

# Examen au microscope photonique et au microscope électronique des capillaires lymphatiques de la pulpe dentaire humaine

MARCHETTI, C, PIACENTINI, C.\*

*Institut d'Histologie et d'Embryologie Générale de l'Université de Pavie. Via Forlanini, 10 - 27100 Pavia (Italie).*

*\* Clinique Odontostomatologique de l'Université de Pavie Policlinico San Matteo - 27100 Pavia (Italie).*

## RÉSUMÉ

L'examen au microscope photonique a mis en évidence un réseau de capillaires lymphatique qui s'étend surtout dans la région sub-odontoblastique de la pulpe. Ces vaisseaux sont reconnaissables à leur paroi très mince et au profil très irrégulier avec saillies et échancrures soit vers la lumière vasale, soit vers l'extérieur ainsi que par leur lumière plus grande que celle des capillaires sanguins.

A l'examen ultrastructural, la paroi des capillaires lymphatiques apparaît constituée d'une mince lamelle endothéliale au profil irrégulier à cause des nombreuses invaginations vers la lumière du vaisseau et des évaginations vers l'interstitium. Le cytoplasme des cellules endothéliales est riche d'un certain nombre d'organites localisés surtout dans la région périnucléaire. La soudure entre les cellules endothéliales est assurée par divers dispositifs, parfois complexes, d'adhésion entre les bords cellulaires voisins. On a également observé des formations « en forme de poche » dans l'épaisseur de la paroi endothéliale. Ces formations sont déterminées par la superposition de bords de cellules endothéliales contiguës.

## MOTS-CLES:

Lymphatiques - Pulpe dentaire - Ultrastructure.

## SUMMARY

The existence and the morphological characteristics of the lymphatic capillaries of the dental pulp have been and are yet discussed. In this study the morphological properties of the lymphatic capillaries of the healthy human dental pulp have been described at light and electron microscopy. For the investigation human enclosed incisive and canine teeth surgically extracted and permanent premolars extracted for orthodontic reasons were used. On semithin sections the lymph capillaries are detectable as vessels of 15-50 microns in diameter with a very irregular shape and a subtle wall. No pericytes or muscular cells surround the endothelial lining. At ultrastructural level the lymph capillaries show a very thin and indented wall with protrusions towards the vessels lumen or the interstitium. The connections between adjacent endothelial cells are different and variously shaped: end to end contacts, overlapping between cellular protrusions and complex interdigitations among multiple protrusions of the endothelial cells. Sometimes the overlappings between endothelial cells determine intraparietal channels in communications with the interstitium and the vessel lumen. A discontinuous basal lamina and a network of filaments and fibrils surround the endothelial wall. Between the cytoplasmic organelles micropinocytotic vesicles, multivesicular bodies and the Weibel-Palade bodies are present.

## KEY WORDS:

Lymphatic - Dental pulp - Ultrastructure.

## INTRODUCTION

L'existence et les caractéristiques d'un réseau lymphatique dans la pulpe dentaire ont fait et font encore, en partie, l'objet de discussions.

Des recherches au microscope photonique ont révélé la présence d'un réseau capillaire lymphatique qui s'étend surtout dans la région sub-odontoblastique ainsi que des vaisseaux collecteurs qui sont présents dans la zone la plus interne de la pulpe. Dans la plus grande partie de ces recherches, les vaisseaux lymphatiques ont été distingués des vaisseaux sanguins au moyen de marquages avec des colorants ou des solutions contenant du charbon colloïdal (Dewey et Noyes, 1917; Magnus, 1922; Mac Gregor, 1936; Ruben et al, 1971). Dans d'autres recherches au microscope, le réseau lymphatique a été mis en évidence sans devoir recourir au marquage (Bernick et Patek, 1969; Bernick, 1977).

Les recherches ultrastructurales concernant les caractéristiques morphologiques des capillaires lymphatiques de la pulpe dentaire sont encore peu nombreuses et incomplètes. Au microscope électronique on a observé des capillaires lymphatiques dans la pulpe dentaire du veau. Une paroi très mince et irrégulière ainsi que la présence d'espaces clairs autour du vaisseau sont les principales caractéristiques morphologiques qui ont été relevées à la suite de ces observations (Kukletova, 1970). A la faveur de recherches au microscope électronique sur le microcircuit sanguin, on a décrit des capillaires aux caractéristiques morphologiques semblables à celles des capillaires lymphatiques d'autres organes (Dahal et Mior, 1973). En outre, des capillaires lymphatiques avec de nombreuses et plutôt amples ouvertures dans les jonctions entre les cellules endothéliales ont été décrits dans la pulpe dentaire humaine enflammée (Frank et al, 1977).

Il faut toutefois rappeler que, même dans de récentes études, l'existence dans la pulpe dentaire de véritables capillaires lymphatiques munis de paroi endothéliale, a été mise, une fois encore, en discussion (Heyeraas, 1989).

A la lumière de toutes ces données, le but de cette recherche a été celui de démontrer la présence de capillaires lymphatiques dans la pulpe dentaire humaine, sans avoir recours aux techniques de marquage. En outre, on a examiné et décrit les caractéristiques morphologiques ultrastructurales de ces vaisseaux étudiés dans des tissus normaux. Les résultats obtenus ont été confrontés et discutés avec ceux qui existent déjà dans la littérature.

## MATERIEL ET METHODES

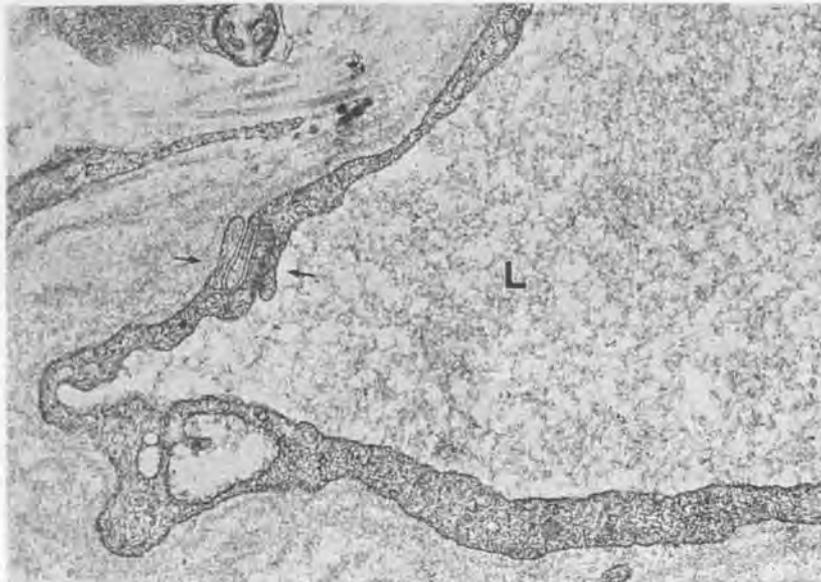
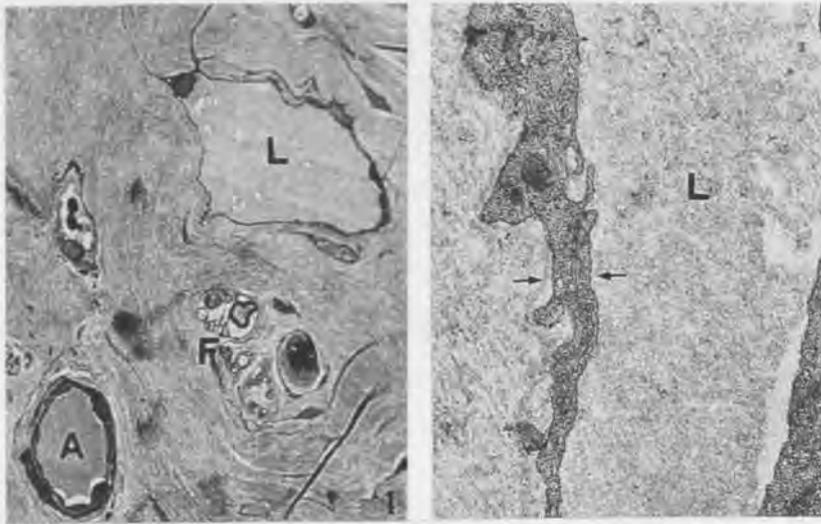
Au cours de notre recherche, nous avons utilisé des incisives et des canines incluses obtenues par extraction chirurgicale et des prémolaires permanentes saines extraites pour des motifs orthodontiques. Immédiatement après leur extraction, les dents ont été immergées dans de l'azote liquide à refroidir durant environ deux minutes et ensuite elles ont été cassées longitudinalement. On les a ensuite plongées dans le fixateur, un mélange de glutaraldéhyde (2%) et paraformaldéhyde (2,5%) en tampon cacodylate de sodium 0,1 M, pH 7,4, à 4°C pendant une heure. On a ensuite enlevé les pulpes de la chambre pulpaire, on les a immergées à nouveau dans le même fixateur pendant trois autres heures et on les a ensuite soumises à une deuxième fixation dans du tétroxyde d'osmium Os O<sub>4</sub> (1,33%) dans du tampon s-collidine à 4°C pendant une heure trente minutes. Après la fixation, les échantillons ont été déshydratés et inclus dans de l'Epon 812.

La reconnaissance au microscope photonique des capillaires et des vaisseaux lymphatiques a été effectuée sur des coupes semi-fines. L'examen ultrastructural a été conduit sur des coupes ultra-fines de 70-80 nm d'épaisseur, colorées avec acétate d'uranyle et citrate de plomb. Sur certains échantillons on a effectué des coupes ultra-fines en série pour un examen tridimensionnel de la paroi endothéliale des capillaires lymphatiques.

## RÉSULTATS

### *Microscopie photonique.*

Dans les coupes semi-fines, les capillaires lymphatiques se présentent comme de petits vaisseaux de 15 à 50  $\mu$  de diamètre, de forme très irrégulière et aux parois très minces (Fig. 1). A l'extérieur de la paroi on ne rencontre ni péricytes ni cellules musculaires ou autres revêtements externes. Ces caractéristiques font que les capillaires lymphatiques sont reconnaissables et se distinguent des capillaires sanguins qui ont une lumière plus réduite et régulière et des veinules. Les capillaires lymphatiques sont parfois associés, sur leur parcours, à des artères, à des veinules et aussi à de petits faisceaux de fibres nerveuses. Dans la région la plus interne de la pulpe on trouve aussi des vaisseaux plus amples avec des parois plus épaisses que l'on peut classer comme des collecteurs lymphatiques.



### Microscopie électronique.

A l'examen ultrastructural les capillaires lymphatiques présentent une paroi très découpée avec de fréquentes saillies vers la lumière du vaisseau ou vers l'interstice. Cette paroi résulte être constituée par des cellules endothéliales très minces (Fig. 2, 3) à l'exception des régions périnucléaires et dans les zones de jonctions intercellulaires très complexes (Fig. 4). Une membrane basale mince, parfois discontinue, recouvre la surface extérieure de la paroi des capil-

Fig. 1: Microphotographie au microscope d'un ample capillaire lymphatique (L) avec paroi mince et découpée.

A = artère; F = fibre nerveuse; Grossissement: 700x

Fig. 1: Light microscopy microphotography of a large lymph capillary (L) with a subtle and indented wall.

A = artery; F = nervous fibers. 700x

Upper lateral supernumerary incisor. Crown hypoplasia.

S.E.M. x35.

Fig. 2 et 3: Micrographies électroniques de capillaires lymphatiques (L). Dans les minces parois endothéliales sont présentes des jonctions intercellulaires (flèches). Elles sont constituées par la superposition (Fig. 2) et par l'emboîtement (Fig. 3) des bords cellulaires rapprochés.

Gross. Fig. 2 = 13.500x

Gross. Fig. 3 = 24.000x

Fig. 2-3: Electron micrographies of lymph capillaries (L). In the subtle endothelial wall intercellular adjoining areas are present (arrows). An overlapping (Fig. 2) and an infolding between multiple cellular protrusions (Fig. 3) are shown.

Fig. 2: 13500x

Fig. 3: 24000x

Fig. 4: Organites cytoplasmiques de cellules endothéliales dans une région avec une jonction intercellulaire complexe. Des mitochondries, des vésicules de micropinocytose, des saccules d'ergastoplasme, certains « corps de Weibel-Palade » (flèches) et un corps multivésiculaire (tête de la flèche) sont présents.

Gross. = 30.000x

Fig. 4: Electron micrography. Different cytoplasmic organelles in a complex intercellular adjoining area: mitochondria, RER cisternae, micropinocytotic vesicles, Weibel-Palade bodies (arrows), and a multivesicular body (arrowhead).

30000x

laires lymphatiques. Cette membrane est en relation avec un fin réseau de filaments d'ancrage et avec de minces fibrilles qui se lient avec les fibres collagènes qui les entourent et s'étendent en faisceaux denses et entrelacés. Les fibroblastes de la pulpe ne sont jamais en rapport direct avec les parois vasculaires, leurs étroits prolongements s'insinuent entre les fibres qui entourent la paroi des capillaires mais ils ne viennent jamais en contact avec celle-ci. La soudure entre les cellules endothéliales contiguës est assurée par différents dispositifs de jonction. On peut en effet obser-

ver les trois types de jonctions intercellulaires déjà décrits dans la paroi endothéliale des capillaires lymphatiques d'autres organes: le simple rapprochement des bords cellulaires, leur superposition et l'emboîtement entre protrusions multiples provenant de cellules voisines. Dans ces zones de soudure intercellulaire on rencontre des jonctions spécialisées du type desmosome ou du type «tight junction». Ces structures d'adhésion sont présentes avec une égale fréquence en s'alternant dans la paroi d'un même vaisseau (Fig. 2, 3). Les jonctions «ouvertes» sont, au contraire, peu fréquentes, il s'agit de fissures, même amples, dans les confins intercellulaires qui déterminent des ouvertures dans la paroi endothéliale avec communication directe entre le vaisseau et l'interstice. En observant les coupes sériées on peut noter que le profil de la paroi des capillaires lymphatiques change rapidement à cause du parcours sinueux et irrégulier de ces vaisseaux. Il est également possible de fixer certaines caractéristiques morphologiques complexes et intéressantes de la paroi. En comparant les images en série on peut en effet relever que dans les zones de superposition ou d'emboîtement entre les bords de cellules voisines, parfois ces derniers n'adhèrent pas complètement mais ils délimitent des sortes de poches (Fig. 5). Il résulte donc que celles-ci constituent des espaces ou canaux contenus dans l'épaisseur de la paroi endothéliale. Ces canaux intrapariétaux s'ouvrent vers l'interstice par d'amples communications alors que, vers la lumière vasale, la communication est généralement réglée par des jonctions intercellulaires spécialisées. Les cellules endothéliales, tout en étant minces, présentent une certaine variété d'organites cytoplasmiques particulièrement dans les zones périnucléaires. On y rencontre des mitochondries, des ribosomes, des saccules d'ergastoplasme et des appareils de Golgi. On y relève la présence constante de vésicules de micropinocytose sur les deux versants de la paroi endothéliale et de vésicules cytoplasmiques intermédiaires. Des microfilaments sont aussi présents ainsi que des corps multivésiculaires et des structures morphologiquement semblables aux «corps de Weibel-Palade» (Fig. 4).

## DISCUSSION

Dans les coupes semi-fines préparées pour le microscope photonique on peut reconnaître les capillaires lymphatiques des capillaires sanguins et des petites veines par leurs caractéristiques morphologiques. Ceci rend, à notre avis, non nécessaire le marquage

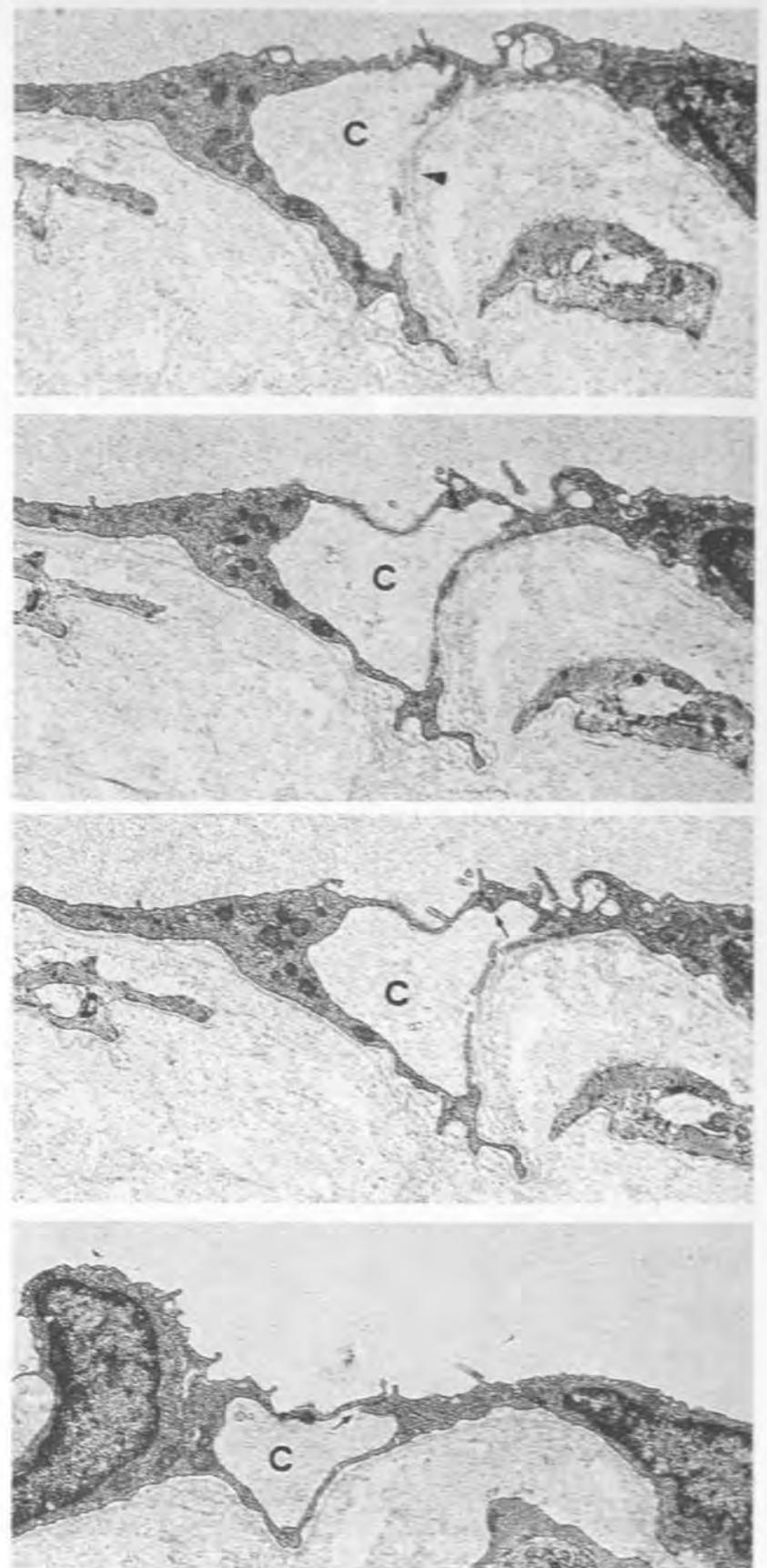


Fig. 5: Micrographie électronique. Images de certaines coupes en série où on montre la formation d'un canal intra-pariétal (C) constitué par la superposition de bords de cellules endothéliales adjacentes. A une extrémité le canal présente une ample communication vers l'interstice (tête de la flèche). La communication avec la lumière vasale est réglée par des jonctions intercellulaires (flèches). La trame de filaments et de fibrilles périvasales reste à l'extérieur du canal. Gross. = 9.000x  
 Fig. 5: Electron micrographies of some sections from a serial set. An intraparietal channel (C) determined by the overlapping of adjacent cells is shown. At one end the channel is open towards the interstitial space with a large cleft (arrowhead). Intercellular junctional complexes define the communication with the lumen (arrows). 9000x

des vaisseaux lymphatiques par des colorants, méthode qui n'est pas toujours tout à fait fiable. Nos recherches au microscope électronique ont confirmé certaines données de la littérature au sujet de la morphologie des capillaires lymphatiques de la pulpe dentaire mais elles ont révélé d'autres caractéristiques importantes du point de vue fonctionnel.

Les formations multivésiculaires et les corps de Weibel-Palade, structures qui ont été observées pour la première fois dans l'endothélium des capillaires sanguins, ont été aussi décrites plus récemment dans les cellules endothéliales des capillaires lymphatiques (Poggi, 1986). Ces structures sont souvent localisées aux environs des zones de jonction intercellulaire mais leur signification fonctionnelle résulte actuellement encore inconnue.

Dans nos préparations, les espaces clairs périvasculaires, décrits par d'autres auteurs (Kukletova, 1970), ne sont pas présents. Au contraire, une étroite connexion entre les filaments d'ancrage, les fibrilles périvasculaires et les faisceaux de fibres collagènes de la pulpe, résulte toujours évidente. Ceci confirmerait que dans la pulpe dentaire aussi, tissu très lâche, la composante fibrillaire en contact avec la paroi vasculaire peut jouer un rôle important qui influence l'état de distension des capillaires lymphatiques.

Dans nos préparations, les jonctions intercellulaires ouvertes sont à peu près absentes, contrairement à ce

qui a été observé par d'autres auteurs, mais dans un tissu pulpaire enflammé (Frank et al., 1977). Cette donnée confirme ce que nous avons observé dans un autre organe en des conditions normales et en des conditions d'oedème interstitiel (Marchetti et al., 1988). Dans le tissu en conditions normales, le passage de fluides et de macromolécules, de l'interstice aux capillaires lymphatiques, est assuré par les vésicules de micropinocytose et par les dispositifs jonctionnels spécialisés qui existent entre les cellules. Ces structures sont en effet présentes en abondance également dans les capillaires lymphatiques pulpaire que nous avons examinés en des conditions normales. Par contre, dans le tissu oedémateux, le nombre des jonctions ouvertes augmente, à cause de la demande accrue de drainage lymphatique de la part du tissu.

En outre, les structures en forme de poche déterminées par la superposition de cellules contiguës, se révèlent intéressantes du point de vue fonctionnel. Celles-ci forment des canaux dans l'épaisseur de la paroi endothéliale qui peuvent représenter des voies préférentielles, mais contrôlées, de transport transendothélial. Ces structures ont été observées également dans la paroi endothéliale de capillaires lymphatiques d'un autre organe (Marchetti et al., 1987) et on peut par conséquent les considérer comme faisant partie des mécanismes de passage de substances dans le processus de formation de la lymphe.

## BIBLIOGRAPHIE

Bernik, S., Patek, P.R. — Lymphatic vessels of the dental pulp in dogs. *J. Dent. Res.*, 48: 959-964, 1969.

Bernik, S. — Lymphatic vessels of the human dental pulp. *J. Dent. Res.*, 56: 70-77, 1977.

Dahl, E., Mjor, I. — The fine structure of the vessels in the human dental pulp. *Acta Odont. Scand.*, 31: 223-230, 1973.

Dewey, K., Noyes, F.B. — A study of the lymphatic vessels of the dental pulp. *Dent. Cosmos.*, 59: 436-444, 1917.

Frank, R.M., Wiedermann, P., Fellingner, E. — Ultrastructure of lymphatic capillaries in the human dental pulp. *Cell. Tiss. Res.*, 178: 229-238, 1977.

Heyeraas, K.J. — Pulpal hemodynamics and interstitial fluid pressure: balance of transmicrovascular fluid transport. *J. Endodont.*, 15: 468-472, 1989.

Kukletova, M. — An electron microscopic study of the lymphatic vessels in the dental pulp in the calf. *Arch. Oral. Biol.*, 15: 1117-1124, 1970.

MacGregor, A. — An experimental investigation of the lymphatic system of the teeth and jaws. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 29: 1237-1272, 1936.

Magnus, G. — Uber den Nachweis der Lymphgefäße in der Zahnpulpa. *Dtsche Mschr Zahnheilk.*, 40: 661-670, 1922.

Marchetti, C., Poggi, P., Calligaro, A., Casasco, A. — Ultrastructural study of the adjoining areas between the endothelial cells of the rabbit heart lymph vessels. *J. Submicrosc. Cytol.*, 19: 465-469, 1987.

Marchetti, C., Poggi, P., Calligaro, A., Arbustini, E. — Lymphatic system in human dilated cardiomyopathy. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 20: 701-708, 1988.

Poggi, P., Marchetti, C., Calligaro, A., Casasco, A. — Cytoplasmic bodies in lymphatic endothelial cell. *Lymphology*, 19: 125-129, 1986.

Ruben, M.P., Prieto-Hernandez, J.R., Gott, F.K., Kramer, G.M., Bloom, A.A. — Visualization of lymphatic microcirculation of oral tissues. *J. Period.*, 42: 774-784, 1981.

Correspondance: C. Marchetti, Istituto di Istologia ed Embriologia Generale, Via Forlanini, 10, 27100 Pavia, Italie.