

# Contribution de la mise en évidence du système des fibres élastiques à l'étude des lésions fibromateuses de la muqueuse orale

N. DOUROV

*Laboratoire d'Anatomie Pathologique et de Microscopie Electronique. Faculté de Médecine. Université Libre de Bruxelles.*

## RÉSUMÉ

La mise en évidence du système des fibres élastiques par l'orcéine après oxydation par le peroxymonosulfate de potassium dans des lésions fibromateuses de la muqueuse orale ne nous a montré qu'une faible quantité de fibres orcéine + dans la plupart des lésions. Une richesse importante de telles fibres n'a été observée que dans 5 de nos 20 cas de fibromes réactionnels. Par ailleurs, les fibres orcéine + sont totalement absentes dans les foyers inflammatoires.

Ces observations posent le problème de l'élastogénèse par le fibroblaste au cours des processus cicatriciels et néoplasiques et mettent l'accent sur le rôle joué par des enzymes protéolytiques au cours des inflammations.

## MOTS-CLÉS:

Fibres élastiques - fibres oxytalanes - fibromes - muqueuse orale.

## SUMMARY

The elastic fibers system, as visualised by orcein after potassium peroxymonosulfate oxidation in fibromatous lesions of the oral mucosa, is generally sparse. Rich orcein + fibers network was observed in only 5 of our 20 cases of reactive fibromas. Orcein + fibers are absent in the inflammatory areas.

These observations rise the problem of the elastogenesis by the fibroblast in healing and neoplasia, and confirm the role played by the proteolytic enzymes during inflammation.

## KEY WORDS:

Elastic fibers - oxytalan fibers - fibromas - oral mucosa.

## I. INTRODUCTION

L'attention n'est pas habituellement attirée par les fibres élastiques éventuellement présentes dans le tissu conjonctif lors d'un examen histologique de routine. En effet, les colorations usuelles privilégient essentiellement les fibres de collagène, les membranes basales et des cellules telles que les fibroblastes et des éléments inflammatoires.

Pourtant, les fibres élastiques peuvent être mises en évidence aisément grâce à des techniques très simples comme l'orcéine par exemple. Une oxydation énergétique préalable s'est révélée être une étape indispensable pour démontrer l'existence de tout un véritable système de fibres élastiques constitué non seulement par les fibres élastiques proprement dites mais aussi par les fibres oxytalanes et les fibres élaunines (Fullmer et Lillie, 1958).

La microscopie électronique et l'ontogénèse ont confirmé à la fois l'entité de ces sous-unités qui représenteraient en outre des étapes successives de l'élastogénèse (Cotta-Pereira et al., 1976; Takagi et coll., 1984; Ghadially, 1988; Isokawa et coll., 1990).

Des travaux déjà anciens ont été consacrés à l'étude du système des fibres élastiques dans les tissus oraux. Rappelons que c'est dans le ligament alvéolo-dentaire que les fibres oxytalanes ont été décrites pour la première fois (Fullmer et Lillie, 1958).

Nous avons pour notre part étudié l'élastogénèse au cours de la cicatrisation par seconde intention des plaies expérimentales linguales chez le rat (Dourov et coll., 1989) et nous avons eu l'occasion de mettre en évidence l'accumulation des fibres élastiques dans la sous-muqueuse linguale en rapport avec le vieillissement, et cela aussi bien chez l'homme que chez le rat (Dourov et coll. 1989).

Instruits par les résultats de ces deux études successives, nous avons voulu reprendre un travail que nous avons déjà présenté à Palerme en 1987 sur le système des fibres élastiques en pathologie orale, mais en nous limitant aux lésions de nature fibromateuses que le pathologiste a l'occasion de rencontrer dans la bouche.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons disposé de 55 prélèvements biopsiques effectués dans les Services de Stomatologie de l'Hôpital Universitaire Saint Pierre à Bruxelles (Prof. R. Mayer).

Ces prélèvements se répartissent comme suit (Tableau 1):

30 lésions fibromateuses, dont 20 fibromes réactionnels, 2 cas d'hypertrophie gingivale secondaire à la prise d'hydantoïne, 2 fibromes vrais et 6 cémentofibromes;

15 lésions granulomateuses, dont 10 granulomes pyogènes et 5 granulomes réparateurs à cellules géantes.

10 lésions de nature inflammatoire portant au niveau des gencives.

Ces prélèvements ont fait l'objet d'une fixation au formol à 10% ou dans le liquide de Bouin. Après inclusion à la paraffine, les coupes à 7  $\mu$ m ont été colorés par l'hématoxyline éosine d'une part pour les examens de routine, et par l'orcéine d'autre part pour la mise en évidence du système des fibres élastiques. Les coupes ont d'abord été soumises à une oxydation préalable dans une solution à 10% de peroxy-monosulfate de potassium (Oxone®) pendant 10

minutes. Après rinçage à l'eau distillée, les coupes sont plongées dans un bain d'orcéine à 1% dans une solution d'alcool chlorhydrique.

Des coupes non oxydées au préalable ont servi de contrôles.

#### TABLEAU 1:

Nombre de cas ayant fait l'objet d'une mise en évidence du système des fibres élastiques par l'orcéine après oxydation par le peroxy-monosulfate de potassium.

#### TABLE 1:

Number of cases which are submitted to a visualisation of the elastic fibers system by orcein after an oxidation by potassium peroxy-monosulfate.

#### SYSTÈME DES FIBRES ÉLASTIQUES

##### - DANS LES LÉSIONS FIBROMATEUSES DE LA MUQUEUSE ORALE:

= 30 cas.

FIBROMES REACTIONNELS	20
HYPERTROPHIE / HYDANTOÏNE	2
FIBROMES VRAIS	2
CEMENTOFIBROMES	6.

##### - DANS LES LÉSIONS GRANULOMATEUSES:

= 15 cas.

GRANULOMES PYOGENES	10
GRAN. REPARAT. A CELL. G.	5.

##### - DANS LES LÉSIONS INFLAMMATOIRES:

GINGIVITES:	10.
-------------	-----

#### RÉSULTATS

Dans les 30 cas de lésions fibromateuses de la muqueuse orale que nous avons eu l'occasion d'examiner, nous n'avons observé que 2 fibromes « vrais », c'est à dire des lésions manifestement néoplasiques caractérisées par une prolifération fibroblastique nette. Nous avons retenu 6 cas de cémentofibromes définis par la présence de masses polycycliques de tissu ostéoïde apparaissant « tissé » en lumière polarisée. Les 20 cas de fibromes dits « réactionnels » que nous avons relevés se présentent histologiquement comme une sorte de chéloïde, car il sont constitués essentiellement par des trousseaux de fibres de collagène occupant le conjonctif superficiel et profond. Nous avons introduit dans nos 30 cas de lésions fibromateuses 2 biopsies portant sur des hypertrophies gingivales consécutives à la prise de dérivés de l'hydantoïne.

Nous avons porté également notre attention sur des épulis correspondant à des granulomes pyogènes (ou botryomycomes) dans 10 cas et à des granulomes réparateurs périphériques à cellules géantes dans 5 cas.

Enfin, nous avons étudié par comparaison les fibres élastiques dans des gencives normales et dans 10 cas de gencives remaniées par des phénomènes inflammatoires plus ou moins importants.

La richesse en fibres élastiques, élaunines et oxytalanes a été estimée d'une façon semi-quantitative, en donnant comme appréciation  $\pm 0$  pour la présence exceptionnelle, voire même nulle de fibres élastiques, + pour la présence de quelques fibres élastiques identifiables et ++ pour la présence d'un grand nombre de fibres élastiques.

Les résultats sont résumés dans le tableau 2.

TABLEAU 2:

Appréciation semi-quantitative de la richesse en fibres élastiques. On constate que le système des fibres élastiques est en général pauvrement représenté. Seuls 5 cas de fibromes réactionnels comportent un nombre important de fibres élastiques.

TABLE 2:

*Semi-quantitative determination of the elastic system.*

*Generally elastic fibrils are scarce except in 5 cases of reactive fibromas.*

	SYST. FIBRES ELASTIQUES:		
	$\pm 0$	+	++
<b>LESIONS FIBROMATEUSES:</b>			
Fibromes réactionnels	: 12	3	5
Hypertr. gingivale/hydantoïne	: 2	—	—
Fibromes vrais	: 1	1	—
Cémentofibromes	: 4	2	—
<b>LESIONS GRANULOMATEUSES:</b>			
Granulomes pyogènes	10	—	—
Gran. rép. à cell. géantes	: 3	2	—
<b>LESIONS INFLAMMATOIRES:</b>			
Gingivites	: 10	—	—

Les fibres élastiques sont en général pauvrement représentées dans la plupart des lésions étudiées. Il convient de noter cependant que dans 5 des 15 lésions fibromateuses réactionnelles, nous avons observé la présence d'un nombre important de fibres élastiques. Les fibres élastiques sont toujours absentes dans les foyers inflammatoires aussi bien à lymphocytes qu'à polynucléaires.

Dans la muqueuse gingivale normale, les colorations à l'orcéine après oxydation énergétique permettent de visualiser un fin réseau de fibres oxytalanes disposées en éventail perpendiculairement à la membrane basale à laquelle elles semblent s'attacher (Fig. 1). Plus en profondeur on trouve des fibres orcéine + de calibre de plus en plus gros correspondant successivement aux fibres élaunines et aux fibres élastiques proprement dites.

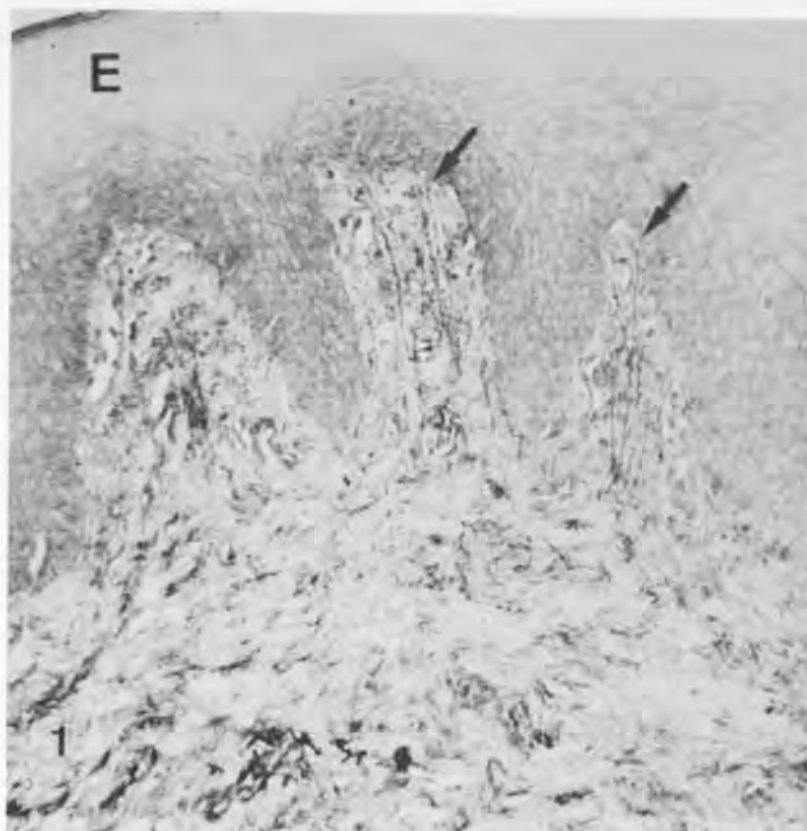


Fig. 1: Portion de gencive normale chez un adulte. Le réseau des fibres oxytalanes est disposé en éventail perpendiculairement à la membrane basale. Leurs portions distales arrivent au contact de la membrane basale à laquelle elles semblent arrimées (flèches). L'épithélium (E) de la muqueuse est reconnaissable dans la partie supérieure de la figure. Orcéine après oxydation. Grossissement: 170 X.

*Fig. 1: Normal gingiva of an adult. Oxytalan fibers are oriented perpendicularly to the basal membrane. The distal parts seem to be anchored to the basal membrane (arrows). The epithelium of the oral mucosa (E) is in the top of the picture. Orcein after oxidation. Magnification: X 170.*

Dans les lésions fibromateuses où le système des fibres élastiques est bien représenté, il est possible d'observer un riche réseau de fibres orcéine + de diverses épaisseurs réparti autour des faisceaux de collagène. On les trouve également circonscrivant de fins vaisseaux ainsi que des lymphatiques (Fig. 2).

Dans la plupart des cas cependant, les fibres orcéine + se sont révélées exceptionnelles, voire même totalement absentes. On ne trouve que quelques brins épars, en général du calibre d'une fibre élastique le long d'une fibre de collagène ou autour d'un vaisseau (Fig. 3).

Les fibres orcéine+ manquent totalement dans le réseau des capillaires qui constituent l'armature caractéristique des granulomes pyogènes. En revanche, on les trouve abondants dans la région du pédicule où ils apparaissent dissociés par des amas de cellules inflammatoires de nature lymphoplasmocytaire (Fig. 4).

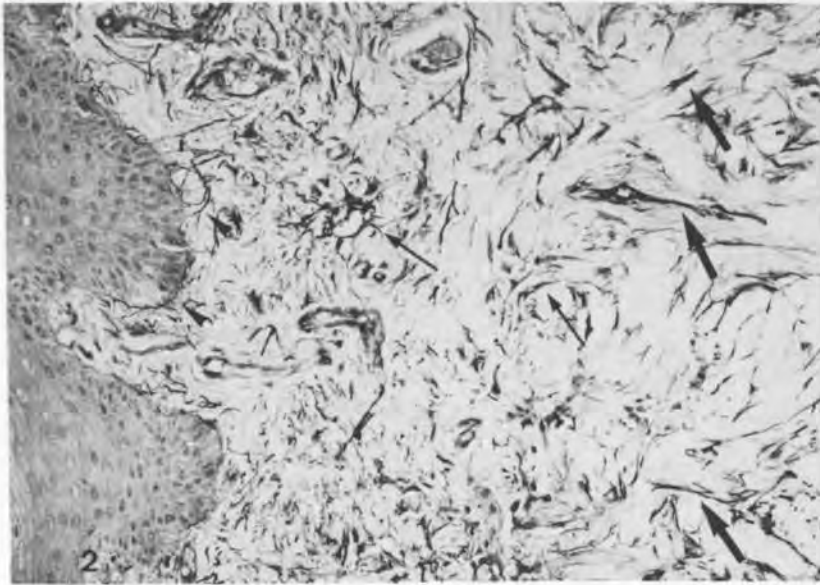


Fig. 2: Fibrome de type réactionnel montrant un réseau de fibres orcéine +. Celles-ci sont disposées au contact de certains faisceaux de collagène (grosses flèches) et autour des vaisseaux et lymphatiques (fines flèches). Noter la persistance des fibres oxytalanées à proximité de la membrane basale (têtes de flèches). Orcéine après oxydation. Grossissement: 250 X.

*Fig. 2: Reactive fibroma containing an important network of orcein + fibers which are along the collagen bundles (thick arrows) and around the vessels and the lymphatics (fine arrows). Oxytalan fibers persist near the basal membrane (arrow heads). Orcein after oxidation. Magnification: X 250.*

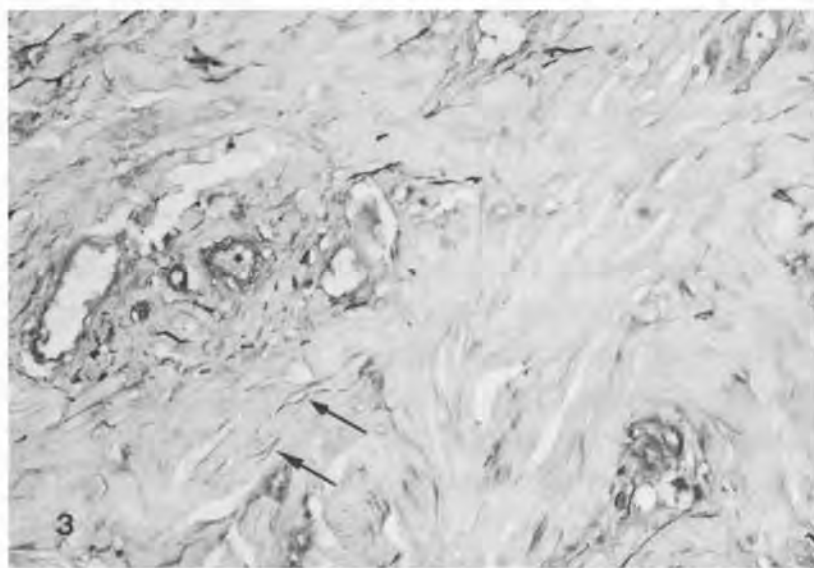


Fig. 3: Fibrome de type réactionnel ne montrant que de rares fibres orcéine +. Celles-ci sont isolées au contact de certaines fibres de collagène (flèches). Orcéine après oxydation. Grossissement: 250 X.

*Fig. 3: Reactive fibroma with sparse orcein + fibers isolated close to some collagen bundles (arrows). Orcein after oxidation. Magnification: X 250.*

Dans tous les cas de portions de gencive remaniées par des phénomènes inflammatoires plus ou moins importants, nous avons été frappés par l'absence complète de fibres orcéine+. Tout se passe comme si

les cellules inflammatoires, pour la plupart de nature lymphoplasmocytaire, ont totalement effacé les fibres élastiques dans les régions toutes superficielles juxta-basales de la sous-muqueuse (Fig. 5).

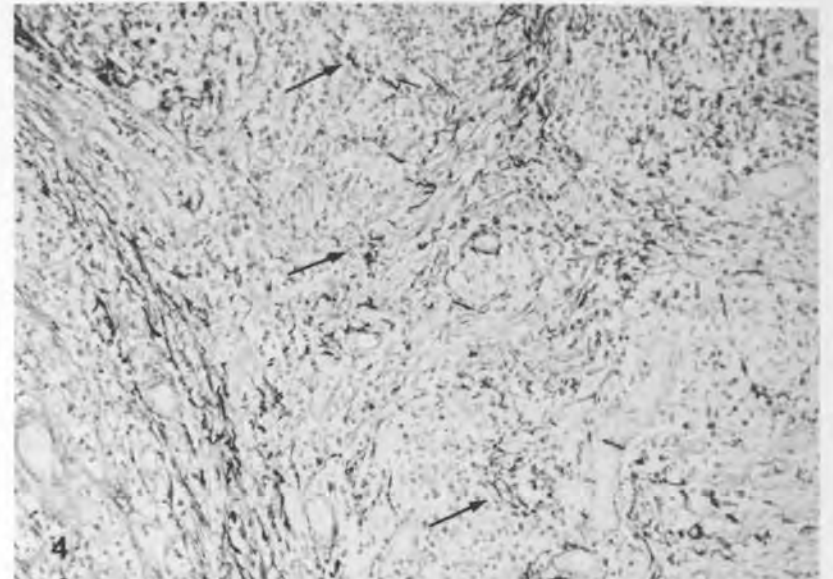


Fig. 4: Région du pédicule d'un granulome pyogène. Noter la persistance de fibres orcéine + dissociées par des amas de cellules inflammatoires (flèches). Orcéine après oxydation. Grossissement: 170 X.

*Fig. 4: Pedicle of a pyogenic granuloma. Persistent orcein + fibers are dissociated by inflammatory cells (arrows). Orcein after oxidation. Magnification: X 170.*



Fig. 5: Portion enflammée d'une gencive. Noter en haut à gauche l'épithélium malpighien de la muqueuse (E). Une partie importante du conjonctif sous-muqueux est occupé par un infiltrat inflammatoire dont on reconnaît la silhouette des noyaux. Un liséré clair dessine une nette démarcation (flèches) avec les fibres élastiques du conjonctif plus profond. Orcéine après oxydation. Grossissement: 250 X.

*Fig. 5: Gingivitis. The epithelium of the oral mucosa (E) is in the left. A clear demarcation (arrows) separates the inflammatory infiltrate from the elastic fibers present in the deep connective tissue. Orcein after oxidation. Magnification: X 250.*

## DISCUSSION

Malgré les réserves formulées par Puchtler et Meloan (1979) concernant la spécificité des colorations habituellement utilisées pour la mise en évidence des fibres élastiques, la technique de l'orcéine donne des résultats parfaitement fiables. Mais toute étude histologique portant sur les fibres élastiques doit désormais faire l'objet au préalable d'une oxydation énergétique selon les indications de Fullmer et Lillie (1958). C'est en procédant ainsi qu'il est possible de visualiser au complet le système des fibres élastiques qui comprend les fibres oxytalanes, les fibres élaunines et les fibres élastiques proprement dites.

La microscopie électronique permet de distinguer nettement les fibres oxytalanes qui correspondent à des microfibrilles de 10 à 14 nm, les fibres élaunines qui se présentent sous l'aspect de microfibrilles mêlées à de petites quantités d'élastine amorphe, et les fibres élastiques qui sont essentiellement constituées par des amas d'élastine amorphe hérissés de microfibrilles.

Au niveau du conjonctif de la peau, les fibres oxytalanes dessinent dans le derme papillaire un éventail de fines fibres orientées perpendiculairement à la membrane basale. Les fibres élaunines sont disposées en arcades dans le derme réticulaire, tandis que les fibres élastiques, situées dans le derme profond, sont formées d'un réseau de fibres nettement plus épaisses disposées parallèlement à la surface (Cotta-Pereira et coll., 1976; France et Robert, 1984). Dans une étude récente, Chavrier (1990) retrouve une disposition analogue au niveau de la muqueuse gingivale humaine.

L'âge et plus particulièrement le vieillissement, ainsi que la lumière, influent d'une manière importante sur la morphologie et la répartition du système des fibres élastiques au niveau du conjonctif de la peau. Les modifications observées correspondent essentiellement à des dégradations (Braveman et Fonferko, 1982).

Dans une étude sur l'évolution en fonction de l'âge des fibres élastiques de la sous-muqueuse linguale chez l'homme, nous avons constaté leur totale absence au cours des premiers jours de la vie. En revanche, nous avons observé chez le vieillard la constitution de conglomerats de fibres élastiques dans le conjonctif papillaire (Dourov, 1989).

Par ailleurs, nous avons démontré qu'il convient de prendre en considération le processus d'élastogénèse qui se développe au cours de la cicatrisation par seconde intention. En effet, au cours d'une étude

expérimentale portant sur la langue du rat, nous avons détecté les premières fibres oxytalanes dès le 12<sup>e</sup> jour à la périphérie du foyer de cicatrisation. Au 22<sup>e</sup> jour, des fibres oxytalanes sont mises en évidence sous la membrane basale de l'épithélium néoformé, et à partir du 24<sup>e</sup> jour de nombreuses fibres oxytalanes sont présentes dans le derme cicatriciel (Dourov et coll., 1989).

Dès lors il s'avère intéressant de connaître la disposition du système des fibres élastiques dans des lésions fibromateuses qu'elles soient réactionnelles, irritatives, cicatricielles ou néoplasiques, afin d'en connaître la part prise par celles-ci.

Il semble bien démontré que c'est le fibroblaste qui est la source principale des fibres élastiques. Cette cellule élabore par exocytose un précurseur soluble, la tropoélastine dont l'extrême début de la synthèse peut être perçue dans le réticulum endoplasmique, dans l'appareil de Golgi, puis dans les vésicules du versant *trans* du Golgi (Damiano et coll., 1984). La tropoélastine forme ensuite des agrégats insolubles qui contractent des liaisons croisées déclanchées par la lysyl-oxydase. La polymérisation de l'élastine nécessite de la desmosine et de l'isodesmosine. L'élastine est déposée à la surface des microfibrilles. Elle est retrouvée alors non seulement dans les fibres élastiques, mais également dans les fibres élaunines et oxytalanes (Chavrier et coll., 1988).

Dans une investigation portant sur des prélèvements d'hypertrophie gingivale chez 12 sujets jeunes ayant reçu de la diphényl hydantoïne, Baratieri (1967) signale la présence d'une grande quantité de fibres oxytalanes proches de l'épithélium. Celles-ci sont par contre rares dans leurs 4 cas d'épulis fibreux. Plus récemment, Bonnaure-Mallet et coll. (1991) ont objectivé une augmentation significative des formations élastiques dans les cas d'hyperplasie gingivale due à la cyclosporine.

Dans une série de 25 cas d'épulis fibreux, Oles (1968) ne constate une absence ou une faible quantité de fibres oxytalanes que dans 4 de leurs cas. Dans les 21 autres cas, les fibres oxytalanes présentent soit une distribution homogène (8 cas), soit des condensations sous-épithéliales (13 cas).

En 1979, Wright et Jennings rapportent la présence de fibres oxytalanes dans 18 cas de fibromes odontogènes périphériques qui possèdent la particularité de contenir du tissu ostéoïde. Cette constatation confortant les auteurs dans l'idée que ces fibromes « ossifiants » proviennent bien du ligament alvéolaire. Dans 5 cas de fibromes périphériques de la gencive avec métaplasie cartilagineuse, Balogh et Richardson

(1986) constatent l'existence de fibres oxytalanes dans le conjonctif et dans le tissu cartilagineux. Ils en déduisent que les fibres élastiques sont élaborées par les fibroblastes au même titre que le collagène.

Dans le présent travail, nous avons été frappés par l'absence ou la rareté des fibres orcéine + au sein de la masse fibromateuse dans la plupart de nos cas. Nous n'avons objectivé une nette augmentation de telles fibres que dans 5 de nos 15 cas de fibromes réactionnels. Ces fibres étaient exceptionnelles, voire même absentes dans nos 2 cas de fibromes véritablement néoplasiques ainsi que dans nos 6 cas de cémentofibromes.

Ces observations posent le problème de l'inconstance de la synthèse des fibres élastiques par les fibroblastes et devraient nous orienter vers une étude plus approfondie de la pathologie de ceux-ci.

Nous avons noté l'absence de fibres du système élastique au niveau des foyers inflammatoires de la sous-muqueuse gingivale. Bonnaure-Mallet et coll. (1991) ont décrit au niveau de la gencive une désorganisation progressive des fibres oxytalanes, des fibres élaunines et des fibres élastiques mûres en rapport avec les stades évolutifs de la maladie parodontale. Ces auteurs rappellent le rôle joué par des enzymes protéolytiques secrétés habituellement par des microorganismes et par des polynucléaires qui peuvent être mis en évidence dans les culs-de-sac gingivo-dentaires (Zafiropoulos et coll., 1991). Or, la production de tels enzymes par des lymphocytes n'a pas été signalée à notre connaissance. L'absence complète et constante des fibres oxytalanes et des fibres élastiques proprement dites au niveau des infiltrats inflammatoires lympho-plasmocytaires du conjonctif gingival nous suggère la possibilité d'une élastolyse à ce niveau.

#### BIBLIOGRAPHIE

- Balogh, R., Richardson, J. — Chondrogenesis in peripheral fibromas of the gingiva. Histochemical demonstration of oxytalan fibres and mucopolysaccharides. *J. Oral Pathol.* 15: 169-171, 1986.
- Baratieri, A. — The oxytalan connective tissue fibres in gingival hyperplasia in patients treated with sodium diphenyl-hydantoin. *J. Periodont. Res.* 2: 106-114, 1967.
- Bonnaure-Mallet, M., Apiou J., Chambon Y. — Comportement des formations élastiques gingivales dans la maladie parodontale. *Path. Biol.* 39: 42-46, 1991.
- Braverman, I.M., Fonferko, E. — Studies in cutaneous aging: I. The elastic fiber network. *J. Invest. Dermatol.* 78: 434-443, 1982.
- Chavrier, C. — The elastic system fibres in healthy human gingiva. *Arch. Oral Biol.* 35: 223S-225S, 1990.
- Chavrier, C., Hartmann, D.J., Couble, M.L., Herbage, D. — Distribution and organization of the elastic fibres in healthy human gingiva: ultrastructural and immunohistochemical study. *Histochem. J.*, 89: 47-52, 1988.
- Cotta-Pereira, G., Guerra Rodrigo, F., Bittencourt-Sampaio, S. — Oxytalan, elaunin, and elastic fibers in human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 66: 143-148, 1976.
- Damiano, V., Al-Ling Tsang, Weinbaum, G., Christner, P., Rosenbloom, J. — Secretion of elastin in the embryonic chick aorta as visualized by immunoelectron microscopy. *Collagen Rel. Res.*, 4: 153-164, 1984.
- Dourov, N. — Tissu élastique et pathologie orale. *Group. Intern. Rech. Sci. Stomatol. Odontol. Palerme*, avril 1987.
- Dourov, N. — Effets du vieillissement sur le système des fibres élastiques de la sous-muqueuse linguale. Etude anatomoclinique et expérimentale. *Group. Intern. Rech. Sci. Stomatol. Odontol. Modène*, avril 1989.
- Dourov, N., Duquene, L., Samaha, G. — Etude expérimentale de l'élastogénèse au cours de la cicatrisation par seconde intention. *Nouv. Dermatol.*, 8: 435, 1989.
- Frances, C., Robert, L. — Elastin and elastic fibers in normal and pathologic skin. *Internat. J. Dermatol.*, 23: 166-179, 1984.
- Fullmer, H.M., Lillie, R.D. — The oxytalan fiber: a previously undescribed connective tissue fiber. *J. Histochem. Cytochem.*, 425-430, 1958.
- Oles, R.D. — Incidence and distribution of various connective tissue fibers in oral fibromas. *Oral Pathol.*, 26: 487-496, 1968.
- Puchler, H., Meloan, S.N. — Orcein, collastin and pseudo-elastica: a re-investigation of Unna's concepts. *Histochem.*, 64: 119-139, 1979.
- Wright, B.A., Jennings, E.H. — Oxytalan fibers in peripheral odontogenic fibromas. A histochemical study of eighteen cases. *Oral Surg.*, 48: 451-453, 1979.
- Zafiropoulos, G.-G.K., Flores-de-Jacoby, L., Todt, G., Kolb, G., Havemann K., Tatakis, D.N. — Gingival crevicular fluid elastase-inhibitor complex: correlation with clinical indices and subgingival flora. *J. Periodont. Res.*, 26: 24-32, 1991.

#### Adresse de l'auteur:

N. Dourov, Laboratoire d'Anatomie Pathologique et de Microscopie Electronique.  
808, route de Lennik, 1070 Bruxelles (Belgique).