

TRANSPLANTATIONS D'ÉBAUCHES DENTAIRES DANS LE TESTICULE DE LA SOURIS

M. HERITIER et M. DEMINATTI

(Laboratoire de Biologie buccale de l'U.E.R. d'Odontologie et
Laboratoire d'Embryologie et de Cytogénétique de la Faculté de Médecine de Lille,
France)

INTRODUCTION

Dans le cadre de travaux axés sur la différenciation des ébauches dentaires de Souris, nous nous sommes efforcés de rechercher un milieu vivant qui permette la différenciation et l'évolution jusqu'à la morphogénèse coronaire de tissus odontogènes nécessairement très jeunes.

Les résultats obtenus chez le Cobaye dans le cas d'homogreffes glandulaires intratesticulaires par ARON et ses collaborateurs (ARON, PETROVIC, WEILL et DEMINATTI, 1953 ; PETROVIC, WEILL et DEMINATTI, 1953 ; MARESCAUX et DEMINATTI, 1955 a et b) et les affinités aussi prometteuses que celles qui semblaient exister entre les ébauches dentaires et le testicule, nous ont conduit à réaliser, chez la Souris, des homotransplantations intratesticulaires d'ébauches dentaires afin d'y observer le comportement de nos greffons dans ces conditions et d'y analyser par ce moyen les processus de leur différenciation et de leur morphogénèse.

Les gonades en effet, n'atteignent, comme les dents, leur maturité morphologique et fonctionnelle que tardivement. En outre, elles proposent à la greffe expérimentale un site qui s'est révélé assez exceptionnel pour nos travaux et où le contact antigène anticorps ne semble pas s'exercer.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Depuis l'année 1969, au cours de laquelle fut effectuée notre première tentative, nous avons eu l'occasion de procéder à plus de 400 greffes intratesticulaires de matériel odontogène. Toutes ces expériences ont été réalisées chez la Souris ; d'abord sur des mâles de souche RAP, ensuite sur des sujets de souche Swiss.

Selon les nécessités du protocole, les explants ont été prélevés chez les embryons ou des fœtus d'âge divers, soit sur un matériel dont l'âge s'étend du 10^e jour de la gestation jusqu'au 20^e jour in utero. Plus précisément il s'agit de zones présomptives molaires ou incisives pour les explants les plus jeunes ou de germes dentaires en évolution pour les explants les plus âgés.

Les opérations sont effectuées dans un local stérile à l'aide d'une instrumentation également stérile. Après anesthésie à l'éther puis ouverture des plans superficiel et profond d'une bourse, un testicule de l'animal receveur

est en partie extériorisé. Le greffon est placé au cœur du testicule au moyen d'un trocart approprié. Pour finir, la plaie est suturée.

Les testicules sont prélevés après des périodes variables allant de 5 à 12 jours. Ils sont fixés grâce au liquide de BOUIN-HOLLANDE puis techniqués selon des méthodes courantes.

RÉSULTATS

I. Etude de la différenciation d'ébauches dentaires dans les conditions de la greffe intratesticulaire

Il s'agit d'explants constitués par des zones présomptives molaires ou incisives prélevés sur des embryons âgés de 10, 11 et 12 jours. Durée des greffes : 3 à 11 jours.

D'un point de vue quantitatif, les résultats sont nuls pour les explants originaires d'embryons de 10 jours (rappelons ici, à ce propos, que les explants sont constitués par des zones présomptives disséquées des mandibules). En revanche 88,8% des greffons de 11 jours d'âge donnent des dents en évolution et 73,3% des greffons de 12 jours parviennent à un stade avancé de la morphogénèse dentaire.

D'un point de vue qualitatif, les ébauches se sont différenciées d'une manière remarquablement conforme à la croissance normale et les organes obtenus après 10 jours de greffe présentent toutes les caractéristiques d'incisives ou de molaires de Souriceaux à la naissance.

L'étude histologique des greffons les plus évolués permet d'observer du dedans au dehors, une papille pulpaire occupée au centre par des cellules indifférenciées de type fibroblastique et à la périphérie par des odontoblastes en activité sécrétoire comme en témoigne leur structure cellulaire et les couches de prédentine et dentine.

Çà et là on remarque la lumière d'un capillaire en transit. Nous avons noté la tendance de certaines papilles pulpaires à évoluer vers un type osseux comme en témoignent les dépôts d'osséine qu'on y trouve parfois.

Sur la couche la plus externe de la dentine apparaît souvent une couche d'émail plus ou moins calcifiée selon la portion coronaire considérée. Puis toujours en direction centrifuge on remarque une couche d'améloblastes en parfaite conformité structurale avec les images classiques de l'amélogénèse, un

PLANCHE I

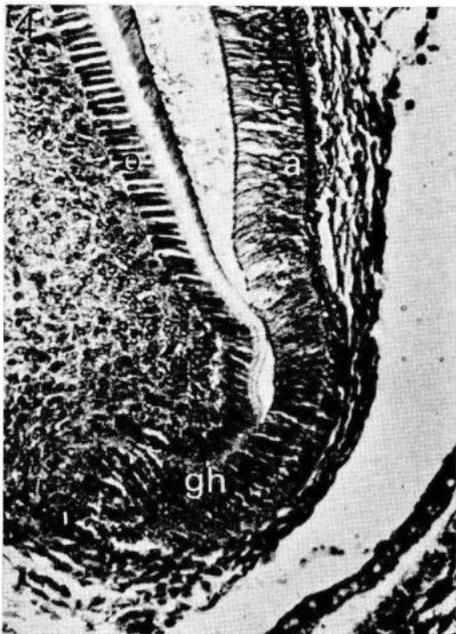
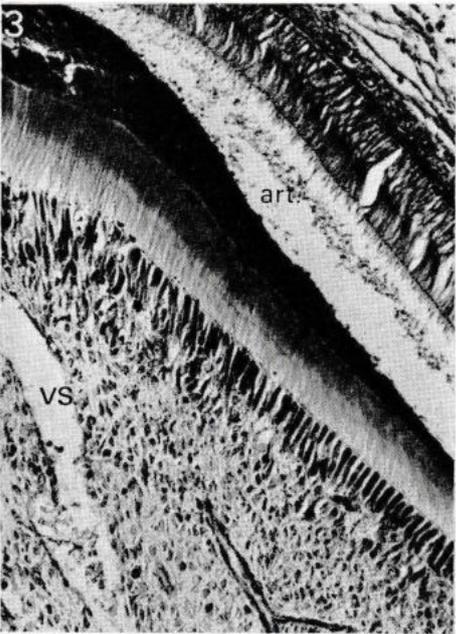
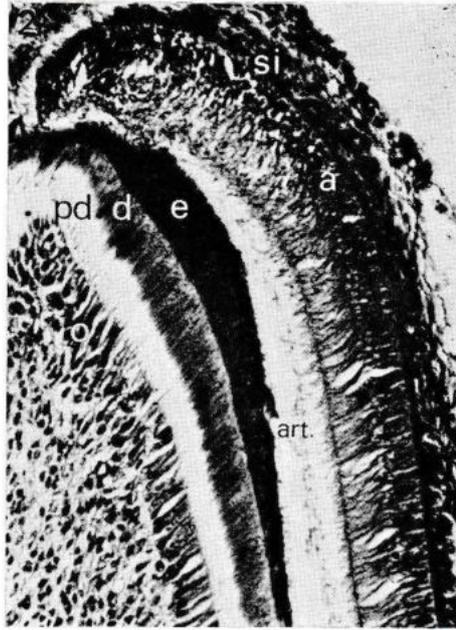
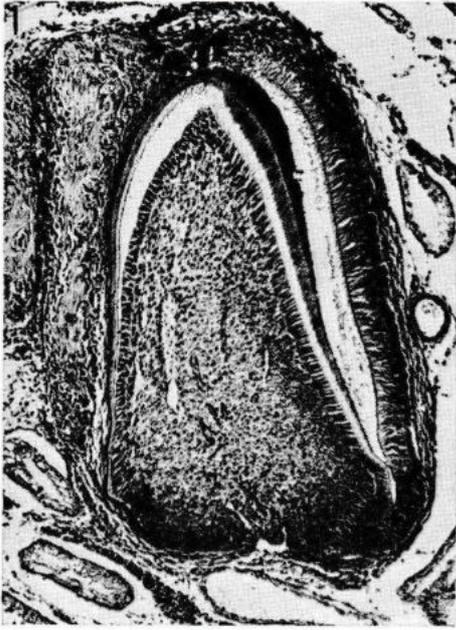
Transplantations intratesticulaires d'ébauches dentaires embryonnaires. Testicule prélevé 11 jours après l'explantation.

Fig. 1. Explant de stade 2. Incisive en coupe sagittale; le hiatus entre la couche des améloblastes (à gauche) et la couche d'émail est un artefact entre la couche de dentine non recouverte d'émail (à droite) et l'assise odontoblastique ($\times 25$).

Fig. 2. Même cas qu'en figure 1. Détail montrant les couches successives de tissus durs et mous. Si. Stratum intermédiaire. - a. Améloblastes. - e. Email. - d. Dentine. - pd. Pré-dentine. - o. Odontoblastes. - ar. Artefact ($\times 63$).

Fig. 3. Même cas qu'en figure 1. Détail de la lumière des vaisseaux pulpaires encombrés d'hématies (VS) ($\times 63$).

Fig. 4. Même cas qu'en figure 1. Détail montrant la réflexion épithéliale constituant la gaine de HERRWIG (gh). a. Améloblastes. - o. Odontoblastes ($\times 63$).



stratum intermédiaire compact et les restes d'un reticulum stellaire en cours d'involution.

L'épithélium externe entoure le tout d'un manchon continu dont la partie terminale se réfléchit en bourrelet vers l'épithélium interne pour constituer la gaine de HERRWIG où l'on observe de nombreuses mitoses.

Fréquemment l'étude microscopique du greffon permet de distinguer autour des dents en évolution des formations paradentaires plus ou moins importantes. On observe souvent la présence d'os qui s'est constitué aux dépens du mésenchyme banal de l'explant, élaborant ici des fresques d'osséine trabéculaires. Parfois une plage de cartilage originaire du blastème de Meckel s'ajoute à ces formations osseuses attestant de sa bonne adaptation à ce milieu.

En outre, lors de la dissection des explants il est pratiquement inévitable d'emporter, avec les plages odontogènes, des morceaux de tissu épithélial destiné au revêtement buccal. C'est pourquoi on retrouve très souvent des masses de tissu épithélial qui s'ordonnent en assises pavimenteuses stratifiées de type malpighien ; quelquefois ces inclusions épithéliales se présentent sous forme d'une masse sphérique au sein de laquelle se constitue parfois une poche kystique qui se comble de lamelles kératinisées disposées en couches régulières.

II. Etude de la morphogenèse coronaire des dents dans les conditions de la greffe intratesticulaire

Les implants sont ici constitués par des réassociations tissulaires hétérogènes préalablement cultivées *in vitro*. On a procédé comme suit : des zones odontogènes molaires et incisives sont disséquées chez l'embryon au 11^e jour de la gestation ; les parties épithéliales et mésenchymateuses sont dissociées par action de la trypsine diluée puis réassociées de la manière suivante : épithélium incisif et mésenchyme molaire, épithélium molaire et mésenchyme incisif. La soudure des recombinaisons s'effectue *in vitro* à l'étuve à 37° pendant 16 heures environ. L'explant est alors véhiculable et prêt pour la transplantation intratesticulaire.

PLANCHE II

Transplantations intratesticulaires d'associations hétérologues d'épithélium et de mésenchyme odontogènes.

Fig. 1 et 2. Testicules prélevés 8 jours après transplantation.

Fig. 1. Association de mésenchyme incisif et d'épithélium molaire : formation d'une incisive au sein des tubes séminifères ($\times 30$).

Fig. 2. Association de mésenchyme molaire et d'épithélium incisif : formation d'une molaire entourée d'annexes osseuses et malpighiennes ($\times 75$).

Transplantations intratesticulaires de germes d'incisives

Testicules prélevés après 9 à 11 jours de greffe.

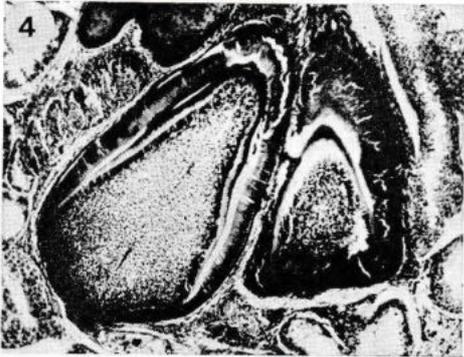
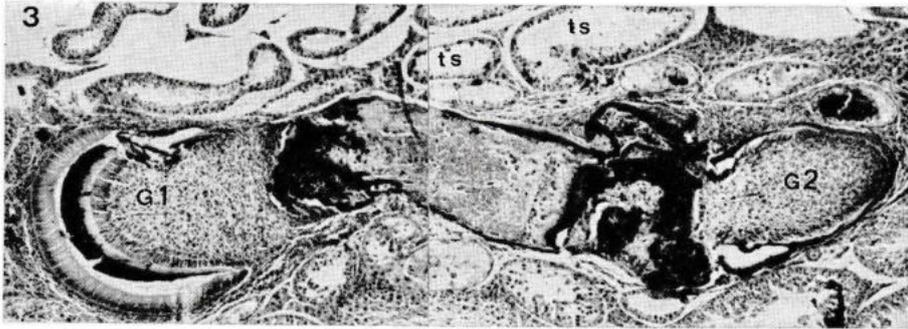
Fig. 3. Odontome complexe formé par la réunion de deux explants (G1 et G2) qui ont fusionné dans leur région radiculaire respective. Chaque extrémité du greffon est occupée par une couronne en formation ($\times 50$) (montage).

Fig. 4. Résultat d'une transplantation intratesticulaire de deux moitiés d'ébauches d'incisives hétérologues prélevées sur un fœtus de Souris de 14 jours. Résultat : formation de deux germes d'incisives évoluant côte à côte ($\times 75$).

Fig. 5. Résultat d'une transplantation intratesticulaire de deux germes homologues droit et gauche d'incisive de Souris (fœtus de 20 jours). Résultat : l'assise des améloblastes apparaît invaginée dans la masse du mésenchyme ; elle repose sur une couche de dentine. C'est l'image de la dens *in dente* en évolution ($\times 75$).

Les associations d'épithélium incisif et de mésenchyme molaire provoquent la différenciation de germes dentaires qui sont identifiés comme des molaires grâce à leur morphologie cuspidienne typique.

Les associations d'épithélium molaire et de mésenchyme incisif nous ont permis d'obtenir la différenciation de germes d'incisives caractérisés par leur forme allongée et la présence sur une face seulement d'une assise d'améloblaste.



III. Malformations dentaires expérimentales

Pour cette étude nous avons utilisé des germes d'incisives inférieures prélevés au 15^e, 18^e ou 20^e jour de la gestation. Après dissection soignée les germes droit et gauche d'un même fœtus sont réunis côte à côte dans la lumière d'un trocart et transplantés dans le testicule de jeunes mâles consanguins.

Nous avons obtenu dans ces conditions la constitution d'un certain nombre de formations dentaires présentant des analogies frappantes avec certaines anomalies qu'on peut observer chez l'Homme. Soit :

- 1 cas de gemination : l'examen des coupes sériées révèle en effet l'existence de trois ébauches distinctes. Les trois germes apparaissent bien individualisés sauf en un endroit où ils partagent, passagèrement, un mésenchyme commun.
- 9 cas de fusion et coalescence de germes. L'union peut s'effectuer soit dans la partie coronaire, soit dans la partie radulaire.
- 4 cas de Dens in Dente, divers dentômes coronaires et radulaires et quelques autres anomalies de structure.

DISCUSSION

La connaissance des processus de l'organogénèse dentaire paraît indispensable à l'interprétation de nombreux aspects de la pathologie dentaire, notamment des anomalies de nombre, de forme et des tumeurs dysorganoplastiques.

Aussi, à l'époque où nous avons appréhendé le problème, l'organogénèse dentaire avait-elle déjà été étudiée *in vitro* par GLASSTONE (1936, 1938, 1952, 1964, 1967 a et b), SZABO (1954), LEFKOWITZ et SWAYNE (1956 a et b), NIIZIMA (1956), GERSTNER et BUTCHER (1958), HAY (1961), POURTOIS (1964), KOCH (1967), KOLLAR et BAIRD (1968 et 1969), RUCH, KARCHER-DJURICIE et MOULLEC (1970).

Ces Auteurs utilisant des matériels divers avec des méthodes et des milieux de culture fort différents, ont pu réaliser des investigations fructueuses et nous faire entrevoir une partie du mécanisme de l'odontogénèse.

Mais il apparaît que la culture *in vitro* bien qu'offrant aux germes dentaires des Mammifères des conditions métaboliques acceptables et surtout des possibilités d'observation exceptionnellement bonnes pour l'expérimentateur n'en est pas moins assez limitée dans ses applications. L'inconvénient majeur de cette méthode réside dans l'étroitesse des possibilités de survie des tissus embryonnaires dans ces conditions, ceux-ci n'exprimant en définitive qu'un potentiel d'évolution d'autant plus restreint que les explants sont jeunes.

C'est pourquoi, parallèlement à ces travaux *in vitro*, des auteurs avaient étudié les rouages de l'épigénèse dentaire au moyen de méthodes de transplantation *in vivo*.

La transplantation *in vivo* propose en effet aux explants un contexte biologique physiologiquement organisé. Le bain de liquides organiques et surtout le relais circulatoire offerts par l'hôte constituant un milieu plus capable de mener à leur terme néo-natal de jeunes ébauches dentaires et ce, conformément à leur évolution normale.

Depuis l'expérience classique de LEGROS et MAGITOT (1874), de nombreux chercheurs avaient donc tenté la greffe de germes dentaires de Chien, Lapin, Cobaye, Rat, Souris dans des endroits différents de receveurs aussi variés que les donneurs, exploitant les possibilités de l'homogreffe, autogreffe, hétérogreffe et greffe bréphoplastique (WATERMAN, 1932 ; HUGGINS, Mac CARROL et DALHERG, 1934 ; WILLIS, 1935 ; STUDISKY, 1937 ; HAHN, 1941 ; FLEMING, 1952, 1953 a et b ; GLASSTONE, 1954 ; MILLER, 1964 ; MICHEL, 1967).

Si nombreux sont les sites d'implantation qui n'apparaissent pas particulièrement favorables à ce genre d'expérience, d'autres comme l'épiploon du Lapin ou l'encéphale du Rat conviennent assez bien à la réception d'homotransplants.

Pour ce qui concerne plus particulièrement des dents, organes que l'on peut qualifier de « dormants » et dont l'évolution s'étale sur des années il nous a semblé qu'il était tout spécialement indiqué de leur offrir comme site de transplantation l'organe qui dans le cadre de l'ontogénèse n'atteint lui aussi sa maturité que lentement.

L'échec de WILLIS (1935) dans ses tentatives de greffes intratesticulaires provient certainement du fait qu'il ne possédait pas la méthode mise au point par M. ARON et ses collaborateurs (1953).

En revanche nos travaux nous autorisent à considérer que le milieu testiculaire s'avère exceptionnellement favorable au développement des ébauches dentaires même très peu différenciées, pour des raisons que nous ignorons.

Techniquement, l'accès et l'extériorisation du site d'implantation sont faciles et les suites opératoires bien supportées par l'animal dans la grande majorité des cas. Le volume testiculaire offre à nos explants un logement suffisant pour leur évolution et la structure élastique du parenchyme testiculaire permet un développement dans de bonnes conditions, sans engendrer de déformation. La morphogénèse dentaire s'effectue régulièrement en repoussant la masse assez souple des tubes séminifères.

D'un point de vue expérimental cette méthode nous a permis d'obtenir l'évolution et la morphogénèse de dents à partir d'éléments à peine différenciés (stade de la prolifération épithéliale localisée). Nous avons pu alors observer la constitution de dents très évoluées dont la morphogénèse est conforme qualitativement et chronologiquement à celle des ébauches fœtales in utero.

Elle nous a en outre permis de mettre en valeur le rôle prépondérant joué par le mésenchyme odontogène dans la morphogénèse spécialisée qui se concrétise par la présence d'incisives ou de molaires sur l'arcade. Il apparaît que cette différenciation en incisive ou molaire est imputable à la partie mésenchymateuse de l'ébauche.

Enfin, nous avons pu montrer qu'il était possible chez la Souris de provoquer expérimentalement des anomalies dentaires qui présentent des analogies frappantes avec celles que l'on observe dans la denture humaine. Nous avons pu avancer l'hypothèse que nombre d'anomalies dentaires pourraient avoir pour origine un excès de matériel odontogène.

BIBLIOGRAPHIE

- ARON M., PETROVIC A., WEILL C. et DEMINATTI M. - Homogreffes du Cobaye. C.R. Acad. Sci., 237, 753-754 (1953).
- FLEMING H.S. - Homolous and heterologous intraocular growth of planted tooth germs. J. Dent. Res., 31, 166-188 (1952).
- FLEMING H.S. - The osteogenic tendency of dentine after formation in tooth germ transplants. C.R. Oral Surg., 6, 1315-1324 (1953 a).
- FLEMING H.S. - Effect of cristalline cortisone acetate on growth of intraocular transplants of tooth germs. J. Dent. Res., 32, 101-109 (1953 b).
- GERSTNER R. et BUTCHER E. - In vitro studies of tooth germ and pulp development. J. Dent. Research, 37, 384-390 (1958).
- GLASSTONE S. - The development of tooth germs in vitro. J. Anat. London, 70, 260-266 (1936).
- GLASSTONE S. - A comparative study of the development in vivo and in vitro of Rat and Rabbit molars. Proc. Roy. Soc., 126, 315-330 (1938).
- GLASSTONE S. - The development of halved tooth germs, a study in experimental embryology. J. Anat., 86, 12-15 (1952).
- GLASSTONE S. - The development of tooth germs on the chick chorio-allantois. J. Anat., 88, 3, 392-399 (1954).
- GLASSTONE S. - Cultivation of Mouse tooth germs in a chemically defined protein-free medium. Arch. Or. Biol., 9, 1, 27-30 (1964).
- GLASSTONE S. - Development of tooth in tissue culture. J. Dent. Res., 46, 858-861 (1967 a).
- GLASSTONE S. - Morphodifferentiation of tooth in embryonic mandibular segments in tissue culture. J. Dent. Res., 46, 611-614 (1967 b).
- HAHN W.E. - The capacity of developing tooth germ elements for self differentiation when transplanted. J. Dent. Res., 20, 5-19 (1941).
- HAY F. - The development in vivo and in vitro of the lower incisor molar of the Mouse. Arch. Or. Biol., 3, 86-108 (1961).
- HUGGINS C.B., Mc CARROLL H.R. et DAHLBERG A.A. - Transplantation of tooth germ elements and the experimental heterotopic formation of dentine and enamel. J. Exp. Med., 60, 199-208 (1934).
- KOCH W.E. - In vitro differentiation of tooth rudiments of embryonic Mice. J. Exp. Zool., 165, 155-170 (1967).
- KOLLAR Ed.J. et BAIRD G.R. - Effect of Beta-2-Thienylalanine in developing Mouse tooth germs in vitro. J. Dent. Res., 47, 3, 433-443 (1968).
- KOLLAR E.J. et BAIRD G. - The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in embryonic Mouse tooth germs. J. Embryol. Exp. Morph., 21, 131-148 (1969).
- LEFKOWITZ et SWAYNE - Cultivation of tooth germs in an embryo extract free-medium. J. Dent. Res., 33, 440-445 (1956 a).
- LEFKOWITZ et SWAYNE - In vitro cultivation of Rat molar tooth germ. J. Dent. Res., 35, 523-532 (1956 b).
- MARESCAUX J. et DEMINATTI M. - Déterminisme de l'évolution de greffes intratesticulaires d'ovaires de fœtus et de nouveaux-nés chez le Cobaye. C.R. Soc. Biol., 149, 570-572 (1955 a).
- MARESCAUX J. et DEMINATTI M. - Nouvelles recherches sur la fonction gonadostimulante de la préhypophyse par la méthode de greffes intratesticulaires chez le Cobaye. C.R. Soc. Biol., 149, 1019-1021 (1955 b).
- MICHEL F. - Anatomie des germes dentaires et greffes de ceux-ci chez la Souris sous la capsule du rein. Bull. Ass. Anat., 52, 835-892 (1967).
- MILLER W.A. - Experimental explantation of the dental lamina in Mice, Preliminary report. J. Dent. Res., abstract, 969 (1964).
- NIIZMA M. - Enamel epithelium on tissue culture. Am. J. Anat., 99, 351-389 (1956).

- PETROVIC A., WEILL C. et DEMINATTI M. - Réussite de greffes glandulaires homoplastiques dans le testicule du Cobaye. C.R. Soc. Biol., 147, 495-497 (1953 a).
- POURTOIS M. - Comportement en culture in vitro des ébauches dentaires de rongeurs prélevées aux stades de prédifférenciation. J. Embryol. Exp. Morph., 12, 391-405 (1964).
- RUCH J.V., KARCHER-DJURICIE V. et MOULLEC N. - Etude de la différenciation in vitro d'ébauches de molaires inférieures, d'embryons de Souris. C.R. Soc. Biol., 164, 419-422 (1970).
- STUDISKY A.N. - Die Entwicklung der embryonalen Zahnpulpa in den Transplantaten in der Chorio-Allantois. Anat. An., 83, 304-310 (1937).
- SZABO - Studies on the cultivation of teeth in vitro. J. Anat. Lond., 88, 31-44 (1954).
- WATERMAN A.J. - The capacity for independant self-differentiation exhibited by isolated primordia of the Rabbit embryo transplanted to the omentum. Am. J. Anat., 50, 451-507 (1932).
- WILLIS R.A. - Experiments on the intracerebra implantation of embryo tissues in Rats. Proc. R. Soc., 117, 400-412 (1935).

Prof. M. HERITIER
Laboratoire de Biologie Buccale
U.E.R. d'Odontologie

Prof. M. DEMINATTI
Laboratoire d'Embryologie et Cytogénétique
Faculté de Médecine
1, Place de Verdun
59045 LILLE CEDEX/FRANCE