

Etude ultrastructurale de la composante fibrillaire de certains tissus dentaires

P. MENGHINI*, C. PIACENTINI*, C. MARCHETTI**

* *Institut de Clinique Odontostomatologique de l'Université de Pavia.*

** *Institut d'Histologie et d'Embryologie Générale de l'Université de Pavia.*

RÉSUMÉ

L'intérêt qui, ces derniers temps aussi, s'est manifesté dans le domaine des tissus dentaires, pour les techniques de préparation hautement perfectionnées, tendant à mettre en évidence des structures tout à fait particulières, a poussé les auteurs à perfectionner ce qui a été proposé par la littérature.

On a tout particulièrement effectué des observations au M.E.T. et au M.E.B. des zones de transition entre pulpe et dentine humaine normale et saine après décalcification et traitement avec de la trypsine à différentes concentrations.

Les images obtenues ont mis en évidence les opportunités d'études offertes par une technique qui enlève effectivement tout le matériel non collagène. Ceci a rendu possible, dans les différentes zones considérées, des observations sur la structure et l'organisation des fibres collagènes. En outre, les données obtenues dans la zone péri-cellulaire, ont permis d'intervenir dans la discussion de la littérature la plus récente au sujet des fibres interodontoblastiques.

MOTS-CLÉS:

Fibrilles - Collagène - Decalcification - Trypsine

SUMMARY

The recent interest for highly sophisticated techniques of dental tissue preparation aiming to display very particular structures, moved the AA. to improve the literature suggestions.

In particular they made TEM and SEM observations of transitional zones between healthy and normal pulp and dentin after decalcification and trypsin at different concentrations treatment.

The images obtained draw in the attention the study facilities of a technique that really removes all the non collagenic material.

The data obtained in the pericellular zones also allowed some interventions in the recent literature discussion about interodontoblastic fibres.

KEY WORDS:

Ultrastructure - Fibrils - Collagen - Decalcification - Tripsin

INTRODUCTION

Dans le domaine de l'histologie dentaire, l'intérêt pour l'étude des structures fibrillaires est très vif. Ces structures contribuent très souvent à guider les processus de minéralisation et elles représentent l'intermédiaire structural éventuel entre des tissus divers.

L'organisation et les rapports réciproques des fibres collagènes et des plus fines fibres réticulaires ont fait l'objet de nombreuses études (Cahen et Frank, 1970; Baume, 1980; Thomas, 1985; Sogaard-Pedersen et coll., 1990), et on a également effectué des recherches

sur la présence de fibres oxytalanes (Bradamante et coll., 1980). On a eu aussi recours à la biochimie et à l'immuno-histochimie pour l'étude de la composante fibrillaire des tissus dentaires (Magloire et coll., 1982; Bronckers et coll., 1989). Toutefois l'existence effective de ce que l'on a appelé les « fibres de Von Korff », la présence et la nature des fibres interdontoblastiques, la distribution et l'organisation de ces structures dans les différentes zones de la dentine, font encore objet de discussion (Tencate, 1978; Szabo et coll., 1985).

Il est certain que l'on rencontre de grosses difficultés techniques pour mettre en évidence la composante fibrillaire dans le contexte de tissus diversement calcifiés tels que la dentine, et, en effet, alors que les recherches au M.E.T. sur des échantillons déminéralisés ou non déminéralisés sont nombreuses (Frank, 1966; Takuma et Eda, 1966; Tronstad, 1973; Matthiessen et coll., 1985), les études au M.E.B. ont été conduites essentiellement sur des échantillons non décalcifiés (Garberoglio et Brannstrom, 1976; Thomas et Carella, 1983). Les contributions tendant à appliquer les deux techniques sur des échantillons préparés avec les mêmes méthodes sont particulièrement rares (Thomas et Carella, 1984).

Pour l'observation au M.E.B. de ces structures spécifiques, on a récemment proposé l'application d'un procédé de déminéralisation suivi de la digestion enzymatique de toute la composante fibrillaire est maintenue (Sogaard-Pedersen et coll., 1990).

Notre intérêt pour la mise en évidence et l'interprétation du rôle que ces structures fibrillaires peuvent jouer dans la zone de transition entre pulpe et dentine, à la lumière également de la différenciation entre collagène de la pulpe et de la dentine, démontrés par Magloire et coll., 1982 et Linde, 1985, nous a poussés à entreprendre cette étude.

Notre but a été celui d'évaluer l'efficacité de la digestion enzymatique pour mettre en évidence la composante fibrillaire de la zone transition entre pulpe et dentine, sans en altérer la structure, la disposition, les dimensions, la quantité etc..., et celui d'effectuer des observations comparatives au M.E.T. et au M.E.B. sur des échantillons préparés en suivant les mêmes processus.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Immédiatement après leur prélèvement, les dents ont été fixées pendant cinq jours dans du Karnovsky dilué (paraformaldéhyde 2% et glutaraldéhyde 2,5%) et elles ont été ensuite déminéralisées suivant la technique de Kristensen (1949).

Après une déminéralisation complète, confirmée radiologiquement, chaque dent a été divisée longitudinalement en deux moitiés, destinées chacune à un type d'observation.

La digestion enzymatique de la composante organique non collagène a été effectuée suivant les techniques proposées par Steven et Thomas (1973) pour le cartilage et par Sogaard-Pedersen et coll. (1990) pour les tissus dentaires, et utilisant de la trypsine (1120 BAEE unités/mg) dans NaCO₃, 1% pendant 20 heures en agitant, dans un rapport solution d'enzyme et quantité de tissu de 1:50 ou 1:25.

Les échantillons ont été successivement fixés dans de la glutaraldéhyde, postfixés avec du tétroxyde d'Osmium et préparés pour l'observation au M.E.T. ou au M.E.B. selon les procédures habituelles. Certaines dents, après la déminéralisation n'ont pas été traitées avec l'enzyme, mais elles ont été directement fixées et préparées pour l'observation au M.E.T. ou au M.E.B., comme échantillons de contrôle et références pour l'évaluation de la méthode utilisée.

RÉSULTATS

L'examen des échantillons complètement déminéralisés et digérés, ayant le rapport enzyme/tissu le plus bas, a révélé, en même temps que l'élimination de presque toutes les structures cellulaires, la permanence de structures fibreuses non collagènes extracellulaires. Ceci résulte aussi bien de l'observation au M.E.T. qu'au M.E.B. (Fig. 1 et 2); on a donc jugé bon de limiter notre étude aux échantillons traités avec les concentrations les plus élevées en portant notre attention sur la dentine, la pré-dentine et les odontoblastes.

Dentine

Les échantillons décalcifiés et soumis à l'action de l'enzyme, étudiés au M.E.T., ont révélé une morphologie structurale qui, dans la dentine périphérique, montre des fibres plus lâches et grossières, en faisceaux pour la plupart tangents au tubule.

Dans la zone de la pré-dentine, les faisceaux de fibres sont plus fins et ils apparaissent nombreux avec une disposition parallèle au trajet du tubule lui-même (Fig. 3 et 4).

La lumière du tubule dentinaire est vide et ses contours sont bien définis par l'organisation des fibres: de fins filaments aussi sont parfois présents, ils se projettent à partir des fibres de collagène vers la lumière de la cavité.

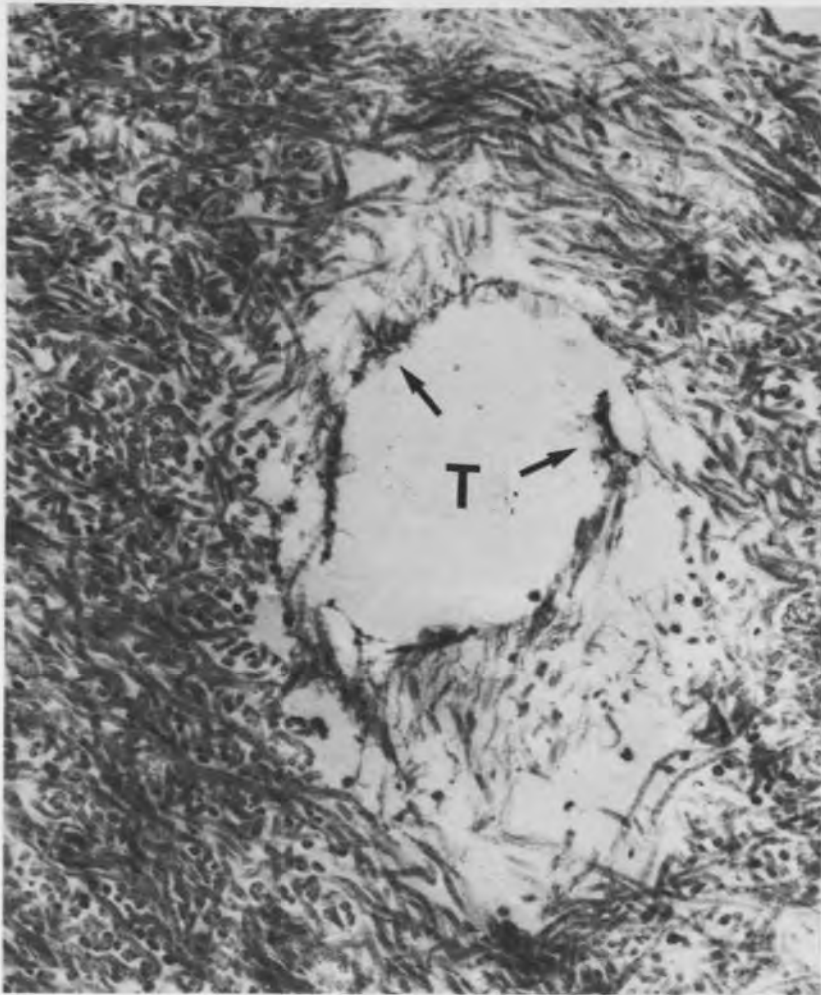


Fig. 1: La lumière du tubule (T) est encore entourée par du matériel amorphe (flèches). MET 15000X.
 Fig. 1: The tubule lumen (T) is still contoured by amorphous material (arrows). TEM 15000X

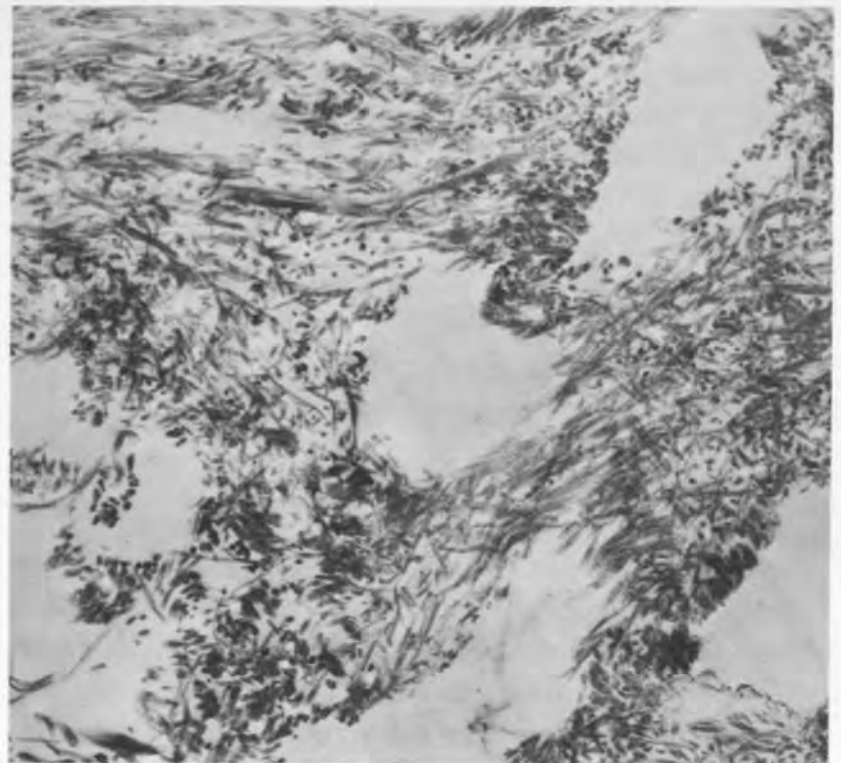


Fig. 3: Dentine périphérique: des fibres grossières et peu serrées tangentes au tubule. MET 11250X
 Fig. 3: Peripheric dentine coarse and little packed fibers tangential to the tubule. TEM 11250X

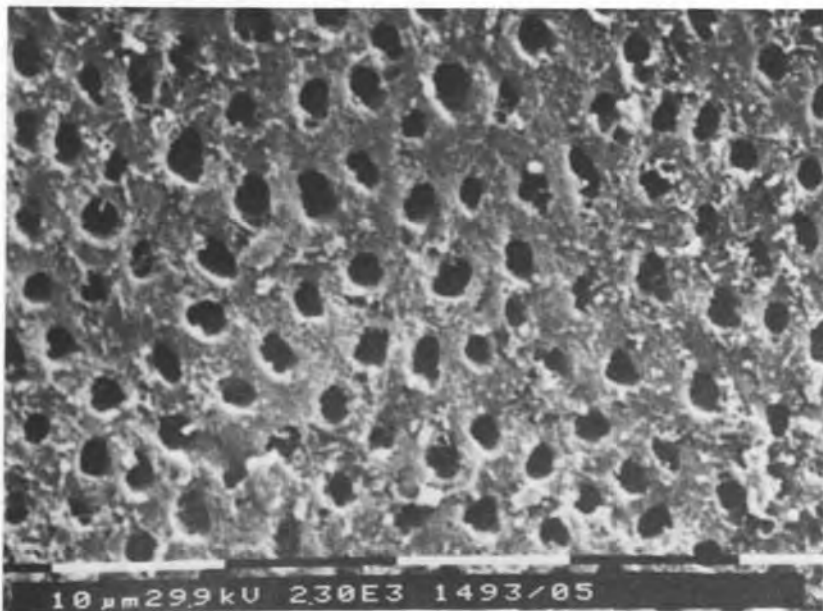


Fig. 2: Matrice dentinaire avec des résidus de matériel organique non collagène. MEB 2300X
 Fig. 2: Dentinal matrix with some residual of organic non collagenic material. SEM 2300X

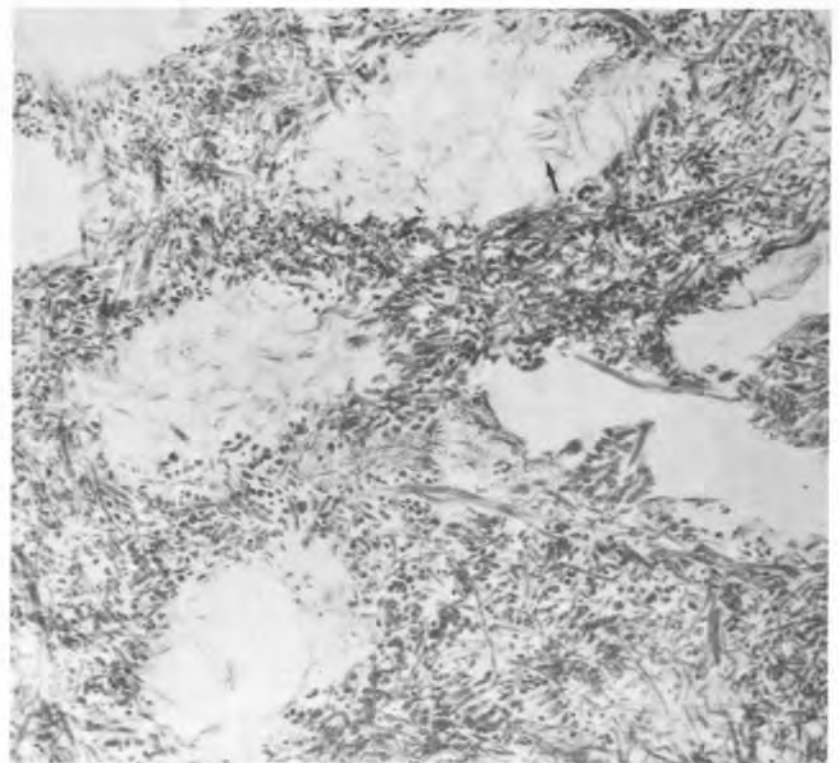


Fig. 4: Prédentine: les fibres sont plus fines et serrées, disposées parallèlement au tubule. Il y a parfois des filaments qui se projettent vers la lumière du tubule (flèche). MET 11250X
 Fig. 4: Predentin: the fibers are more packed and thin, they run also parallel to the tubule. Sometimes there are some filaments projecting in the lumen (arrow). TEM 11250X

Dans ces échantillons, le M.E.B. met clairement en évidence la trame fibrillaire qui, tridimensionnellement, prend un aspect en forme de manchon et apparaît fortement serrée au niveau intertubulaire; elle apparaît au contraire plus lâche au niveau des limites du tubule (Fig. 5). la disposition du réseau fibreux, qui constitue le squelette organique du tissu, est bien documentée alors qu'elle passe d'une disposition orthogonale par rapport à l'axe du tubule dans la zone de la dentine périphérique, à une orientation plus parallèle dans la prédentine (Fig. 6).

Zone odontoblastique

L'observation au M.E.T. des échantillons traités avec enzyme révèle, dans cette zone, la présence de rares fibrilles, encore plus fines que celles qui ont été observées dans la dentine, disposées parallèlement, orthogonalement ou enroulées autour des surfaces des prolongements des odontoblastes. Naturellement, les cellules aussi bien que les prolongement ont été enlevés, mais leur empreinte est reconnaissable si on la compare aussi avec les préparations seulement décalcifiées et dans cet espace vide on peut observer de rares et fines fibrilles disposées de façon irrégulière où on peut reconnaître les striations périodiques typiques de collagène (Fig. 7).

Au M.E.B. aussi, les échantillons seulement décalcifiés conservent la présence des corps cellulaires dans cette zone. L'enzyme, au contraire, les enlève et, à l'observation à faible grossissement, on voit des fibres interodontoblastiques qui se présentent comme des faisceaux assez ordonnés, parallèles entre eux (Fig. 8).

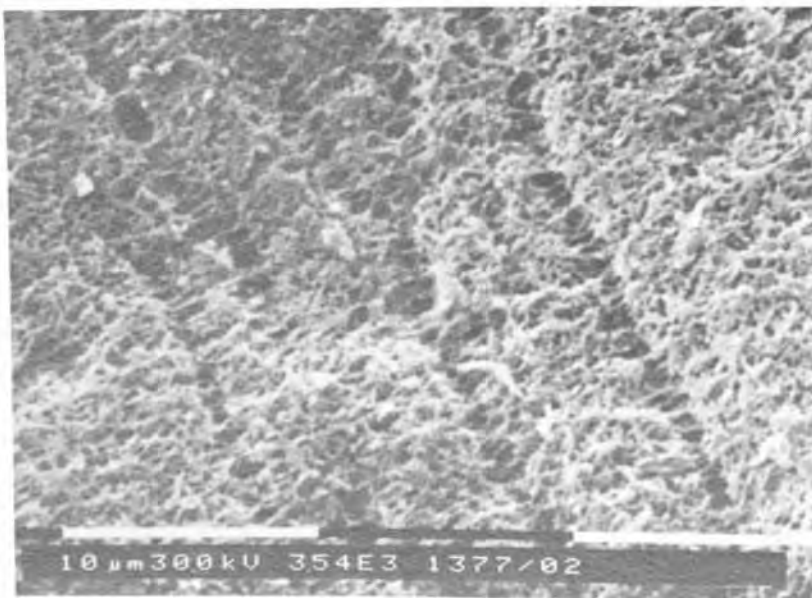


Fig. 5: Dentine: la trame fibrillaire est serrée dans les zones intertubulaires et plus lâche dans les zones peritubulaires. MEB 3540X

Fig. 5: Dentine: fibrillar wool is packed in intertubular areas and looser in peritubular ones. SEM 3540X

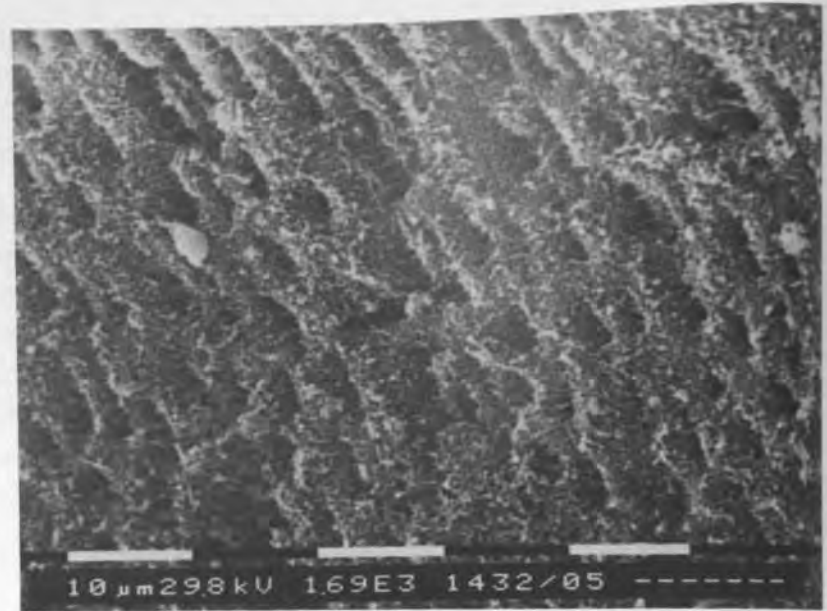


Fig. 6: Zone de transition entre dentine et prédentine: la disposition des fibrilles paraît tressée d'une façon plus complexe en comparaison avec les zones plus périphériques MEB 1690X

Fig. 6: Transitional area between dentine and predentine: the fibrils disposition is interlaced in a more complex way than in more peripheric areas. SEM 1690X

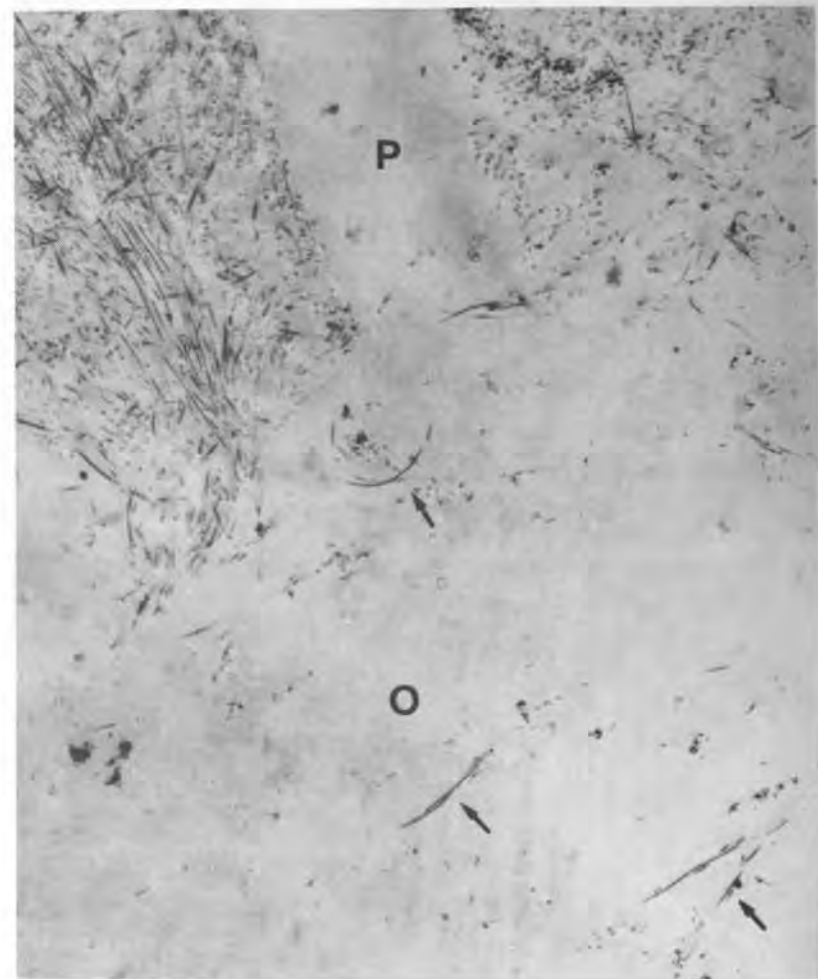


Fig. 7: Zone odontoblastique: dans la zone occupée par la cellule (O) et son prolongement (P), des fibrilles collagènes fines et rares (flèches) sont disposées de façon irrégulière et avec des dimensions comparables aux fibrilles de la prédentine. MET 11250X

Fig. 7: Odontoblastic area: in the area filled by the cell and its process are evident fine and scarce collagenic fibrils (arrows) with different directions and dimensions similar to those in predentine. TEM 11250



Fig. 8: Fibres interodontoblastiques avec une direction parallèle. MEB 655X
 Fig. 8: Interodontoblastic fibers with parallel trend. SEM 655X

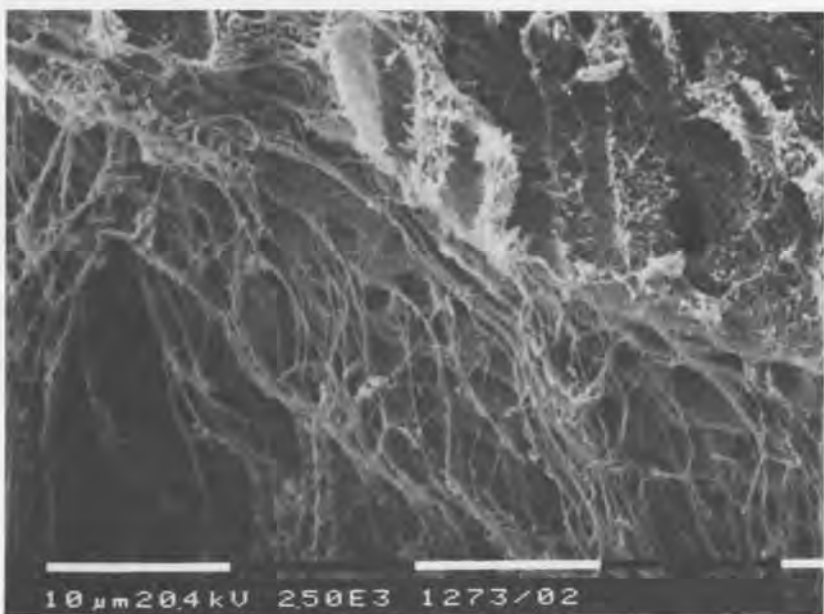


Fig. 9: Les faisceaux fibreux interodontoblastiques sont en liaison étroite et en continuité avec les structures fibrillaires de la prédentine. MEB 2500X
 Fig. 9: The fibrillar interodontoblastic wool is tightly connected and in continuity with the some structures of the predentine. SEM 2500X

A plus fort grossissement on peut constater comment de tels faisceaux fibreux sont en liaison étroite avec la structure fibrillaire des tubules de la prédentine et comment ils occupent les espaces intercellulaires entre les odontoblastes avec aussi des connexions transversales qui, par conséquent, entourent les corps cellulaires qui ont été enlevés (Fig. 9).

DISCUSSION

L'étude comparée au M.E.T. et au M.E.B. des échantillons préparés avec une nouvelle méthode spéciale, a permis certaines observations intéressantes.

En effet, dans les tubules de la dentine il a été possible de démontrer, d'une façon extrêmement claire au M.E.T., la présence d'une composante fibrillaire périodontoblastique que déjà certains auteurs avaient supposée et avaient décrite comme immergée dans une matière gélatineuse extra-cellulaire composée par le fluide dentinaire et par la matrice glycéroprotéique qui, dans nos préparations ont été enlevés (Frank, 1966; Lester et Boyde, 1968; Tronstad, 1973).

La signification éventuelle de ces fibrilles pourrait être celle d'intervenir pour favoriser une minéralisation ultérieure et, par conséquent, la réduction de la lumière des canalicules ainsi qu'on peut le voir dans les phénomènes de vieillissement ou de formation d'une dentine de réaction.

En ce qui concerne la zone de transition entre la pulpe et la dentine, au sujet de laquelle on discute encore la présence d'une composante fibrillaire interodontoblastique (Moss, 1974; Tencate, 1978) et la connexion entre ces fibres éventuelles et les fibres typiques de la pré-dentine (Frank, 1966; Whittaker et Admas, 1972; Isokawa et coll., 1972; Szabo et coll., 1985; Sogaard-Pedersen et coll., 1990), nos observations ont fourni des images qui ne sont pas complètement superposables entre elles au M.E.T. et au M.E.B.

En effet, alors qu'au M.E.B. il apparaît une continuité entre les structures fibrillaires inter et périodontoblastiques et celles de la pré-dentine, au M.E.T. les fibres avec de fines striations périodiques que l'on peut observer dans les espaces laissés déserts par les corps cellulaires, sont quantitativement trop réduites pour constituer une confirmation probante.

En conclusion, la méthode de préparation des échantillons au moyen d'une déminéralisation et d'une digestion sélective, s'est révélée particulièrement utile pour mettre en évidence la disposition, l'organisation et la quantification des structures fibrillaires collagènes dans les tissus examinés.

L'observation au moyen de techniques d'étude différentes s'est révélée extrêmement efficace en de nombreux secteurs où les deux procédés se sont effectivement intégrés. En d'autres cas, les différentes épaisseurs des échantillons étudiés n'ont pas confirmé la parfaite correspondance entre les données. Toutefois ceci n'enlève pas de la valeur aux observations; bien plus, ceci confirme combien l'étude structurale doit nécessairement passer par la comparaison des données obtenues à l'aide de procédés divers dans la connaissance complète des limites de leurs spécificités.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Baume L.J. — The biology of pulp and dentine. In: Monographs in oral science. Myers H.M. ed., S. Karger, Basel, 1963.
- [2] Bradamante Z., Pecina-Hrnčević A., Ciglar I. — Oxytalan fibres in human dental pulp. *Experienta*, 36: 1210-1211, 1990.
- [3] Bronckers A.L., Lyaruu D.M., Woltgens J.H. — Immunohistochemistry of extracellular matrix proteins during various stages of dentinogenesis. *Connect. Tiss. Res.*, 22: 65-70, 1989.
- [4] Cahen P., Frank R.M. — Microscopie électronique de la pulpe dentaire humaine normale. *Bull. Group. Int. Rech. Sci. Stomatol.*, 13: 421-433, 1970.
- [5] Frank R.M. — Ultrastructure of human dentine. In: Proceedings of the third european symposium on calcified tissues. Fleisch H., Blackwood H.J.J., and Owen M. Eds., N.Y., Springer-Verlag, 259-272, 1966.
- [6] Garberoglio R., Brannstrom M. — Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch. Oral Biol.*, 21: 355-362, 1976.
- [7] Isokawa S., Uchino S., Morimoto K., Kobayashi Y., Hasegawa S. — On the so-called von Korff fibers as seen on the human predentinal surface. *J. Nihon Univ. Sc. Dent.*, 14: 12-15, 1972.
- [8] Kristensen H.K. — Afkalkningsproblemer i den histologiske teknik. Copenhagen, Munksgaard, 1949.
- [9] Lester K.S., Boyde A. — The surface morphology of crystalline components of dentine. In: Dentine and Pulp: Their structure and reactions. N.B.B. Symons Ed., London Livingstone, 197-219, 1968.
- [10] Linde A. — The extracellular matrix of the dental pulp and dentine. *J. Dent. Res.*, 64: 523-529, 1985.
- [11] Magloire H., Joffre A., Grimaud J.A., Herbage D., Couble M.L., Chavdrier C. — Distribution of type III collagen in the pulp parenchyma of the human developing tooth. Light and electron immunotyping. *Histochemistry*, 74: 319-328, 1982.
- [12] Matthiessen M.E., Sogaard-Pedersen B., Romert P. — Electron microscopic demonstration of non-mineralized and hypomineralized areas in dentin and cementum by silver methenamine staining of collagen. *Scand. J. Dent. Res.*, 93: 395-395, 1985.
- [13] Moss M.L. — Studies on dentine. I Mantle dentine. *Acta Anat.*, 87: 481-507, 1974.
- [14] Sogaard-Pedersen B., Boye H., Matthiessen M.E. — Scanning electron microscope observations on collagen fibers in human dentine and pulp. *Scand. J. Dent. Res.*, 98: 89-95, 1990.
- [15] Steven F.S., Thomas H. — Preparation of insoluble collagen from human cartilage. *Biochem. J.*, 135: 245-247, 1973.
- [16] Szabo J., Szabo I., Trombitas K. — Interodontoblastic fibres in human dentine observed by scanning electron microscopy. *Arch. Oral Biol.*, 30: 161-165, 1985.
- [17] Takuma S., Eda S. — Structure and development of the peritubular matrix in dentin. *J. Dent. Res.*, 45: 683-692, 1966.
- [18] Ten Cate A.R. — A fine structural study of coronal and root dentinogenesis in the mouse: observations on the so-called von Korff fibers and their contribution to mantle dentine. *J. Anat.*, 125: 183-197, 1978.
- [19] Thomas H.F. — The dentin-predentin complex and its permeability: anatomical overview. *J. Dent. Res.*, 64: 607-612, 1985.
- [20] Thomas H.F., Carella P. — A scanning electron microscope study of dentinal tubules from unerupted human teeth. *Arch. Oral Biol.*, 28: 1125-1130, 1983.
- [21] Thomas H.F., Carella P. — Correlation of scanning and transmission electron microscopy of human dentinal tubules. *Arch. oral Biol.*, 29: 641-646, 1984.
- [22] Transtad L. — Ultrastructural observations on human coronal dentine. *Scand. J. Dent. Res.*, 81: 101-111, 1973.
- [23] Whittaker D.K., Adams D. — Electron Microscopic studies on von Korff fibers in the human developing tooth. *Anat. Rec.*, 174: 175-190, 1972.