Chapitre 2

Os et dents

Yannicke Dauphin
UFR TEB Université P. et M. Curie, Paris
et
GDR 3591 TaphEnA : Taphonomie, Environnement et Archéologie

Les tissus minéralisés des vertébrés sont connus depuis le Paléozoique, et ont évolué. On distingue habituellement les tissus squelettiques (os et cartilage), et les tissus dentaires (émail et dentine). Cependant, cette distinction ne reflète qu'imparfaitement leur origine tissulaire complexe [1-2], et les hypothèses traditionnelles sont régulièrement remises en cause. Il semble ainsi que les dents peuvent se former à partir de n'importe quel tissu épithélial, et que les expressions des gènes des dents pharyngiales et orales sont très similaires [3]. De plus, il faut noter que les structures (histologie) des tissus minéralisés au Paléozoique étaient beaucoup plus variées que ce qui existe à l'époque actuelle [4].

En ce qui concerne l'utilisation des os et dents en archéométrie, la différence la plus importante entre os, émail et dentine est probablement la présence de nombreuses cellules qui remodèlent l'os pendant toute la vie de l'organisme, et qui sont susceptibles de laisser de l'ADN dans les fossiles. La connaissance des tissus actuels est indispensable pour comprendre et interpréter les échantillons archéologiques et fossiles, qu'il s'agisse des marques de surface (stries d'usure, de mastication, etc.), des formes et emplacements de fracture, ainsi que des altérations de structure et de composition. En outre, en ce qui concerne émail et dentine, ils ont, à des degrés divers, des caractéristiques qui peuvent aider à un diagnostic taxonomique.

2.1 L'os

Les os sont des éléments rigides, et servent au soutien des animaux. Ils sont divisés en os longs (humérus), plats (scapula), courts (vertèbres), etc. Ils jouent un rôle vital puisqu'ils produisent des cellules sanguines. La littérature dédiée à l'os est énorme, tant dans le domaine biologique, médical qu'archéo-paléontologique. En effet, le mode de croissance, la morphologie, la composition, les propriétés mécaniques, etc. sont autant de critères qui déterminent le comportement des os au cours de la fossili-

sation. Ainsi, l'un des paramètres déterminant de la résistance d'un os est le rapport organique - minéral. Cependant, ce rapport reste insuffisant pour expliquer toutes les propriétés ; l'histologie, la morphologie fibrillaire du collagène, etc. jouent également un rôle.

2.1.1 Ostéogenèse

Les cellules responsables de la mise en place et du renouvellement de l'os sont les ostéoblastes. Chez l'humain, le processus d'ossification des os longs débute au cours du 3è mois de la vie embryonnaire, et vers 25 ans, l'ossification de tous les os est pratiquement achevée. Les ostéoblastes sont appelés ostéocytes quand ils ne sont plus capables de secréter la matrice organique qui sert de base à la minéralisation. Ils sont localisés dans des lacunes remplies de fluide extracellulaire, lacunes souvent encore visibles dans les os anciens ou fossiles. La présence de liquide est un facteur non négligeable dans la fossilisation. Les canalicules sont de minuscules canaux contenant des expansions qui participent à la mise en place du minéral. Quant aux ostéoclastes, ils sont responsables de la résorption de l'os. De la naissance au stade adulte, le nombre d'os peut changer car certains fusionnent.

L'os est en permanent renouvellement. Les ostéoblastes secrètent une matrice organique appelée ostéoide, composée à environ 95% de collagène, mais aussi des vitamines et des enzymes. Environ deux semaines plus tard, la minéralisation commence et atteint rapidement environ 70%. Le processus se ralentit ensuite et se prolonge pendant plusieurs mois pour les 30% manquants. Le nombre d'ostéones augmente avec l'âge, ce qui n'est pas sans influence sur la fossilisation.

Malgré de très nombreuses études, les mécanismes exacts de la minéralisation osseuse et le rôle des protéines et autres composés organiques et minéraux demeurent encore peu clairs [5].

2.1.2 Composition

L'os est un biocomposite, formé d'apatite (dont la nature exacte est encore un sujet de controverse) et d'une matrice organique. On trouve souvent des estimations des proportions entre matrice minérale, matrice organique et eau + cellules. Cependant, il est rarement précisé si ces proportions sont en poids ou en volume, ce qui est important compte-tenu des différences de densités entre ces composants [6]. En poids, ces proportions sont : 60-70% de minéral, 20-30% de composés organiques et 10% d'eau [6, 7]. Pour mieux connaître sa composition, deux voies sont possibles : analyser simultanément les composés organiques et minéraux, les analyser séparément. Dans le premier cas, on peut faire ces analyses *in situ* ou non. Par exemple, la spectrométrie infrarouge peut être faite sur des poudres, mais on peut également établir des cartographies qui montrent les relations topographiques entre composés organiques et minéraux [8]. Il en est de même pour les analyses à la microsonde électronique.

2.1.2.1 La phase minérale

L'apatite osseuse est décrite comme une carbonato-apatite, une hydroxy-apatite, voire une carbonato-hydroxyapatite. Elle a également été appelée dahllite. De ce

point de vue, les diverses techniques d'analyse par diffraction X sont efficaces [9]. Les cristaux sont de structure hexagonale, mais la cristallinité est faible. La proportion d'ions carbonate varie entre 4 et 7%, et deux types de substitution ont été identifiés : les ions CO_3 remplacent des PO_4 (type B), ou des ions OH (type A) [10].

Les deux éléments chimiques majoritaires sont Ca et P, dans des rapports non stochiométriques (Figure 1). Les éléments chimiques moins abondants (dits mineurs, ou traces) sont parfois caractéristiques du tissu, de son mode de formation. Ils seront également de très bons indicateurs de la diagenèse.

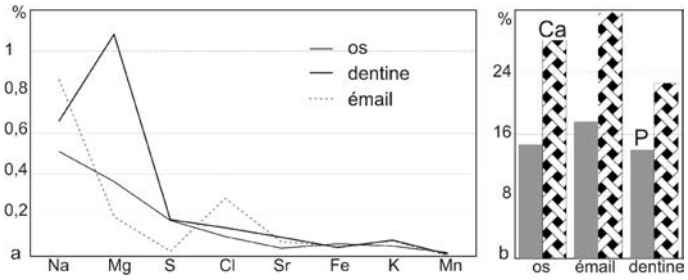


FIGURE 1 – composition chimique élémentaire des trois principaux tissus minéralisés de micromammifères actuels (rongeurs). A noter : la très forte teneur en Mg de la dentine des incisives à croissance continue.

2.1.2.2 Les phases organiques

On peut séparer les composés minéraux et organiques de l'os par une déminéralisation dans des conditions telles que les phases organiques ne seront pas altérées. De très nombreuses publications d'ordre médical traitent de la composition des composés organiques. Mais ces données ne sont pas toujours très utiles comme références. Tout d'abord, les taxons utilisés sont très peu nombreux, et souvent soumis à une expérimentation (régime alimentaire particulier, exercices physiques. . .). En outre, la plupart de ces articles analyse soit les cellules osseuses, soit la matrice extra-cellulaire. Or ces deux éléments interviennent au cours de la fossilisation et sont plus ou moins bien conservés. Il faut donc établir des données sur des animaux sauvages ou domestiqués selon le but de l'étude, mais surtout prendre en compte l'ensemble des composés organiques, cellulaires et extracellulaires.

La matrice organique est composée majoritairement de protéines, parmi lesquelles le collagène de type I est dominant puisque sa proportion peut atteindre 90%. Parmi les protéines non collagéniques, généralement référées comme NCP (non collagen proteins), on trouve l'ostéocalcine, l'ostéonectine, des sialoprotéines, etc. Le rôle essentiel des phosphoprotéines a été maintes fois mis en évidence [11-14]. Dans l'ensemble, les NCP sont très acides. Des composés de type protéoglycane et glycosaminoglycane ainsi que des lipides sont également connus.

En fait, dans un premier temps, le plus important est d'obtenir des données globales (poids moléculaires, acidité, etc.), car généralement les composés organiques sont peu abondants dans l'os ancien ou fossile, et vouloir séparer et identifier les protéines ou les lipides par exemple n'est pas possible. De nombreuses techniques permettent

d'obtenir ce type de données. Par exemple, la spectrométrie UV permet de constater que les fractions solubles de deux rongeurs actuels diffèrent (Figure 2a), alors que les fractions insolubles sont similaires (Figure 2b). Ceci n'est pas contradictoire puisque dans tous les taxons, la fraction insoluble est majoritairement collagénique.

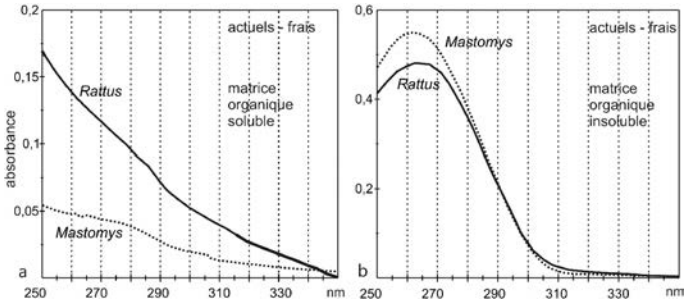


Figure 2 – composition des phases organiques extraites des os de deux rongeurs actuels. Malgré leur proximité taxonomique, les matrices solubles sont nettement différentes en spectrométrie UV.

Si l'on veut obtenir des données qui ne concernent pas que les protéines, la spectrométrie infrarouge est bien adaptée, surtout lorsque l'on peut disposer d'un accessoire qui permet d'éviter la confection des pastilles pressées des systèmes traditionnels. En effet il a été mis en évidence que les pressions utilisées pour réaliser ces pastilles provoquent une élévation de température qui modifie les composés organiques [15]. La comparaison des matrices insolubles de deux espèces montre leur très grande similarité, mais met en évidence le fait que les matrices insolubles ne sont pas composées uniquement de collagène, contrairement à une idée trop répandue (Figure 3). Des sucres notamment sont présents.

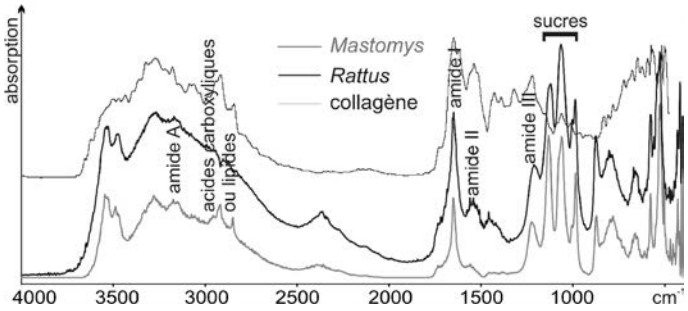


Figure 3 – spectres FTIR sur poudre des matrices organiques insolubles extraites des os, montrant la présence de sucres.

Il est possible de préciser la composition protéique, grâce aux pourcentages d'acides aminés (Figure 4). Les trois acides aminés les plus abondants sont caractéristiques du collagène. Ils sont les plus abondants également dans la matrice soluble, car une partie du collagène est solubilisée lors de la déminéralisation de l'os. Les bactéries ayant des acides aminés caractéristiques, une contamination chez les fossiles peut ainsi être détectée. Par contre, de nombreux champignons qui contaminent les os fossiles contiennent du collagène.

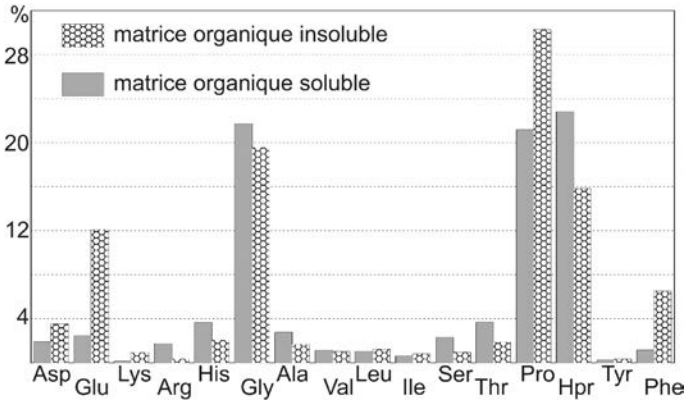


FIGURE 4 – composition en acides aminés des matrices organiques extraites d'os actuels. La matrice extracellulaire est prise en compte, car elle joue un rôle important lors de la fossilisation. Sur les fossiles, les bactéries contaminantes sont détectables grâce à leurs acides aminés.

2.1.3 Structure (Figure 5)

La structure de l'os n'est pas homogène. Outre les vaisseaux sanguins et les cellules qu'il contient, on distingue de l'intérieur vers l'extérieur : l'endosteum, l'os trabéculaire (ou spongieux), l'os compact (ou cortical) et le périoste. L'endosteum est un tissu conjonctif recouvrant la surface interne de tous les os. L'os trabéculaire forme la périphérie de la cavité médullaire au niveau des épiphyses des os longs ainsi qu'à l'intérieur des vertèbres par exemple. Il est dépourvu d'ostéones et de structure haversienne (Figure 5a). L'os compact compose la partie externe de l'os et les ostéones sont sa structure de base (Figure 5c-f). On en identifie plusieurs types. Par exemple, un ostéone primaire a un canal central d'un diamètre inférieur à 100 μm avec généralement plus de deux vaisseaux sanguins. Les ostéones secondaires possèdent un seul vaisseau sanguin central dans un large canal. Le nombre d'ostéones augmente avec l'âge de l'individu. L'os lamellaire a une organisation complexe, puisque ces lamelles sont elles-mêmes composites et ont des orientations différentes, ce qui renforce la structure osseuse (Figure 5c, g). La couche la plus externe, le périoste, est une membrane de tissu conjonctif bilamellaire, liée à l'os par des fibres de collagène (les fibres de Sharpey). Cette membrane contient en outre des nerfs et des vaisseaux sanguins [16].

Comme toutes les structures minéralisées biologiques, l'os est une organisation hiérarchique. Le nombre de niveaux reconnu dépend des auteurs ; il varie habituellement entre 5 et 7. Weiner et Wagner [17], Beniash [7] ont décrit 7 niveaux, allant de l'organe à la molécule. Les premières observations de la structure osseuse à un niveau micrométrique ont été réalisées au microscope électronique à transmission (TEM) [18, 19]. Les grandissements et la résolution de ces images sont remarquables, mais comme toujours, la préparation des échantillons est délicate, et peut induire des artéfacts. Il en est de même pendant l'observation, l'intensité du faisceau d'électrons étant suffisamment importante pour amorphiser, ou au contraire cristalliser des zones qui ne l'étaient pas initialement. De ce point de vue, le microscope électro-

nique à balayage (MEB) est plus souple : les modes préparatoires sont plus variés, moins contraignants, les images sont « en relief » et les grandissements et résolution maintenant très efficaces. Une alternative particulièrement performante est le microscope à force atomique. Il combine en effet les performances du MET et du MEB, et permet de travailler directement sur des échantillons non conducteurs [20]. Les dimensions moyennes des cristallites sont de 50 x 25 x 5 nm. Cependant, les diffficultés de préparation sont nettement mises en évidence sur les disparités qui entourent la description de ces cristallites : "plate-like, tablet-like", ou "needle-like" [21] (Figure 6).

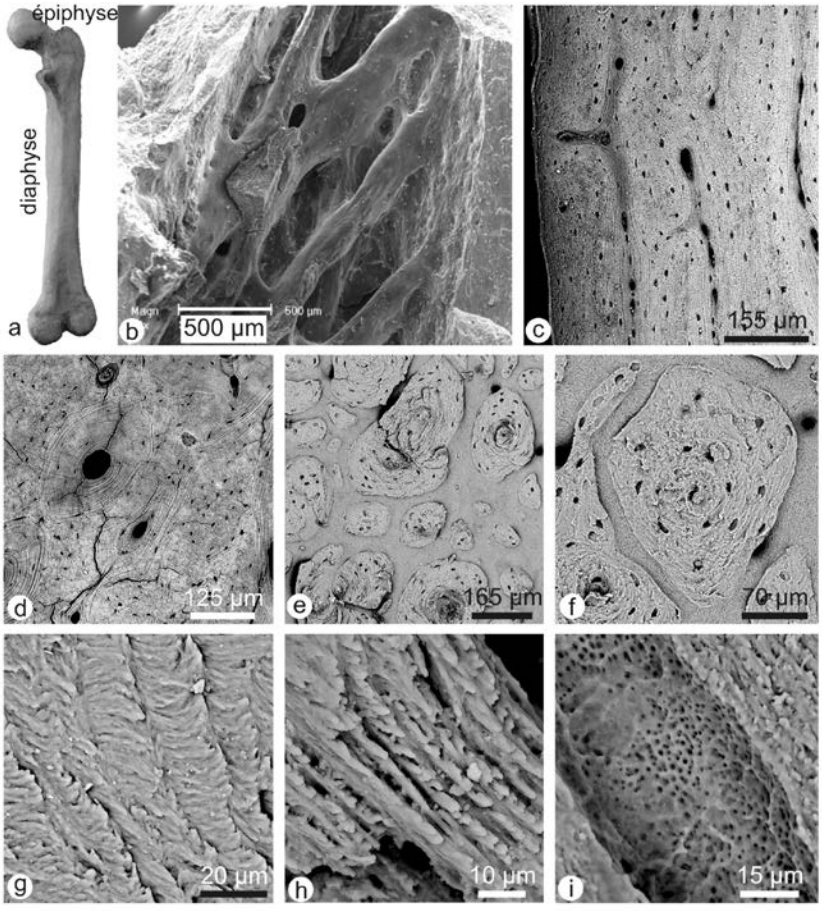


Figure 5 – structure osseuse. a : niveau hiérarchique 7, l'organe ou os entier. b : niveau 6, os compact (périphérie) et trabéculaire. c : niveau 5 montrant la structure haversienne et les ostéones. d - e : détail de la structure haversienne sur une coupe polie (d) et sur cassure (e). f - g : niveau 4 montrant la structure lamellaire en contre plaqué ou plywood structure. h : niveau 2 feutrage des fibres de collagène ; les fibres ne sont pas individuellement visibles à cette échelle de grandissement. i : détail d'un fond de vaisseau.

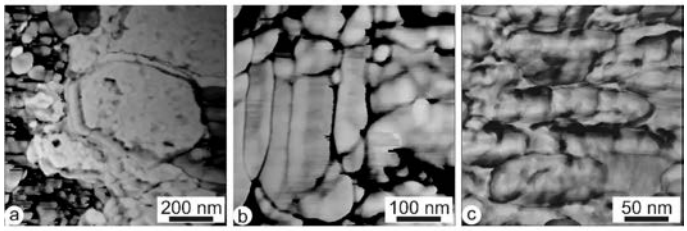


FIGURE 6 – nanostructure osseuse, niveau hiérarchique 1. a : cristal hexagonal aplati. b- cristallites allongés. c- cristaux aplatis alignés. AFM, images en contraste de phase mettant en évidence la composition hétérogène des « cristaux » .

De techniques de préparation diverses (MEB, MET, Raman, FTIR, etc.) sont décrites de façon concrète et détaillée dans un ouvrage récent [22] consacré à l'os, mais certaines peuvent s'appliquer aux tissus dentaires.

2.2 Les dents

Les dents ont des points communs avec l'os : elles sont également des biocomposites dont la partie minérale est un phosphate de Ca. Cependant leurs fonctions, structures et compositions diffèrent de celles de l'os.

La dentition est le terme utilisé pour décrire le nombre et la disposition des dents chez un individu. Selon les taxons, le nombre de dentitions (ou générations de dents) varie beaucoup : 50 chez le crocodile, 2 chez les mammifères. La dentition reflète le régime alimentaire, mais dépend également du taxon. Les dents comportent deux tissus minéralisés principaux (Figure 7a) : émail et dentine. L'émail constitue la couronne, c'est à dire la partie visible de la dent quand elle est en place ; la dentine compose la plus grande partie de la dent, et est séparée de l'os alvéolaire au niveau de la racine par un autre tissu minéralisé : le cément. Le plus souvent, l'émail recouvre toute la couronne. Cependant, ce n'est pas le cas des incisives de rongeurs par exemple (Figure 7b). La croissance des dents n'est pas homogène ; certaines sont à croissance continue ou hypsodonte (incisives de rongeurs et molaires chez certaines espèces), à croissance prolongée (cheval), ou à croissance définie ou brachyodonte (humains). De plus, il a été montré que chez les humains, les dents permanentes sont affectées par un dimorphisme sexuel, notamment les canines [23, 24].

Les données présentées ci-dessous concernent essentiellement les dents de mammifères actuels, mais quelques indications sur les autres taxons sont présentées. Les modifications intervenant au cours de la fossilisation seront décrites dans le chapitre 10.

2.2.1 Mise en place des tissus dentaires

Le développement d'une dent de Mammifère à croissance limitée (comme chez les humains) est classiquement divisé en trois étapes : pré-éruptif, éruptif et intra-oral. Cependant, le mode de remplacement et la croissance des dents varient selon le groupe.

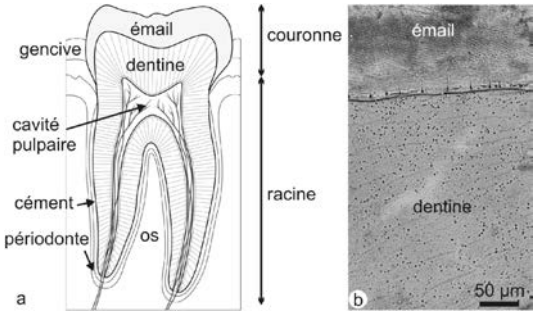


FIGURE 7 – organisation des dents. a : coupe longitudinale dans une molaire de mammifère, montrant la répartition des tissus. b : surface d'une incisive de rongeur, montrant que la dentine n'est pas totalement recouverte par de l'émail.

Le tissu composant la couronne, couramment appelé émail, comporte deux types : énaméloide (chondrichtiens, actinoptérygiens, stade larvaire de certains amphibiens) et émail (amphibiens adultes, reptiles, mammifères) [25]. Les odontoblastes jouent un rôle majeur dans la mise en place de l'énaméloide, mais les améloblastes semblent également intervenir avant la mise en place de la dentine. Toutefois, le nombre d'espèces étudiées de ce point de vue reste trop faible et la situation est encore confuse. De plus, divers types d'énaméloides sont décrits, et leurs homologies sont encore un sujet d'étude [26]. Par contre dans les hypothèses classiques, seuls les améloblastes, qui dérivent de l'épithélium dentaire interne, interviennent dans la mise en place de l'émail, par l'intermédiaire de la secrétion d'une matrice organique extracellulaire. L'amélogenèse est un processus à deux étapes : (i) un émail partiellement minéralisé (30%) est mis en place, puis (ii) la matrice organique et l'eau sont éliminées par les améloblastes lisses, tandis que le minéral augmente : les cristaux d'apatite déjà existant croissent alors en largeur et en épaisseur, mais aucun nouveau cristal n'est mis en place.

Le rôle des différents composés organiques au cours du développement de l'émail a été décrit par Fincham *et al.* [27]. Les premiers cristaux d'émail apparaissent le long de la limite émail - dentine (EDJ) [28]. Chez les humains, la minéralisation des incisives inférieures permanentes commence entre 3 et 4 mois, la couronne est achevée à 4-5 ans, et la racine à 10 ans. La mise en place de l'émail varie donc de 3,4 à 3,8 ans pour les incisives inférieures, et de 5,2 à 6,2 ans pour les canines inférieures [29]. Les dimensions des cristaux d'émail nouvellement formés sont de 6,5 nm environ [30].

La dentine est le tissu minéralisé qui se dépose en premier pendant l'embryogenèse de la dent. Elle est précédée par la prédentine, non minéralisée, entre la dentine déjà minéralisée et les odontoblastes qui secrètent entre autres les fibres de collagènes et des protéoglycanes. La formation de la prédentine est continue et se poursuit chez l'adulte [31], ce qui conduit à une réduction progressive de la cavité pulpaire. Un muco-polysaccharide acide se concentre en globules qui semblent être le point de départ de la minéralisation ; celle-ci s'étend ensuite aux fibres collagéniques [32]. Pendant la minéralisation, d'autres molécules sont secrétées et interviennent : phosphoprotéines, sialoprotéines, phospholipides, protéoglycanes, etc. [33]. Les dimen-

sions des cristaux d'apatite de la dentine précoce sont de 4,8 nm environ, celles des cristaux de la dentine mature atteignent 21 nm [30]. La minéralisation est caractérisée par la croissance progressive de cristaux d'apatite dans cette matrice organique. Le taux de dépôt de la dentine n'est pas uniforme pendant la vie de l'animal, ni même dans une dent donnée. La dentine primaire se dépose à un rythme moyen de 4 μm par jour.

2.2.2 Composition

Tous les tissus dentaires sont des biocomposites, c'est à dire un mélange de matrices organiques et de minéraux, la matrice organique conditionnant la mise en place du minéral. Les données les plus abondantes, qu'il s'agisse des composés organiques ou minéraux, proviennent de quelques mammifères (humain, boeuf, souris - rat, mouton). Il convient de ne pas confondre la présence de composés organiques et cellules. L'émail et l'énameloide sont dépourvus de cellules, mais contiennent néanmoins des composés organiques liés au minéral. Les tubules de la dentine contiennent des processus cellulaires, mais il existe également des composés organiques extracellulaires. Dans le texte ci-dessous, seuls les composés organiques extracellulaires sont pris en compte. Ils sont d'ailleurs généralement appelés "matrice", car ils sont mis en place avant le minéral et dirigent sa croissance.

2.2.2.1 Enameloide et émail

La matrice organique de l'énaméloide contient du collagène d'origine ecto-mesenchymale, ainsi que des énamélines, amélogénines, et diverses autres protéines. Des glycoprotéines ou des protéoglycanes (chondroitine sulfate et héparane sulfate) ont été également identifiés [34]. Sa biominéralisation, c'est à dire la mise en place du minéral, varie selon les taxons, et diffère nettement de celle de l'émail [26, 35-36].

L'émail est très fortement minéralisé (96%). Il contient de nombreuses protéines : amélogénines, énamelines, améloblastines, glycoprotéines sulfatées, tuftéline, des enzymes..., et du collagène [37]. La présence de collagène a longtemps été contestée, toutefois les études récentes confirment son rôle [38, 39]. La présence de collagène dans l'émail est importante car cette protéine a la capacité de s'auto-assembler pour former de longues structures fibreuses répétitives et alignées (Margolis *et al.* 2006). Les amélogenines constituent environ 90% de la matrice organique ; elles ont un poids moléculaire de 20 - 30 kDa, et sont riches en proline, glutamine, leucine et histidine. En milieu physiologique, elles sont peu solubles [40]. La tuftéline est une protéine acide phophorylée de 45 kDa limitée à la formation de l'émail à la jonction émail - dentine (EDJ). Les énamélines sont acides, riches en glycine, acide aspartique et sérine, avec un poids moléculaire variant de 60 à 120 kDa ou de 180 à 190 kDa selon les auteurs. Les tentatives pour déterminer les caractéristiques structurales de la matrice organique de l'émail en développement remontent aux années 1960 [41-42]. La structure en feuillets de type β-sheet semble la plus probable.

La composante minérale est du phosphate de Ca contenant des ions carbonate, en rapport non stochiométrique, avec en moyenne 34% de Ca et 17% de P chez les mammifères (Figure 8). Les éléments mineurs les plus abondants sont Na et Cl (Figure 8).

Les ions carbonate peuvent se substituer aux ions phosphate selon deux modalités (types A et B). Le type A correspond à une substitution carbonate - hydroxyle, le type B à carbonate pour phosphate [10]. Les taux de substitution varient avec l'âge des individus [43], et le taux de carbonate augmente. Ces modifications influent sur la cristallinité de l'émail qui, chez les humains, décroit avec l'âge des individus. Les spectres Raman montrent que, comme les hydroxyapatites de synthèse ou naturelles non biogéniques, l'émail contient des liaisons O-H, à la différence de l'os [44]. Le fer est un élément qui contribue à la coloration de l'émail chez certaines espèces (*Rattus, Meriones* par exemple).

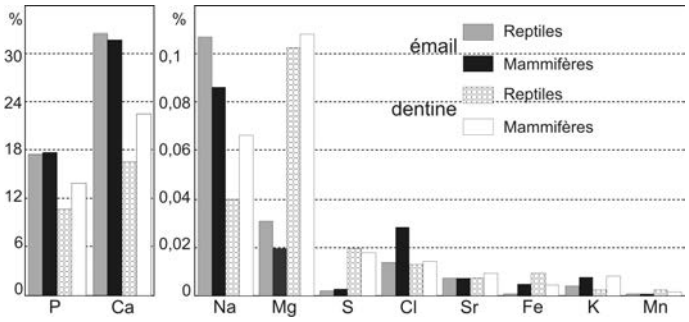


FIGURE 8 – composition chimique élémentaire moyenne de l'émail et de la dentine.

Les données quantitatives permettent de différencier émail et dentine, mais les cartographies chimiques mettent en évidence les changements intervenant lors de la transition dentine - émail, ou de gradient à l'intérieur d'un tissu. De telles cartographies peuvent correspondre à des répartitions d'éléments chimiques (Figure 9 : Ca, Mg, Na), des bandes en spectrométrie infrarouge (Figure 9 : 878 - 1238 cm^{-1}), Raman, ou à des spéciations d'éléments chimiques (XANES). De telles cartes révèlent des détails passés inaperçus par une simple quantification. Par exemple, émail et dentine sont modifiés avant leur « jonction » (Figure 9).

2.2.2.2 Dentine

Les odontoblastes sont les cellules localisées autour de la cavité pulpaire en une seule couche et qui résultent de la différenciation des cellules mésenchymales au cours de la formation de la dent [45]. Ils synthétisent le collagène et les protéines non collagéniques (NCP) composant la matrice organique de la dentine. Le taux de phosphore est déjà très élevé avant la minéralisation de la dentine [46, 47]. La dentine est plus riche en matrice organique et eau (35% environ en poids) que l'énaméloide ou l'émail. Elle contient beaucoup de collagène de type I (près de 90% de la matrice). Les protéines non collageniques sont principalement des phosphoprotéines (DPP, phosphophoryne), des sialoprotéines (DSP), qui sont spécifiques de la dentine et acides [48]. Les protéoglycanes sont diversifiés (biglycan, décorine, fibromoduline, etc) et les lipides peu abondants.

La phase minérale est un phosphate de Ca, qui contient environ 22% de Ca et 14% de P dans une dent mature. De nombreux éléments chimiques dits mineurs sont

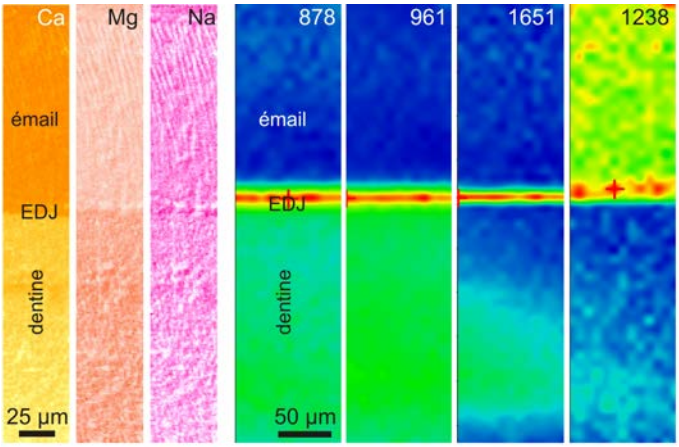


FIGURE 9 – cartes de répartition d'éléments chimiques majeur (Ca) et mineurs (Mg, Na), et en spectrométrie infrarouge (878 cm^{-1} : bande CO_3, 961 cm^{-1} : bande PO_4 1651 cm^{-1} : bande amide I, 1238 cm^{-1} : bande SO_4 et/ou amide III).

présents, du soufre notamment (principalement lié à la matrice organique). Chez les dents à croissance continue et prolongée, la teneur en Mg peut atteindre 2%. Mg joue un rôle important en inhibant la croissance des cristaux d'apatite et en diminuant la cristallinité [49]. L'intensité des liaisons O-H détectées en spectrométrie Raman est plus faible que dans l'émail [50].

La structure (histologie), la taille des cristaux, la composition, la quantité de matrices organiques, etc., tous ces paramètres jouent un rôle dans la conservation des spécimens au cours des temps.

2.2.3 Histologie - micro-nanostructure

Email et dentine sont, comme l'os et toute structure vivante minéralisée, organisés à plusieurs niveaux.

2.2.3.1 Enameloide et émail

L'émail des reptiles est généralement aprismatique, composé de cristallites allongés perpendiculaires à la surface de la dent (Figure 10a). L'émail des mammifères, plus complexe (Fig. 10b), comporte deux couches d'épaisseur inégale : une couche externe fine, et une épaisse couche interne (Figure 10c). La couche interne est prismatique et montre généralement des arrangements complexes (Figure 10d). Les prismes de section arrondie (5 μm de diamètre en moyenne), sont diversement orientés selon des motifs caractéristiques des taxons (Figure 10e). Une tentative de classification des structures prismatiques a été réalisée dès 1934 [51]. L'identification de ces motifs est aisée dans les dents à forme simple, comme les incisives, mais devient plus délicate dans les molaires dont les replis peuvent être complexes. Les prismes seraient entourés par une fine enveloppe organique. L'agencement complexe de ces prismes augmente la résistance aux chocs en freinant la propagation des fissures. Ils sont

composés de cristallites allongés et parallèles entre eux (Figure 10f-h). Ces cristaux sont plus grands que ceux de l'os et de la dentine, et peuvent atteindre 20 à 60 nm en largeur et en épaisseur [28, 52]. Leur longueur est estimée varier entre 100 nm et 100 μm. Les cristaux sont en forme d'hexagones aplatis [53], allongés selon leur axe c. Dans l'émail en cours de formation, des rangées de nanosphères de 15 à 20 nm de diamètre d'amélogénines sont visibles entre les cristallites [54, 55] (Figure 10i). L'émail possède des tubules contenant des processus des améloblastes. Chez les humains ils sont nombreux mais très courts et étroits, alors que chez la plupart des marsupiaux, ils sont beaucoup plus longs [53].

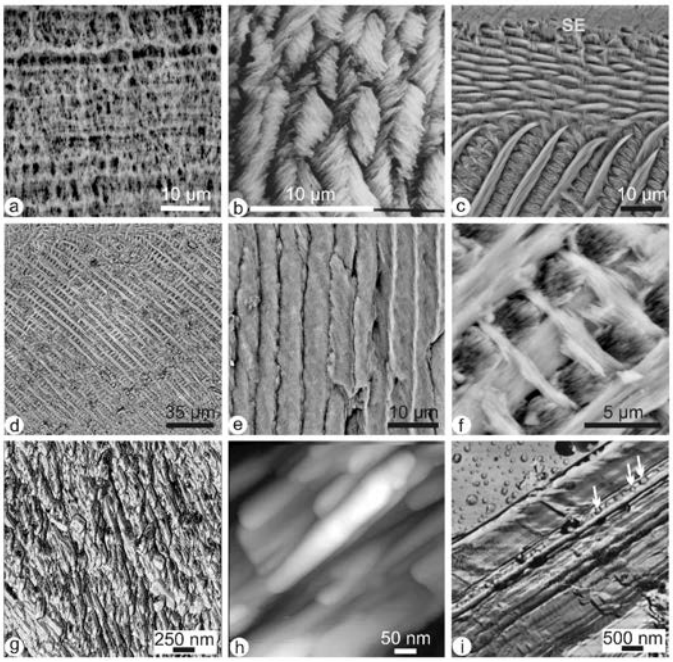


Figure 10 – structure de l'émail dentaire. a : émail aprismatique des reptiles. b : structure complexe des prismes d'émail à la surface d'une dent d'un herbivore. c : coupe montrant les deux couches d'émail ; SE : surface externe. d : émail prismatique unisérié d'une incisive de rongeur. e- prismes parallèles d'une dent de sanglier. f : cristallites allongés dans les prismes d'émail unisérié. g :cristallites allongés dans un prisme (AFM, image en contraste de phase). h : détail d'un cristallite (AFM, image topographique). i : cristallites d'émail avec glomérules attribués à des amélogénines (flèches) (AFM, image en contraste de phase).

De nombreuses structures périodiques sont décrites. Les stries de Retzius sont parmi les plus connues, car elles permettent de reconstituer l'histoire de la formation de la couronne sur une coupe radiaire. Elles apparaissent comme des lignes noires, et sont parfois attribuées à un rythme de dépôt hebdomadaire. Un autre type de zonation est dû au fait que les prismes ont souvent des agencements complexes dans une dent donnée. Dans une section, on les observera donc coupés dans des directions différentes, qui définissent des zones (para- et diazones), qui forment les bandes de Hunter-Schreger. Quant aux striations « croisées » , elles ont une épaisseur moyenne de 4 μm.

2.2.3.2 *Dentine*

La dentine, contrairement à l'émail, contient des processus cellulaires dans les tubules ou canalicules. Selon la disposition de ces tubules, on distingue plusieurs types de dentine. Le type le plus courant est l'orthodentine, que l'on trouve chez certains poissons, les reptiles et les mammifères (Figure 11a, b). Les tubes ne se ramifient que rarement, et traversent l'épaisseur du tissu perpendiculairement à la surface externe. Dans certains taxons, la dentine autour des tubules est hyperminéralisée (dentine péritubulaire). La présence de dentine péritubulaire varie, chez un individu donné, selon l'âge, et dans une dent à un âge donné, est variable. Le diamètre des tubules varie de 1 à 3 μm. Outre ces tubules, on observe facilement des stries de croissance régulières. Les cristaux d'apatite ont des dimensions similaires à celles de l'os, et sont en forme de plaquettes. La structure de la dentine intertubulaire est irrégulière (Figure 11c). La dentine primaire forme la majorité de la dent ; la dentine secondaire se développe lorsque la formation de la racine est achevée, et la dentine tertiaire est due à une réparation ou un stress. Les dimensions des cristallites évolue : 4,8 nm pour la dentine précoce, 21,1 nm pour le dentine mature chez le rat [30].

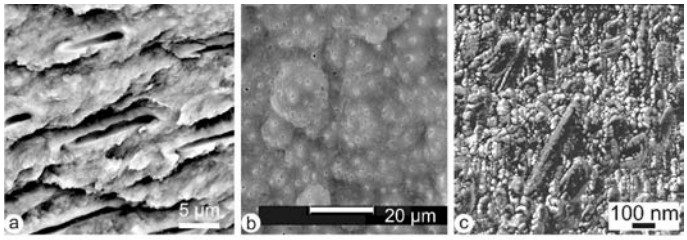


FIGURE 11 – structure de l'orthodentine. a : tubules coupés en obliques dans la dentine. b : section circulaire des tubules .ci : dentine intertubulaire (AFM, image en contraste de phase).

2.2.4 Identifier un taxon d'après les dents

Les machoires et mandibules porteuses de dents sont très recherchées dans les sites archéologiques et fossiles, car elles sont porteuses d'informations sur la faune, mais aussi sur les régimes alimentaires et donc l'environnement passé. Les dents isolées sont également efficaces de ce point de vue, même si parfois le problème est plus délicat. En effet, après leur éruption, les dents ont un devenir variable. Lorsque les dents sont hypsodontes, comme les incisives de rongeurs, on observe une morphologie relativement constante lorsque l'animal vieillit. Ce n'est pas le cas des dents brachyodontes ou à croissance prolongée. Ce type de dents se trouve généralement chez des herbivores, et brouter la végétation (parfois enrichie en silice), provoque une usure importante. Sur la surface occlusale, l'émail de la couronne s'use, les cuspides disparaissent, et l'émail forme des reliefs encadrant une dentine moins résistante. Sur les fossiles, il n'est donc pas toujours facile d'identifier une espèce lorsque la série dentaire n'est pas connue. Des critères microstructuraux et chimiques peuvent être utiles. Mais l'observation microstructurale ou l'analyse chimique est totalement ou partiellement destructrice, et donc souvent omise. Cependant, le type de dentine, d'émail ou d'énameloide, leur répartition et proportions, la disposition des bandes

de Hunter-Schreger, etc. dans une dent dont la morphologie est insuffisamment bien conservée peuvent, à des degrés de précision divers, permettre d'identifier une famille, un genre [56-58]. Leur état de conservation, microstructural ou chimique, la présence ou l'absence de remplissage des cavités pulpaires... peuvent également fournir des indications sur l'histoire géologique du site.

2.3 Conclusion

L'étude des tissus osseux et dentaires permet donc d'accéder à des informations taxonomiques, phylétiques, biogéochimiques, ce qui conduit à des reconstitutions paléoenvironnementales. On accède en effet ainsi à la reconstitution de la biodiversité, puisque la présence de tel ou tel taxon implique la présence de tel ou tel végétal, d'un milieu ouvert ou fermé, etc. La comparaison des données microstructurales (histologie et composition) entre spécimens actuels et anciens fournit des données sur l'histoire diagénétique, et certains biais peuvent être ainsi évités. Les références sur les spécimens actuels abondent, notamment dans les revues à finalité médicale, mais concernent peu de taxons. Il est donc souvent nécessaire d'établir ses propres références.

La comparaison des résultats obtenus dans divers laboratoires et/ou par des techniques différentes n'est pas toujours aisée. Le cas le plus frappant est peut-être celui des analyses des acides aminés ; dans ce cas, les durées d'hydrolyse, le mode d'hydrolyse, le choix de la colonne de chromatographie, des éluents, des gradients, des marqueurs, etc., influent très fortement sur les résultats. On a ainsi l'impression d'avoir des données différentes sur un même matériel. Mais il en est de même pour chaque technique d'observation et d'analyse. La tomographie ou CT scan a le vent en poupe car elle est dite non invasive. Mais des travaux récents ont montré que ce n'était pas le cas [59]. De plus, là aussi, des problèmes de comparaison sont connus [60]. Enfin, l'utilisation de techniques dites sophistiquées, et dont l'accès est difficile à obtenir, n'est pas toujours nécessaire. Par exemple, le rayonnement synchrotron pour la tomographie, ou des analyses chimiques élémentaires.

Bibliographie

[1] H. Francillon-Vieillot, V. Buffrénil V., J. Castanet, J. Géraudie, F.-J. Meunier, J.-Y. Sire, L. Zylberberg, A. Ricqlès de, "Microstructure and mineralization of vertebrate skeletal tissues" dans Skeletal biomineralization : patterns, processes and evolutionary trends, ed. J.-G. Carter, Van Nostrand Reinhold, New York. vol. I, chap. 20, p. 471-530, 1989.

[2] J.-Y Sire, A.Huysseune, Formation of dermal skeletal and dental tissues in fish : a comparative and evolutionary approach. Biological Review of the Cambridge Philosophical Society 78, 2, 219-249, 2003.

[3] G.-J. Fraser, R. Cerny, V. Soukup, M. Bronner-Fraser, J.-T. Streelman, The odontode explosion : the origin of tooth-like structures in vertebrates. Bioessays, 30, 808-817, 2010.

[4] P.C.J. Donoghue, I.-J.Sansom, J.-P. Downs J.P., Early evolution of vetebrate skeletal tissues and cellular interactions, and the canalization of skeletal development. Journal of Experimental Zoology (Molecular and Developmental Evolution), 306B, 1-17, 2006.

[5] M.-J. Glimcher, Bone : nature of calcium phosphate crystals and cellular, structural, and physical chemical mechanisms in their formation. Reviews in Mineralogy and Geochemistry, 64, 223-282, 2006.

[6] A.-L. Boskey, Mineralization of bones and teeth. Elements, 3, 385-391, 2007.

[7] E. Beniash, Biominerals- hierarchical nanocomposites : the example of bone. Wiley Interdisciplinary Reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology, 3, 47-69, 2011.

[8] A.-L. Boskey, R. Mendelsohn R., Infrared spectroscopic characterization of mineralized tissues. Vibrational Spectroscopy, 38, 107-114, 2005.

[9] P. Fratzl,, S. Schreiber, A. Boyde, Characterization of bone mineral crystals in horse radius by small-angle x-ray scattering. Calcif Tissue Int., 58, 341-346, 1996.

[10] R.-Z. Legeros, O.-R. Trautz, E. Klein, J.-P. Legeros, Two types of carbonate substitution in the apatite structure. Experientia, 25, 5-7, 1969.

[11] A. Veis, Phosphoproteins from teeth and bone. Cell and molecular biology of vertebrate hard tissues. Ciba Foundation symposium, 136, 161-177, 1988.

[12] A. Veis, B. Sabsay, C.-B. Wu, Phosphoproteins as mediators of biomineralization. ACS Symposium Series, 444, 1-12, 1991.

[13] A. Veis, Mineralization in organic matrix framework. Reviews in Mineralogy and Geochemistry, 54, 291-327, 2003.

[14] M.-J. Glimcher, Mechanism of calcification : role of collagen fibrils and collagen-phosphoprotein complexes *in vitro* and *in vivo*. Anatomical Record, 224, 139-153, 1989.

[15] K. Okada, Y. Ozaki, K. Kawauchi, S. Muraischi, The usefulness of infrared microspectroscopy for IR spectroscopic measurements of solid proteins. Applied Spectroscopy, 44, 1412-1414, 1990.

[16] M. Brickley, R. Ives, The bioarchaeology of metabolic bone disease. San Diego : Academic Press, 333 pages, 1998.

[17] S. Weiner, H.D. Wagner, The material bone : structure - mechanical function relations. Annual Review of materials Science, 28, 271-298, 1998.

[18] R.-A. Robinson, M.-L. Watson, Crystal-collagen relationships in bone as observed in the electron microscope. III crystal and collagen morphology as a function of age. Annals of the New York Academy of Sciences, 60, 596-627, 1955.

[19] S. Weiner, P. Price, Disaggregation of bone into crystals. Calcified Tissue International, 39, 365-375, 1986.

[20] S.-J. Eppell, W. Tong, J.-L. Katz, J. Kuhn, M.-J. Glimcher, Shape and size of isolated bone mineralites measured using atomic force microscopy. Journal of Orthopedic Research, 19, 1027-1034, 2001.

[21] M.-A. Rubin, I. Jasiuk, J. Taylor, J. Rubin, T. Ganey, R.-P. Apkarian, TEM analysis of the nanostructure of normal and osteoporotic human trabecular bone. Bone, 13, 270-282, 2003.

[22] M.-H. Helfrich, S.-H. Ralston, (Eds.) Bone research protocols. Methods in Molecular Biology, vol. 816, Springer, New York Dordrecht Heidelberg London, 643 pages, 2012.

[23] G.-T. Schwartz, C. Dean, Ontogeny of canine dimorphism in extant hominoids. American Journal of Physical Anthropology, 115, 269-283, 2001.

[24] C.-A.Jofré, J.S.P. Valenzuela, I.-S. Gadames, Sexual dimorphism in the tooth dimensions of spanish and chilean peoples. International Journal of Odontostomatology, 3, 47-50, 2009.

[25] T. Davit-Béal, F. Allizard, J.-Y. Sire, Enameloid/enamel transition through successive tooth replacements in *Pleurodeles waltl* (Lissamphibia, Caudata). Cell and Tissue Research, 328, 167-183, 2007.

[26] J.-A. Gillis, P.C.J. Donoghue, The homology and phylogeny of Chondrichthyan tooth enameloid. Journal of Morphology, 268, 33-49, 2007.

[27] A.-G. Fincham, J. Moradian-Oldak, J.-P. Simmer, The structural biology of the developmental enamel matrix. Journal of Structural Biology, 126, 270-299, 1999.

[28] J.-P. Simmer, A.-G. Fincham, Molecular mechanisms of dental enamel formation. Critical Reviews in Oral Biolology & Medicine, 6, 84-108, 1995.

[29] D.-J. Reid, M.-C. Dean,Variation in modern human enamel formation times. Journal of human Evolution, 50, 329-346, 2006.

[30] S. Arnold, U. Plate, H.-P. Wiesmann, U. Stratmann, H. Kohl, H.-J. Höhling, Quantitative analyses of the biomineralization of different hard tissues. Journal of Microscopy, 202, 488-494, 2001.

[31] R.-M. Frank, J. Nalbandian, "Development of dentine and pulp" dans Teeth, eds. B.K.B. Berkovitz, A. Boyde., R.-M. Frank, H.-J. Höhling, B.-J. Moxham, J. Nalbandian, C.-H. Tonge, Handbook of Microscopic Anatomy, 6, Springer Berlin. p. 73-171, 1989.

[32] G. Bevelander, H. Nakahara, The formation and mineralization of dentin. Anatomical Record, 156, 303-323, 1966.

[33] W.-G. Stetler-Stevenson, A. Veis, Type I collagen shows a specific binding affinity for bovine dentin phosphophoryn. Calcified Tissue International, 38, 135-141, 1986.

[34] Y. Kogaya, Histochemical properties of sulfated glycoconjugates in developing enameloid matrix of the fish *Polypterus senegalus*. Histochemistry, 91, 185-190, 1989.

[35]I. Sasagawa, "Differences in the development of tooth enameloid between Elasmobranchs and Teleosts" dans Structure, formation and evolution of fossil hard tissues, eds. I. Kobayashi, H. Mutvei & A. Sahni, Tokai Univ. Press, Tokyo. p. 113-121, 1993.

[36] I. Sasagawa, M. Ishiyama, J. Akai, Cellular influence in the formation of enameloid during odontogenesis in bony fishes. Materials Science and Engineering, C26, 630-634, 2006.

[37] Y. Acil, A.-E. Mobasseri, P.-H. Warnke, H. Terheyden, J. Wiltfang, I. Springer, Detection of mature collagen in human dental enamel. Calcified Tissue International, 76, 121-126, 2005.

[38] S. Felszeghy, K. Holló, L. Módis, M.-J. Lammi, Type X collagen in human enamel development : a possible role in mineralization. Acta Odontologica Scandinavica, 58, 171-176, 2000.

[39] T. Asaka, M. Akiyama, T. Domon, W. Nishie, K. Natsuga, Y. Fujita, R. Abe, Y. Kitagawa, H. Shimizu, Type XVII collagen is a key player in tooth enamel formation. American Journal of Pathololgy, 174, 1, DOI : 10.2353/ajpath.2009.080573, 2009.

[40] H.-C. Margolis, E. Beniash, C.-E. Fowler, Role of macromolecular assembly of enamel matrix proteins in enamel formation. Journal of Dental Research, 85, 775-793, 2006.

[41] M.-J. Glimcher, L.-C. Bonar, E.-J. Daniel, Molecular structure of protein nmatrix of bovine dental enamel. Journal of Molecular Biolology, 3, 541-546, 1961.

[42] F.-G. Pautard, An x-ray diffraction pattern from human enamel matrix. Archives of Oral Biology, 3, 217-220, 1961.

[43] T. Leventouri, A. Antonakos, A. Kyriacou, R. Venturelli, E. Liarokapis, V. Perdikatsis, Crystal structure studies of human dental apatite as a function of age. International Journal of Biomaterials, doi :10.1155/2009/698547, 2009.

[44] B. Wopenka, J.-D. Pasteris, A mineralogical perspective on the apatite in bone. Materials Science and Engineering, C25, 131-143, 2005.

[45] A.-R. Ten Cate, "Dentinogenesis" dans Oral histology. Development, structure and function., ed. A.-R. Ten Cate, 4th edition. Mosby, St.Louis. p. 147-168, 1994.

[46] H.-J. Höhling, H.-G. Fromme, "Cellular transport and accumulation of calcium and phosphate during dentinogenesis" dans Dentin and dentinogenesis, ed. A. Linde, CRC Press, Boca Raton. vol. 2, p. 1-16, 1984.

[47] H.-J. Höhling, W.A.P. Nicholson, J. Schreiber, U. Zessack, The distribution of some elements in predentine and dentine of rat incisors. Naturwissenschaften, 59, 423, 1972.

[48] K. Gu,, S. Chang, H.-H. Ritchie, B.-H. Clarkson, R.-B. Rutherford, Molecular cloning of a human dentin sialophosphoprotein gene. European Journal of Oral Sciences, 108, 35-42, 2000.

[49] R.-Z. LeGeros, "Ultrastructural properties of human enamel apatite" dans Handbook of experimental aspects of oral biochemistry, ed. E.-P. Lazzari, CRC Press, Boca Raton. p.159-179, 1983.

[50] J.-D. Pasteris, B. Wopenka, J.-J. Freeman, K. Rogers, E. Valsami-Jones, J.-A. van der Houwen, M.-J. Silva, Lack of OH in nanocrystalline apatite as a function of degree of atomic order : implications for bone and biomaterials. Biomaterials, 25, 229-238, 2004.

[51] V.-A. Korvenkontio, Mikroskopische Untersuchungen an Nagerincisiven, unter Hinweis auf die Schmelzstruktur der Backenzahne. Annales Botanici Societatis Zoologicae Botanicae Fennicae Vanamo, 2, 1-274, 1934.

[52] G. Daculsi, J. Menanteau, L.-M. Kerebel, D. Mitre, Length and shape of enamel crystals. Calcified Tissue International, 36, 550-555, 1984..

[53] A. Boyde, "Enamel" dans Handbook of Microscopic Anatomy, eds. A Oksche, L Vollrath, Springer Verlag, Berlin. Vol V/6, p. 309-473, 1989.

[54] A.-G. Fincham, J. Moradian-Oldak, T.G.H. Diekwisch, D.-M. Lyaruu, J.-T. Wright, P.-Jr. Bringas, H.-C. Slavkin, Evidence for amelogenin "nanospheres" as functional components of secretory-stage enamel matrix. Journal of Structural Biology, 115, 50-59, 1995.

[55] H.-B. Wen, A.-G. Fincham, J. Moradian-Oldak, Progressive accretion of amelogenin molecules during nanospheres assembly revealed by atomic force microscopy. Matrix Biology, 20, 387-395, 2001.

[56] B. Peyer, Comparative odontology. Chicago Univ. Press, 347 pages, 1968.

[57] S. Hillson, Teeth. Cambridge manuals in archaeology, 376 pages, 1986.

[58] W. Koenigswald von, M. Sander (1997) eds, Tooth enamel structure. Balkema, Rotterdam, 280 pages, 1997.

[59] G.-D Richards, R.-S. Jabbour, C.-F. Horton, C.-L. Ibarra, A.-A. MacDowell, Color changes in modern and fossil teeth induced by synchrotron microtomography. American Journal of Physical Anthropology, 149, 172-180, 2012.

[60] M.-L. Bouxsen, S.-K. Boyd, B.-A. Christiansen, R.-E. Guldberg, K.-J. Jepsen, R. Müller, Guidelines for assessment of bone microstructure in Rodents using micro–computed tomography. Journal of Bone and Mineral Research, 25, 1468-1486, 2010.