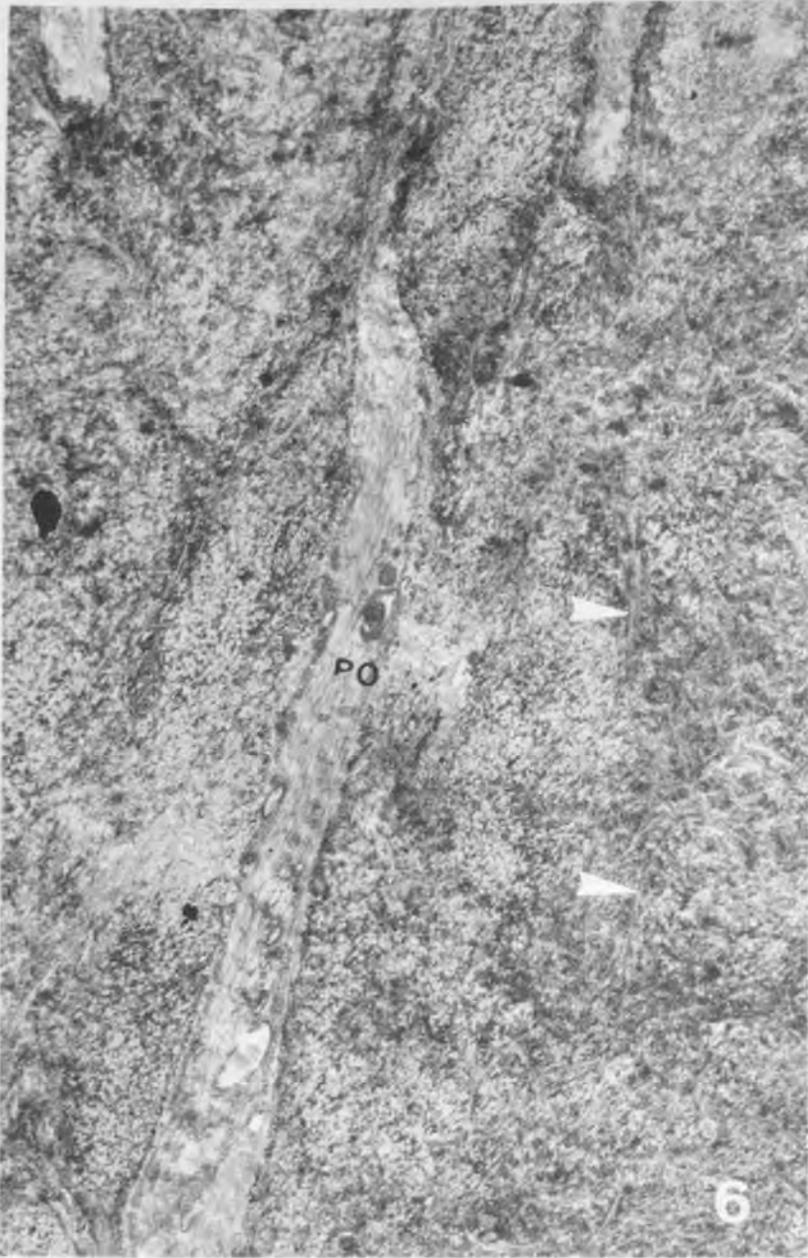


Fig. 6: Prolongement odontoblastique (PO) coupé longitudinalement. Cytoplasme riche en microfilaments. Présence de fibres de collagène incomplètement minéralisées dans la dentine (flèches). MET  $\times$  103000 environ.

Fig. 6: Odontoblastic process (PO) in longitudinal section. Note the numerous microfilaments within the cytoplasm and the incompletely mineralized collagen fibers in the dentine (arrows). TEM  $\times$  about 103000.

## DISCUSSION

Les crochets des Vipéridés ayant été peu étudiés jusqu'alors, et la pulpe, pas du tout, à notre connaissance, nous ne disposons que d'un nombre de références limité à confronter avec les résultats de notre travail.

En microscopie photonique, sur des coupes colorées au trichrome de Masson, cette pulpe, composée de trousseaux de fibres de collagène, d'odontoblastes polarisés, rangés en palissade à la périphérie et de vaisseaux, apparaît semblable à celle des dents humaines (Ten Cate, 1980; Provenza et Seibel, 1986). Cependant, à la différence de la pulpe des dents humaines, celle des Vipéridés se caractérise par une

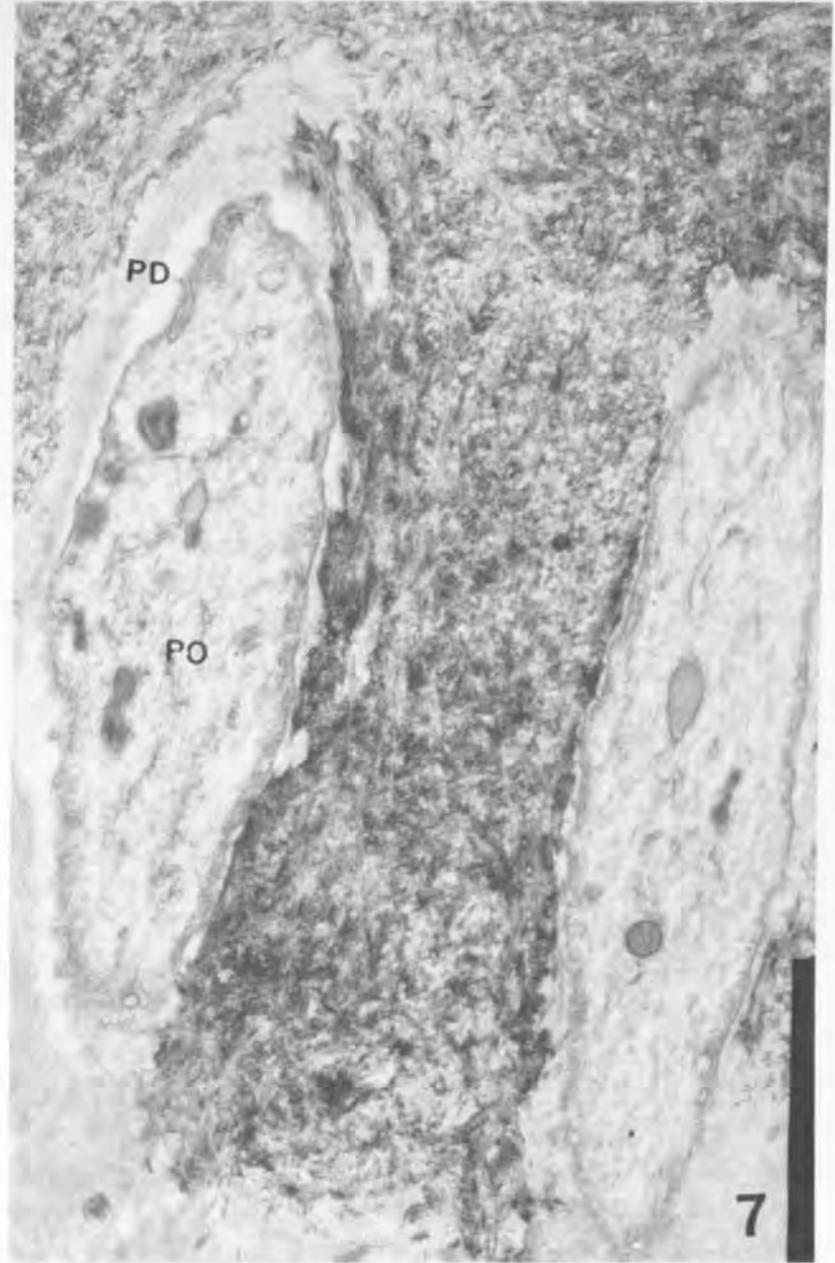


Fig. 7: Prolongements odontoblastiques coupés transversalement. Remarquer la présence d'organites dans le cytoplasme d'un ds prolongements odontoblastiques (PO) partiellement entouré de prédentine (PD). MET  $\times$  176000 environ.

Fig. 7: Odontoblastic processes in transverse section. Note the organelles within the cytoplasm of an odontoblastic process (PO) partially surrounded with predentine (PD). TEM  $\times$  about 176000.

relative pauvreté en fibres de collagène et en fibroblastes et par une vascularisation abondante. De plus, les odontoblastes fonctionnels apparaissent disjoints, même en tenant compte des artefacts de fixation et de préparation: la microscopie électronique à balayage confirme cette donnée, qui peut s'expliquer par le nombre restreint d'odontoblastes en périphérie de la pulpe, et par la faible densité des canalicules dentinaires.

Selon Provenza et Seibel (1986), il est possible qu'une des fonctions des odontoblastes soit la production de fibrilles pulpaire, très nombreuses dans la pulpe des dents humaines (Holland, 1985). Dans le cas de Vipéridés, le petit nombre d'odontoblastes pourrait donc être une des causes de la pauvreté de la

pulpe en fibres de collagène. Il est possible également qu'il existe, dans la pulpe des Vipéridés, des fibres d'une autre nature que celle des dents humaines, et que les méthodes de la microscopie classique ne permettent pas d'identifier.

L'ultrastructure de l'odontoblaste, chez les Vipéridés, est semblable à celle des odontoblastes des dents humaines: il s'agit de cellules polarisées, avec un noyau énorme, un reticulum endoplasmique abondant et de très nombreuses mitochondries.

Observés au microscope électronique à transmission, les odontoblastes sont liés par des systèmes de «gap junctions» par des expansions latérales. Baume (1980) et Sasaki et coll. (1982), dans les odontoblastes des dents humaines, et Garant (1972), chez le rat, ont décrit des systèmes semblables. Ces «gap junctions» permettent la communication de cellule à cellule (Ruch, 1985).

Fonctionnels dans la pré-dentine, les prolongements odontoblastiques, dans la dentine minéralisée, présentent un aspect dégénératif: cytoplasme pauvre en organites, reticulum endoplasmique en fin de sécrétion, mitochondries fort peu nombreuses. L'explication pourrait en être que, contrairement aux prolongements odontoblastiques dans les dents humaines, qui ont un rôle vital dans la transmission des stimuli (Ten Cate, 1980; Holland, 1985; Provenza et Seibel, 1986), ceux des Vipéridés ne servent qu'à la production de dentine.

## RÉFÉRENCES

- Anthony, J.** — Anatomie dentaire comparée. Paris, 1973, Julien Prélat.
- Baume, L.J.** — The biology of pulp and dentine. In: Myers, M.: Monograph in Oral Science. Basel, 1980, S. Krager.
- Frazetta, T.H.** — Studies on the morphology and function of the skull in the Bovidae (Serpentes). Part II. Morphology and function of the jaw apparatus in Python Sebae and Python Molurus. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, 118: 217-296, 1966.
- Garant, P.R.** — The organization of microtubules within rat odontoblast processes revealed by perfusion fixation with glutaraldehyde. *Arch. Oral Biol.*, 17: 1047-1058, 1972.
- Guibe, J.** — La systématique des Reptiles actuels. In: Grassé, P.P.: Traité de Zoologie. Paris, Masson, Tome XIV, fasc. II et III: 1054-1061 et 1125-1150, 1970.
- Holland, G.R.** — The odontoblasts process: form and function. *J. Dent. Res.*, 64 (spec. Iss.): 499-514, 1985.
- Nessi De Avinon, A.L. Boero, N.N., Vogt, A.U.** — Morphological changes in the bothrops. Alternatus inoculating tooth as maturation proceeds. *A scanning electron microscopic study, Comun. Biol.*, 4: 367-376, 1986.
- Owen, R.** — Odontography. London, 1840, Baillière, 2 vols LXXIV.
- Phisalix, M.** — Animaux venimeux et leurs venins. Paris, 1922, Masson, 336-399.
- Poole, D.F.G.** — The structure of the teeth of some Mammal-like Reptiles. *J. Microsc. Sc.*, 97: 303-312, 1956.
- Poole, D.F.G.** — The formation and properties of the organic matrix of reptilian tooth enamel. *J. Microsc. Sc.*, 98: 349-367, 1957.
- Provenza, D.V., Seibel, W.** — Oral Histology, Inheritance and Development, 2d ed., Philadelphia, 1986, Lea and Febiger.
- Ruch, J.V.** — Odontoblasts differentiation and the formation of the odontoblast layer. *J. Dent. Res.*, 64 (spec. iss.): 489-498, 1985.
- Sasaki, T., Nakagawa, K., Higashi, S.** — Ultrastructure of odontoblasts in kitten tooth germs as revealed by freeze-fracture. *Arch. Oral Biol.*, 27: 897-904, 1982.
- Schmidt, W.J., Keil, A.** — Polarizing Microscopy of Dental Tissues. Oxford, Jushes Liebig Universitt Gressen, 1971, Pergamon Press.
- Ten Cate, A.R.** — Oral Histology, Structure, Development and Function. Canada, 1980, Mosby.
- Tomes, C.S.** — On the structure and development of the teeth of Ophidia. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.*, 165: 297-302, 1875.
- Tomes, C.S.** — A Manual of Dental Anatomy, Human and Comparative, London, 1923, J. et A. Churchill.
- Vaeth, R.H., Rossman, D.A., Shoop, W.** — Observation of tooth morphology in Snakes. *J. Herpetol. (U.S.)*, 20-26, 1985.

Reprint requests (Tirés à part): Dr. A.L. Kattie. Unité 225 INSERM, Faculté de Chirurgie Dentaire, Place Alexis Ricordeau, 44042 Nantes (France).