Observations en microscopie photonique et électronique sur différents tissus d'un odontome complexe

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

* Institut de Clinique Odontostomatologique.

** Institut d'Histologie et d'Embryologie générale - Université de Pavia - Italie

RÉSUMÉ

La recherche a mis en évidence la présence d'une couche d'émail ayant la structure prismatique caractéristique, à la surface des agrégats calcifiés constituant un odontome complexe. Des observations au microscope électronique à balayage et au microscope électronique à transmission, effectuées sur des échantillons déminéralisés, il résulte que cet émail a les caractéristiques morphologiques d'un tissu qui n'est pas complètement formé ni mûr. A sa surface on note clairement la présence d'une couche de cellules avec les caractéristiques des améloblastes présents dans la phase de maturation du tissu adamantin. L'émail observé résulte donc être un tissu encore en phase de formation active bien que l'odontome soit une structure où les processus de maturation des tissus qui le constituent aient une période de développement limité.

MOTS CLÉS:

Odontome - Microscopie photonique - M.E.B. et M.E.T. - Améloblastes.

SUMMARY

Several aggregates of dental tissues constitute the complex odontoma. They are almost completely covered by a layer of prismatic enamel. By the observations at transmission and scanning electron microscope enamel present the characteristics of a not fully developed tissue. The organic component is still abundant and the enamel surface is covered by a cellular layer having the morphological features of the maturate ameloblasts. Therefore this enamel results to be yet actively engaged in the maturation phase although the tissues of the odontoma have generally a limited developing time.

KEY WORDS:

Odontoma - Light microscopy - S.E.M. and T.E.M. - Ameloblasts.

INTRODUCTION

L'odontome est une formation qui dérive du développement altéré de l'organe dentaire. Dans cette formation, qui se trouve calcifiée en partie ou complètement, les tissus dentaires sont présents dans leur totalité ou seulement en partie et ils peuvent atteindre divers degrés de différenciation. La classification des odontomes est complexe et elle constitue matière de discussion à cause des différents critères d'évaluation qui peuvent être utilisés. Certains auteurs ont, en effet, donné une plus grande importance à l'aspect morphologique et histologique, d'autres ont privilégié l'origine embryologique différente et le niveau différencié atteint par les composants qui constituent l'odontome (Thoma et Goldman, 1964; Broca, 1969; Eversole et al., 1971; Tomich, 1976; Reichart et Ries, 1983; Walsh et al., 1987). D'après les plus récents critères de classification, l'odontome complexe est un type de néoformation dentaire constitué par des agglomérats de tissus dentaires différenciés et organisés de manière différente. (Walsh et al., 1987). On estime généralement que les odontomes ont une croissance limitée dans le temps qui leur permet d'atteindre un certain degré de différenciation.

Les divers stades de différenciation qu'atteignent les tissus constituant l'odontome, ont été attribués aux anomalies de développement de la composante d'origine ectodermique, de celle d'origine mésodermique ou de toutes les deux.

Les données fournies par la littérature à propos de la structure des odontomes complexes sont dues aux recherches au microscope photonique (Miyasato, 1971; Franklin et Pindborg, 1976) et plus récemment au microscope électronique à balayage (Gardner et Dort, 1979, Kerebel et al., 1973; Kerebel et Kerebel, 1984; Abati et al., 1988).

Les informations obtenues par le microscope électronique à transmission (Sapp et Gardner, 1977) sont peu nombreuses. En outre il n'existe point de données qui sont comparables au microscope électronique à transmission et à balayage. Afin de pouvoir effectuer également une comparaison des informations obtenues à l'aide de ces différents instruments de recherche, dans ce travail on a procédé à l'étude d'un odontome complexe au moyen de la microscopie photonique et de la microscopie électronique à transmission et à balayage.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'odontome examiné a été choisi parmi l'ample série de cas qui sont parvenus à l'observation auprès de la Clinique Odontostomatologique de l'Université de Pavie. L'odontome a été prélevé chez un jeune sujet âgé de 16 ans soumis à des contrôles cliniques au sujet de l'éruption manquée de la canine permanente inférieure gauche. L'examen clinique et radiologique a mis en évidence la présence d'une néoformation dans la région antérieure gauche de la mâchoire. L'ondontome s'est révélé être constitué par 32 agrégats de tissu calcifié qui ont été libérés de leur capsule conjonctive et déorganifiés en une solution d'hypochlorite de soude à 7% avec deux passages de 30 minutes chacun. Moitié des échantillons a été soumise à une courte fixation (30') dans un mélange de glutaraldéhyde (2,5%) et paraformaldéhyde (2%) en tampon cacodylate de soude 0,1 M, pH 7,4 et ensuite décalcifiés dans une solution acqueuse d'acide formique 4 M et formiate de soude 0,5 M.

Après décalcification, les échantillons ont été fixés pendant quatre heures dans le même mélange fixatif utilisé précédemment, ils ont été post-fixés dans OsO4 à 1% dans tampon collidine, déshydratés et inclus dans epon.

De ces préparations on a obtenu des coupes semi fines $(0,5 \ \mu m)$ colorées au bleu de toluidine pour les observations au microscope photonique et des coupes ultra fines (80 nm) qui ont été contrastées avec acétate d'uranyle et citrate de plomb pour les observations au microscope électronique à transmission. Le restant des échantillons, après double fixation avec les fixatifs décrits précédemment, ont été déshydratés dans l'échelle ascendante des alcools, ultérieurement déshydratés au moyen de la technique du point critique et recouverts d'une couche (30 μm) d'or-palladium pour l'observation au microscope électronique à balayage.

RESULTATS

A l'examen macroscopique l'odontome apparaît constitué par une série d'agrégats de dimensions diverses, renfermés dans une capsule fibreuse. Ces agrégats sont formés par des tissus mous et des tissus diversement calcifiés.

L'examen microscopique des coupes obtenues de chacun des agrégats révèle la présence de tissus dentaires qui cependant ne possèdent jamais l'organisation que l'on trouve dans une dent normale. Au microscope électronique à balayage, à faible grossissement aussi, le mélange des divers tissus résulte dégagé des rapports normaux (Fig. 1). La structure examinée a été par conséquent classifiée comme odontome complexe. La dentine, à l'examen microscopique, présente une structure tubulaire et elle est souvent recouverte par des couches de tissu adamantin.

Limitrophe à la dentine, on peut encore observer un tissu lâche avec peu d'éléments cellulaires, semblables au tissu pulpaire. Sans continuité topographique, du cément apparaît, il a des caractéristiques normales et il recouvre la dentine.



Fig. 1: Image à faible grossissement au M.E.B. d'une partie d'odontome complexe où les rapports entre les différents tissus apparaissent topographiquement altérés. M.E.B. 35 \times

Fig. 1: S.E.M. Low magnification picture of a complex odontoma portion where the relationships between different tissues are topographically altered. S.E.M. 35 \times .

Fig. 2: Email prismatique au microscope photonique. Les limites des prismes sont representés par la matrice organique basophile (\rightarrow) . 1000 ×

Fig. 2: Prismatic enamel at light microscopy. Prism borders are delineated by the basophilic organic matrix (\rightarrow). 1000 ×

Fig. 3: Le tissu calcifié de l'émail apparaît organisé normalement en colonnes prismatiques. M.E.B. 1200 ×

Fig. 3 The enamel calcifted tissue appears normally organized in a prismatic columnar pattern. S.E.M. 1200 \times

Au contraire, l'étude de l'émail se révèle d'un plus grand intérêt. Dans les échantillons décalcifiés, cet émail se présente avec une structure prismatique et les contours des prismes sont bien définis par la présence de matériel organique basophile, parfois même abondant (Fig. 2). Cet aspect à colonnes prismatiques est confirmé aussi en microscopie de surface des échantillons non décalcifiés (Fig. 3). A l'intérieur d'une portion d'émail on a observé une structure à section arrondie d'environ 80 μ m de diamètre. Celleci est formée d'une couche périphérique faiblement colorable et apparemment dépourvue de structures évidentes, elle est encore formée d'une partie plus interne traversée par des rayures claires se croisant entre elles et d'une zone centrale amorphe et intensément basophile (Fig. 4). A la périphérie, l'émail perd sa structure prismatique et il apparaît constitué par



Fig. 4: Formation complexe à section arrondie au centre d'une surface d'émail. Elle est représentée par une zone externe faiblement colorée (*) et par une zone plus interne fortement basophile et traversée, en partie, par des rayures claires. 1000 \times

Fig. 4: Complex structure round in section, inserted into the enamel. It is formed by a poorly stained peripheral zone (*) and by an inner strongly basophilic area, that is partially crossed by clear strips. 1000 \times

Fig. 5: Email externe où la structure prismatique est remplacée par des lamelles de matrice superposées, fortement basophiles. La surface de l'émail est recouverte d'une couche de cellules colonnaires (\rightarrow) et par des cellules plates. (1000 ×)

Fig. 5: Peripheral enamel where the prismatic structure is replaced by laminated basophilic material. The enamel surface is covered by a layer of columnar cells (-) and by flat cells. (1000 ×)

des couches superposées de lamelles fortement basophiles. La surface de l'émail est en grande partie recouverte par quelques couches de cellules ayant différentes caractéristiques morphologiques. Une couche de cellules hautes disposées les unes à côté des autres est en contact direct avec la surface adamantine. Ces dernières sont à leur tour recouvertes par 2 à 3 couches de cellules plates, séparées par d'amples fissures (Fig. 5). Là où l'émail n'est pas recouvert par ces deux types de cellules, il présente souvent des amas de grosses cellules claires, vacuolisées et sans une organisation précise (Fig. 6). Dans les coupes que nous avons étudiées, ces cellules apparaissent aussi en contact avec des formations globulaires de matériel amorphe, basophile et elles sont évidentes également en microscopie à balayage (Fig. 7).

A l'examen ultrastructurel, au microscope électronique à transmission et à balayage, la dentine ne présente pas de caractéristiques particulières qui diffèrent de la norme, avec des zones de croissance (Fig. 8) et avec la présence de processus odontoblastiques à l'intérieur des tubules dentinaires.

Dans l'émail prismatique la matrice organique - plutôt abondante surtout à la périphérie des prismes (gaine des prismes), a un aspect floculant. La formation globuleuse, aprismatique, observée dans une portion d'émail, se présente, du point de vue ultrastructurel, formée par une zone périphérique avec une composante filamenteuse lâche et par une zone centrale, électrodense à structure homogène, traversée dans sa partie la plus externe par des rayures claires. Celles-ci, à fort grossissement, apparaissent comme des rayures claires dépourvues de structures et elles représentent probablement les zones occupées par des formations minéralisées et vidées, par conséquent, par le processus de déminéralisation (Fig. 9).

Les cellules hautes, à palissade, qui revètent une partie de la surface de l'émail, ont d'abondantes citernes du réticulum endoplasmique rugueux, des vacuoles renfermant du matériel granulaire ou filamenteux et une abondante trame de microfilaments. La surface apicale de ces cellules est lisse et en rapport étroit avec la trame floculante de la matrice organique de l'émail. Parfois, dans cette trame on peut observer également des filaments de 8-10 nm regroupés en petits faisceaux (Fig. 10 et 11). Les surfaces latérales des cellules présentent des microvillosités courtes et irrégulières saillantes dans les espaces intercellulaires. Les cellules sont soudées entre elles au niveau apical par des dispositifs de jonction spécialisés. Ces observations au sujet de la présence de trois types cellu-



Fig. 6: Email externe en rapport avec des amas de larges cellules vacuolisées. $(1000 \times)$

Fig. 6: Peripheral enamel contiguous to clusters of large, vacuolar cells. (1000 $\times)$

Fig. 7: Sur la surface de l'émail on note, dans certaines zones, la présence de cellules d'aspect globuleux, disposées de façon irrégulière. (M.E.B. 2720 \times).

Fig. 7: In some zones of the enamel surface the presence of globular and irregularly arranged cells is evident. (S.E.M. 2720 \times)

Fig. 8: Le tissu dentinal apparaît en phase d'accroissement (calcosphérites). $(M.E.B. 300 \times)$

Fig. 8: The dentinal tissue is in a growing phase (calcopherites). (S.E.M. $300 \times$)

laires différents en rapport avec l'émail de la néoformation étudiée, sont également confirmées par l'examen tridimensionnel au M.E.B. (Fig. 13 et 14).

Les cellules plates qui recouvrent la couche de cellules colonnaires ont des noyaux ovoidaux et une trame plutôt touffue de microfilaments. Celles-ci délimitent de vastes espaces et sont soudées par des jonctions de type desmosomial (Fig. 12).



Fig. 9: Image ultrastructurelle d'une partie de la formation de la Fig. 4. La matrice floculaire organique de l'émail prismatique est présente dans la partie la plus externe de la structure (\rightarrow). La partie la plus interne est homogène et modérément électrondense avec rayures claires dépourvues de structure. (3150 ×).

Fig. 9: Ultrastructural feature of structure in Fig. 4. The enamel flocular organic matrix is present also in its peripheral part (\rightarrow). The inner part has an homogeneous, moderately electron-dense appearance with light unstructured bundles. (3150 ×).

Fig. 10 et 11: Portions apicales de cellules colonnaires contiguës (aménoblastes) unies par des structures de jonction (\rightarrow). Dans le cytoplasme on trouve de nombreux filaments, des citernes de réticulum endoplasmique rugueux et des vacuoles. Dans la partie inférieure des zones de jonction, des micro-villosités courtes et irrégulières débordent dans les espaces intercellulaires (\blacktriangleright). Les surfaces cellulaires sont recouvertes par la matrice organique de l'émail d'aspect floculaire et parfois filamenteux (voir Fig. 10). 10=12150× 11=8125×.

Fig. 10 and 11: Apical regions of contiguous columnar cells (ameloblasts) joined by junctional structures (\rightarrow). Numerous filaments, RER cisternae and vacuoles are present in the cytoplasm. Below the junctions short and irregular microvilli jut into the intercellular spaces (\blacktriangleright). The cellular surfaces are covered by the enamel floccular or filamentous (see Fig. 10) organic matrix. $10=12150 \times 11=8125 \times$.

Fig. 12: Cellules épithéliales plates, se trouvant sous l'épithélium colonnaire. Des jonctions de type desmosome soudent les cellules en plusieurs endroits (→). Le cytoplasme est très riche en micro-filaments réunis aussi en petits faisceaux. 8125×.

Fig. 12: Flat epithelial cells contiguous to the columnar epithelial cell layer. They are focally joined by desmosomes (\rightarrow). The cytoplasm is rich in bundles of microfilaments. 9125×.



12

Un troisième type cellulaire se trouve moins fréquemment en rapport avec la surface de l'émail et il est représenté par des éléments globuleux qui présentent, du point de vue ultrastructurel, un cytoplasme pauvre en organites et riche surtout en vacuoles à contenu varié.



Fig. 13: Cellules ameloblastiques ayant un aspect à palissade en contact avec l'émail (\rightarrow) et, sur le versant opposé, avec la couche de cellules épithéliales plates. (*). M.E.B. 1732×.

Fig. 13: Ameloblastic cells in a palissade pattern are in connection with the enamel (\rightarrow) and, in the other side, with the flat epithelial cells layer (\approx). S.E.M. 1732×.

Fig. 14: A plus fort grossissement on note les rapports de jonction entre les cellules colonnaires améloblastiques. M.E.B. 2620×.

Fig. 14: The junctional relationships between ameloblastic columnar cells at higher magnification. S.E.M. 2620×.

DISCUSSION

L'odontome complexe est une néoformation dans laquelle tous les tissus dentaires sont présents mais toutefois ils n'atteignent presque jamais un stade complet de différenciation (Wash et al., 1987). On a décrit la présence, dans les odontomes, d'émail avec les caractéristiques d'un tissu non complètement mûr (Tomich, 1979, Kerebel et Kerebel, 1984; Abati et al.; 1988).

Des cellules basses, avec les caractéristiques cytologiques des cellules de l'épithélium réduit de l'organe de l'émail et, par conséquent, d'éléments qui ont désormais achevé leur activité fonctionnelle, ont été décrites à la surface de ce tissu immature (Gardner et Dort, 1979; Tomich, 1979).

Nos observations comparées au microscope photonique et au microscope électronique à transmission et à balayage démontrent la présence, dans l'odontome complexe examiné, de dentine et de cément développés régulièrement et avec une morphologie normale ainsi que d'émail non complètement mûr.

Celui-ci, en effet, est caractérisé par la présence encore abondante de matrice organique, surtout sur la partie externe des prismes. Les cellules épithéliales hautes qui recouvrent l'émail ont des caractéristiques cytologiques semblables à celles des améloblastes dans la phase de maturation de l'émail. Elles peuvent donc être considérées comme des éléments encore actifs car ils sont occupés dans la phase de réabsorption de la matrice organique pour la formation de l'émail mûr. Les cellules claires, désorganisées et réunies en amas superficiels, sont semblables aux «ghost cells» décrites par d'autres auteurs (Kerebel et Kerebel, 1985).

A la différence de ce qui a été observé par d'autres auteurs (Gardner et Dort, 1979), au contraire, dans l'odontome complexe que nous avons examiné, nous avons rencontré aussi bien des cellules épithéliales améloblastiques, encore en phase active, que des cellules épithéliales qui ont subi une évolution et qui ont perdu leurs capacités de développement.

Certains auteurs ont attribué le développement altéré ou incomplet des tissus présents dans l'odontome à des anomalies dans les processus d'induction ectomésenchymale (Slootweg, 1980; Slootweg, 1981; Slootweg et Rademakers, 1983).

L'observation de tissus normalement développés à côté d'émail immature, mais avec améloblastes encore actifs, nous pousse à retenir comme possible

une autre hypothèse aussi. La persistance de la phase maturative de l'amélogénèse pourrait, en effet, être due au ralentissement de ce phénomène ou à des altérations dans les mécanismes qui le régissent après la différenciation initiale.

D'ailleurs d'autres auteurs (Kerebel et Kerebel, 1984) ont attribué à des modifications dans la composition chimique de la matrice même, la formation de l'émail immature avec abondante matrice organique.

Avec cette hypothèse correspondraient nos observations de matrice d'aspect floculant mais aussi épaissie en lamelles externes fortement basophiles et, en même temps, de zones caractérisées par la présence de faisceaux d'étroits filaments en rapport avec la surface des améloblastes. En outre, la présence aussi de la structure anormale observée dans les zones internes de l'émail prismatique, trouverait ainsi une justification.

De tout ce que nous avons observé, on peut donc retenir que les anomalies des tissus de l'odontome peuvent être attribuées, entre autre aussi, à des altérations qui interviennent après la différenciation initiale des tissus, au cours du déroulement de leur processus évolutif.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Abati S., Garattini G., Carrassi A. – SEM morphostructural findings in a case of compound odontoma. *Dent. Cadmos*, 56: 50-55; 1988.

[2] Broca – Traité des tumeurs. Vol. II; 1969.

[3] Eversole L. R., Tomic L.E., Cherrick H.A. – Histogenesis of odontogenic tumors. Oral Surg., 32: 569-581; 1971.

[4] Franklin C.D., Pindborg J.J. – The calcifying epithelial odontogenic tumor. A review and analysis of 113 cases. Oral Surg., 42: 753-765; 1976.

[5] Gardner D.G., Dort L. C. – Dysplastic enamel in odontomas. Oral Surg., 47: 238-246;1979.

[6] Kerebel B., Ribay B., Fraysse C. – Etude anatomoclinique d'un odontome. Structure et ultrastructure. *Pedod. Fr., 17:* 215-226; 1973.

[7] Kerebel L.M., Kerebel B. – Dysplastic enamel in odontoma: a light microscopic, microradiographic and SEM study. *J. Oral Pathol, 13:* 137-146, 1984.

[8] Kerebel B., Kerebel L.M. — Ghost cells in complex odontoma: a light microscopic and SEM study. Oral Surg., 59: 371-378; 1985.

[9] **Miyasato N.** — Mineralizing patterns of odontoma. Odontol. J. Nippon Dent. Coll., 59: 344-379; 1971.

[10] Reichart P.A., Ries P. – Consideration on the classification of odontogenic tumors. Int. J. Oral Surg., 12: 323-333; 1983.

[11] Sapp J.P., Gardner D.G. – An ultrastructural study of the calcifications in calcifying odontogenic cysts and odontomas. *Oral Surg.*, 44: 754-766; 1977.

[12] Slootweg P.J. — Epithelio-mesenchymal morphology in ameloblastic fibro-odontoma: a light and electron microscopic study. J. Oral Pathol., 9: 29-40; 1980.

[13] **Slootweg P.J.** — An analysis of the interrelationship of the mixed odontogenic tumors. Ameloblastic fibroma, ameloblastic fibroodontoma and the odontomas. *Oral Surg.*, *51*: 266-276; 1981.

[14] Slootweg P.J., Rademakers H.P. — Immature complex odontoma: a light and electron microscopic study with reference to eosinophilic material and epithelio-mesenchymal interaction. *J. Oral Pathol.*, 12: 103-116; 1983.

[15] **Thoma K.H., Goldman H.M.** – Odontogenic Tumors: a classification based on observation of the epithelial, mesenchymal and mixed varieties. *Am. J. Pathol.*, 22: 433-471; 1964.

[16] Tomich C.E. – The calcifying epithelial odontogenic tumor. A review and analysis of 113 cases. Oral Surg., 42: 753-764, 1976.

[17] Tomich C.E. – Dysplastic enamel in odontomas. Oral Surg., 47: 238-246; 1979.

[18] Walsh K.M., Denholm L.J., Cooper B.J. – Epithelial odontogenic tumors in domestic animals. J. Comp. Pathol., 97: 503-521; 1987.

Adresse des Auteurs: C. PIACENTINI Clinica Odontoiatrica dell'Università O.S.M. 27100 PAVIA - Italia