

Structure, ultrastructure et analyses physico-chimiques des tissus durs dentaires des vipéridés

KATTIE, A.L.*, COTTREL, M.**, LE CABELLEC, M.T.**, KEREBEL, L.M.**

* Département de Pédiodontie, Institut d'Odonto-Stomatologie, Abidjan (Côte d'Ivoire)

** Unité de Recherches INSERM, U.225, Faculté de Chirurgie Dentaire, Nantes (France). Manuscrit accepté en décembre 1989.

RÉSUMÉ

Le présent travail, en microscopie photonique, microradiographie, microscopie électronique à balayage, microscopie électronique à transmission, diffraction X et spectroscopie infra-rouge, a permis de mettre en évidence, dans les tissus dentaires minéralisés des crochets des Vipéridés (serpents venimeux de mœurs terrestres ou semi-aquatiques):

une couche externe calcifiée (CEC), d'une épaisseur de 0,4 μm environ, constituée de très petits cristaux aciculaires, sans orientation préférentielle. La CEC renferme des invaginations organiques, pouvant aboutir à un pore en surface et une proportion importante de structures fibrillaires de nature collagénique évoquant un émailloïde.

une couche interne calcifiée, au niveau de la paroi du canal à venin. La couche interne calcifiée, d'une épaisseur de 0,6 μm environ, est constituée de très petits cristaux aciculaires parallèles entre eux et perpendiculaires à la couche externe calcifiée. Elle renferme également des fibres de collagène incomplètement minéralisées. Il pourrait s'agir d'un émailloïde interne.

une orthodentine, dont les tubuli présentent un système de ramifications latérales donnant une image en arête de poisson. Les données de la MET, montrant que la dentine des crochets est composée de très petits cristaux aciculaires mal définis et de fibres de collagène incomplètement minéralisées sont confirmées par les analyses chimiques indiquant que le minéral est une apatite de faible cristallinité, fortement carbonatée.

MOTS-CLÉS:

Vipéridés - Crochets - Emailloïde - Dentine - Structure - Ultrastructure - Analyses physico-chimiques.

SUMMARY

The present study, using classical microscopy, scanning electron microscopy, transmission electron microscopy, X-ray diffraction, infra-red spectroscopy, has shown the dental hard tissues of the fangs of Viperidae (poisonous serpents with terrestrial or semi-aquatic habits) to be constituted of:

a calcified outer layer, 0.4 μm thick, made of very small needle-like crystals, randomly distributed. The calcified outer layer contains organic invaginations inducing pores at the surface and many collagen fibres uncompletely mineralized, which may suggest enameloid.

a calcified inner layer, in the wall of the poison canal. The calcified inner layer, 0.6 μm thick, is constituted of very small crystals, which are parallel to each other and perpendicular to the calcified outer layer. It might be the inner layer of enameloid.

an orthodentine, whose tubules present a special lateral branching system resembling a fish-bone. The TEM data, which show the dentine to be constituted of very small ill-defined crystals and uncompletely mineralized collagen fibres are corroborated by chemical analyses which reveal a poorly mineralized apatite with high carbonate content.

KEY WORDS:

Viperidae - Fangs - Enameloid - Dentine - Structure - Ultrastructure - Physico-chemical analyses.

INTRODUCTION

Il est classiquement décrit, notamment chez les Vertébrés, deux tissus existant de façon constante, émail et dentine, et un tissu de façon inconstante, le cément, qui constituent les tissus minéralisés de l'organe dentaire.

En ce qui concerne les serpents, déjà, en 1840, Owen posait la question de l'existence ou non d'émail. Depuis, des investigations histologiques ont permis de répondre positivement à cette question, mais de façon partielle, car la plupart des études ont été faites en microscopie photonique uniquement (Owen, 1840; Tomes, 1875, 1923; Noyes, 1953; Poole, 1956, 1957; Schmidt et Keil, 1971), ou en microscopie électronique à balayage (Frazetta, 1966; Vaeth et coll., 1985; Nesi de Avinon et coll., 1986). Il n'existe pas, à notre connaissance, d'étude de l'émail des dents de serpents en microscopie électronique à transmission, ni d'études physico-chimiques. De même, il n'existe pas d'étude ultrastructurale de la dentine, dont l'existence, chez les serpents, n'a pourtant jamais été mise en doute.

Les Vipéridés appartiennent au groupe des serpents solénoptères, qui doivent leur nom à l'existence d'un canal histologiquement clos au sein des crochets (Noyes, 1953; Poole, 1956; Peyer, 1968; Anthony, 1973).

Contribuer à une meilleure connaissance structurale, ultrastructurale et physico-chimique de l'émail et de la dentine des crochets des Vipéridés est le but du présent travail, pour lequel ont été utilisées un ensemble de techniques convergentes spécifiques des tissus calcifiés: microscopie photonique en lumière normale et polarisée, microradiographie, microscopie électronique à balayage, microscopie électronique à transmission, diffraction X, spectromètre infra-rouge.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1) crochets, provenant des espèces *Bitis arietans*, *Bitis gabonica*, *Vipera aspis*, *Vipera russelii*, *Crotalus viridis* et *Trimeresurus albolabris*, ont été utilisés dans le présent travail.

Pour l'étude en microscopie photonique (lumière normale et polarisée), 8 mâchoires, prélevées post mortem chez *Bitis arietans*, *Bitis gabonica*, *Vipera russelii* et *Trimeresurus albolabris*, ont été fixées dans l'alcool 70°, déshydratées dans des bains d'éthanol de degrés croissants et conservées pendant 24 heures dans un bain d'éthanol absolu. Elles ont été ensuite imprégnées dans un bain de méthyle méthacrylate contenant 0,22% de benzoyl peroxyde, pendant 4 jours, à 4°C, puis incluses dans du méthyle méthacrylate

prépolymérisé, dans une étuve, avec augmentation progressive de la température, de 35° à 75°C. Les blocs ainsi obtenus ont été débités en coupes longitudinales et transversales de 80 à 100 µm d'épaisseur, à l'aide d'une scie électrique de type Isomet.

Une mâchoire, provenant de l'espèce *Vipera aspis* a été fixée dans un formol neutre 1/4, conservée dans le bain de fixation pendant 3 jours à 4°C, puis décalcifiée pendant 14 jours dans un bain composé de 85% d'eau distillée, 10% de formaldéhyde, 5% d'acide nitrique. Elle a été alors incluse dans le paraplast et débitée en coupes de 5 µm environ d'épaisseur avec un microtome Reichert-Jung. Les coupes ont été colorées au trichrome de Masson et à l'hématoxyline phosphotungstique de Mallory.

Des coupes transversales et longitudinales obtenues à différents niveaux des crochets non décalcifiés ont été utilisées pour la microradiographie, en utilisant un générateur Philip PW 1008 sous une tension de 30 kv et une intensité de 25 mA.

Pour l'étude en microscopie électronique à balayage, 4 crochets fonctionnels, prélevés post-mortem chez *Bitis arietans*, *Bitis gabonica*, *Vipera russelii* et *Crotalus viridis*, ont été fracturés à l'aide d'un bistouri, soit transversalement, soit longitudinalement. Après nettoyage à l'hypochlorite de sodium pour éliminer le matériel organique, les pièces ont été déshydratées dans des bains d'alcool de degrés croissants, séchées à l'étuve à 37°C et métallisées à l'or à l'aide d'un pulvérisateur cathodique Discope. Les observations ont été faites au microscope électronique à balayage Hitachi S 450 et Jeol JSM 35, à canon pointé Lab 6, sous une tension de 15 kv.

Pour l'examen en microscopie électronique à transmission, le premier crochet de remplacement de *Vipera aspis* a été fixé dans une solution de glutaraldéhyde, dans un tampon cacodylate à pH 7,2. La pièce a été déshydratée dans des bains d'éthanol de degrés croissants, puis incluse dans un mélange de méthyl/butyle méthacrylate. Des coupes ultrafines ont été faites à l'aide d'un ultramicrotome à couteau de diamant MT1 Sorval Porter-Blum et examinées au microscope électronique à transmission Jeol 200 CX sous une tension de 100 kv.

Les crochets de remplacement de *Bitis arietans*, *Vipera russelii* et *Bitis gabonica* ont été nettoyés à l'hypochlorite de sodium à 3% puis portés à dessiccation pendant 24 heures, à une température constante de 400°C. Les pièces ont été réduites en poudre et la diffraction aux rayons X a été faite avec un générateur Philips PW 1730 équipé d'une platine Gonio, sous une tension de 40 kv et une intensité de 30 mA, avec une anticathode de cobalt.

1,5 mg de poudre des crochets utilisés pour la diffraction aux rayons X a été analysé en spectrométrie infra-rouge, avec un appareil Perkin Elmer 457.

RÉSULTATS

L'observation en microscopie photonique de coupes transversales des crochets, faites dans la région médiane, à différents niveaux, a permis de situer la couche externe calcifiée, la paroi du canal à venin et la dentine, comme il apparaît sur la figure 1.

Couche externe calcifiée (CEC)

Structure

Sur les coupes non décalcifiées, observées en lumière normale et en lumière polarisée, entre analyseur et polariseur croisés, la CEC apparaît très fine, et, de ce fait, est très difficile à étudier. Elle n'est pas visible sur les coupes décalcifiées, ce qui indique son haut degré de minéralisation. La microradiographie ne montre aucune différence de minéralisation entre la CEC et la dentine.

Ultrastructure

Microscopie électronique à balayage (MEB)

La CEC présente, de l'apex à la base, une épaisseur qui varie de 0,4 à 0,5 μm environ. Elle recouvre toute la surface du crochet, sauf à la base, zone d'attache du crochet à l'os alvéolaire. Elle se démarque nettement de la dentine sous-jacente et apparaît comme une structure compacte, homogène. Nous n'avons pas observé de fibres dans son épaisseur (Fig. 2). A la surface du corps du crochet, on observe parfois de larges stries, interrompues par des empreintes en forme d'ogives. Entre ces empreintes, et parfois à l'intérieur, on distingue de petites dépressions (Fig. 3).

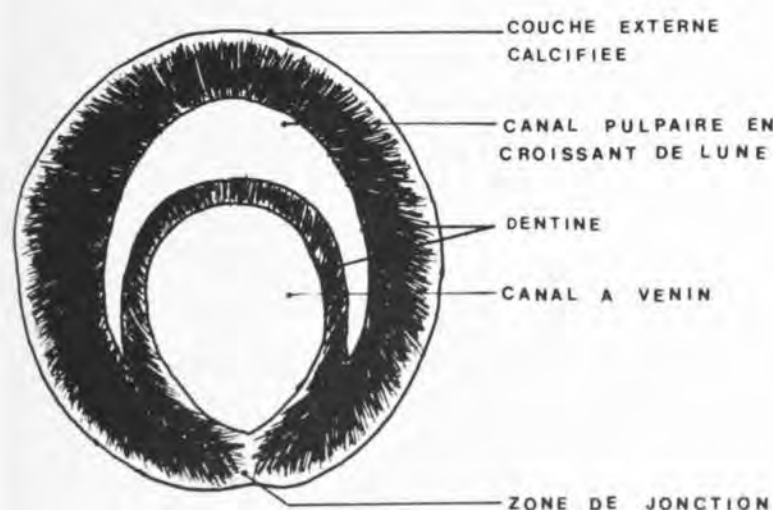


Fig. 1: Représentation des différentes composantes d'un crochet de Vipéridé coupé transversalement.

Fig. 1: Representation of the different components of a fang of Viperidae observed in cross-section.



Fig. 2: *Vipera aspis*. Couche externe calcifiée (CEC) au niveau d'une zone de fracture. Flèches: trousseaux de fibres de collagène mal minéralisées dans la subsurface. MEB $\times$ 6000 environ.

Fig. 2: *Vipera aspis*. Calcified outer layer (CEC) in a fracture area. Arrows: bundles of uncompletely mineralized collagen fibers in the subsurface. SEM $\times$ about 6000.

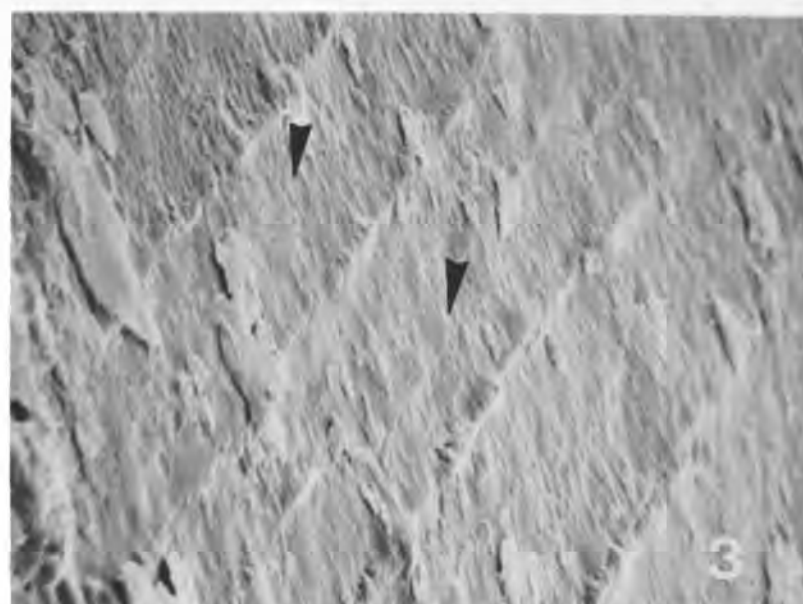


Fig. 3: *Vipera aspis*. Aspect de la surface externe de la CEC. Flèches: stries en relief et empreintes ogiformes. MEB $\times$ 1200 environ.

Fig. 3: *Vipera aspis*. Aspect of the surface of the CEC. Arrows: striae and ribbed prints. SEM $\times$ about 1200.

A sa base, la surface du crochet présente des structures pommelées de deux types, les unes de grand diamètre et de faible densité ($3/40 \mu\text{m}^2$), les autres de diamètre plus petit et de forte densité ($20/40 \mu\text{m}^2$).

Microscopie électronique à transmission (MET)

La MET confirme l'épaisseur de la CEC, de 0,4 à 0,5 μm environ. Par sa densité aux électrons, la CEC se démarque très nettement de la couche de dentine sous-jacente. La jonction avec la dentine est assez rectiligne, sans barrière de séparation. La CEC est constituée de petits cristaux aciculaires, mal définis et très serrés: les espaces inter-cristallins sont beaucoup moins larges que ceux de la dentine.

Dans l'épaisseur de la CEC, on observe des structures fibrillaires, mal minéralisées, distribuées dans tous les sens et sur lesquelles des cristaux aciculaires, sans orientation préférentielle, sont visibles. Parfois, l'on rencontre une invagination de matériel organique ayant l'aspect d'une lame effilée et s'arrêtant à environ $0,02\ \mu\text{m}$ de la surface. Il arrive cependant que cette invagination aille jusqu'à la surface de la CEC, où elle donne naissance à un pore (Fig. 4). Parfois aussi, l'invagination de matériel organique prend une forme arrondie, de $0,2\ \mu\text{m}$ de diamètre environ.

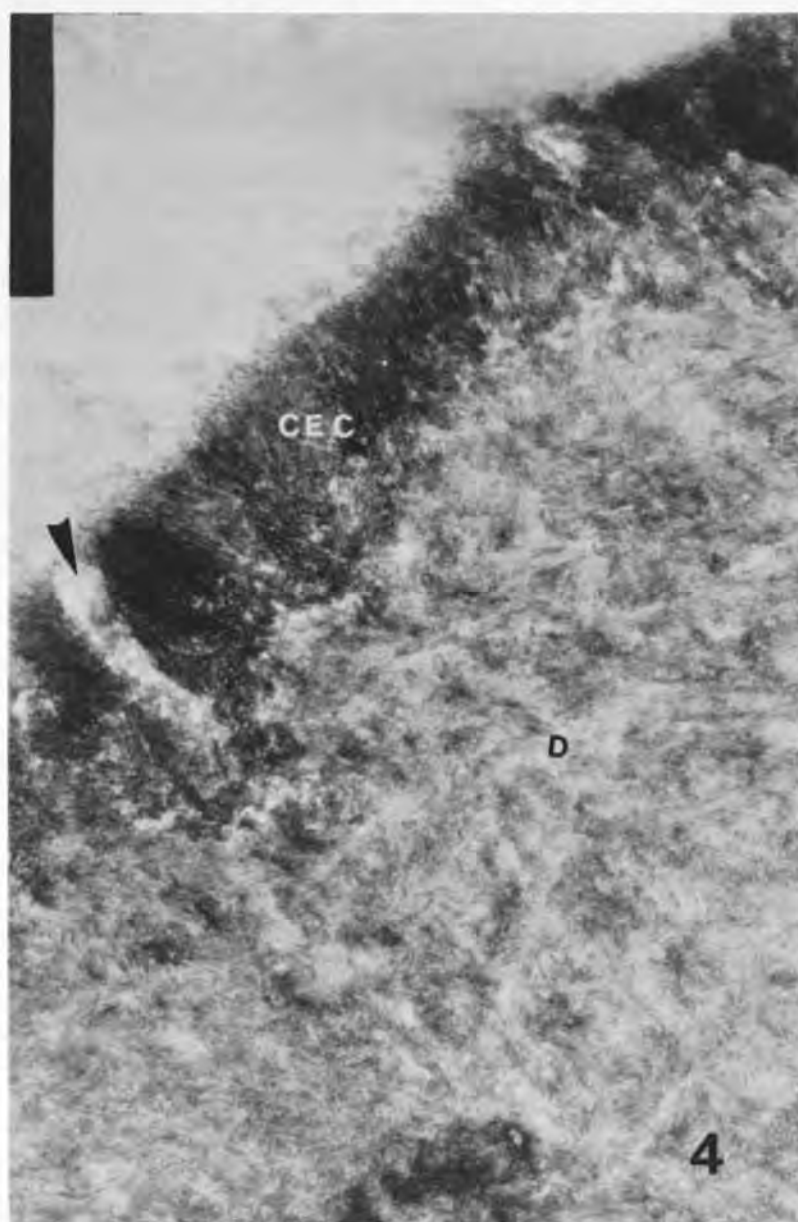


Fig. 4: *Vipera aspis*. Invagination de matériel organique dans la CEC donnant naissance à un pore (flèche). Noter le manque d'organisation des cristaux de la CEC et de la dentine. MET $\times 37\ 000$ environ.

Fig. 4: *Vipera aspis*. Invagination of organic material in the calcified outer layer (CEC), inducing a pore. The crystallites of the CEC and dentine are randomly distributed. TEM $\times$ about 37 000.

Paroi du canal à venin

Structure

Sur les coupes non décalcifiées comme sur les coupes décalcifiées, il est très difficile d'étudier la paroi du canal à venin, qui apparaît très fine et lisse sur toute sa surface.

Ultrastructure

Microscope électronique à balayage (MEB)

Le MEB met en évidence un aspect plicaturé de la paroi, qui globalement lisse, présente cependant par endroits des dépressions de petite taille et peu marquées. Dans la zone d'émergence du canal à venin (apex), on distingue des calcoglobules, répartis de façon homogène sur toute la surface de la paroi, lui donnant un aspect uniforme.

Microscopie électronique à transmission (MET)

L'aspect de la paroi en MET est semblable à celui de la CEC. Cependant, les cristaux aciculaires sont mieux organisés, disposés parallèlement entre eux et perpendiculairement à la surface. La jonction avec la dentine a une forme d'arc à concavité dentinaire. L'épaisseur de la paroi du canal à venin est de $0,6\ \mu\text{m}$ environ à la pointe de la concavité et de $0,4\ \mu\text{m}$ au centre. Nous n'avons observé aucune invagination de matériel organique ni aucune perforation de la paroi. Entre la CEC et la dentine, il existe une fine couche de cristaux, de $0,15\ \mu\text{m}$ environ, disposés perpendiculairement à la CEC. La densité électronique de cette couche interne calcifiée (CIC) se rapproche de celle de la dentine. La CIC contient peu de structures fibrillaires. Au niveau de la zone de jonction, les deux extrémités de la CIC se rencontrent et se superposent (Fig. 5).



Fig. 5: *Vipera aspis*. Zone de rencontre des deux extrémités du crochet lors de la plicature (flèche). MET $\times 39\ 000$ environ.

Fig. 5: *Vipera aspis*. Meeting area of both ends of the fang when folding occurs (arrow). TEM $\times$ about 39 000.

Dentine

Dentine périphérique

Structure

En coupe longitudinale, les canalicules, peu nombreux, ont un trajet en forme de S étiré et se terminent en oblique au voisinage de la CEC (Fig. 6). Leur diamètre, relativement large au départ, s'affine ensuite et les tubuli dentinaires se raréfient. Ces tubuli sont disposés parallèlement les uns aux autres. La densité microradiographique de la dentine est similaire à celle de la CEC.

Observée sur coupes décalcifiées, colorées au trichrome de Masson, la matrice dentinaire présente la coloration caractéristique du collagène.

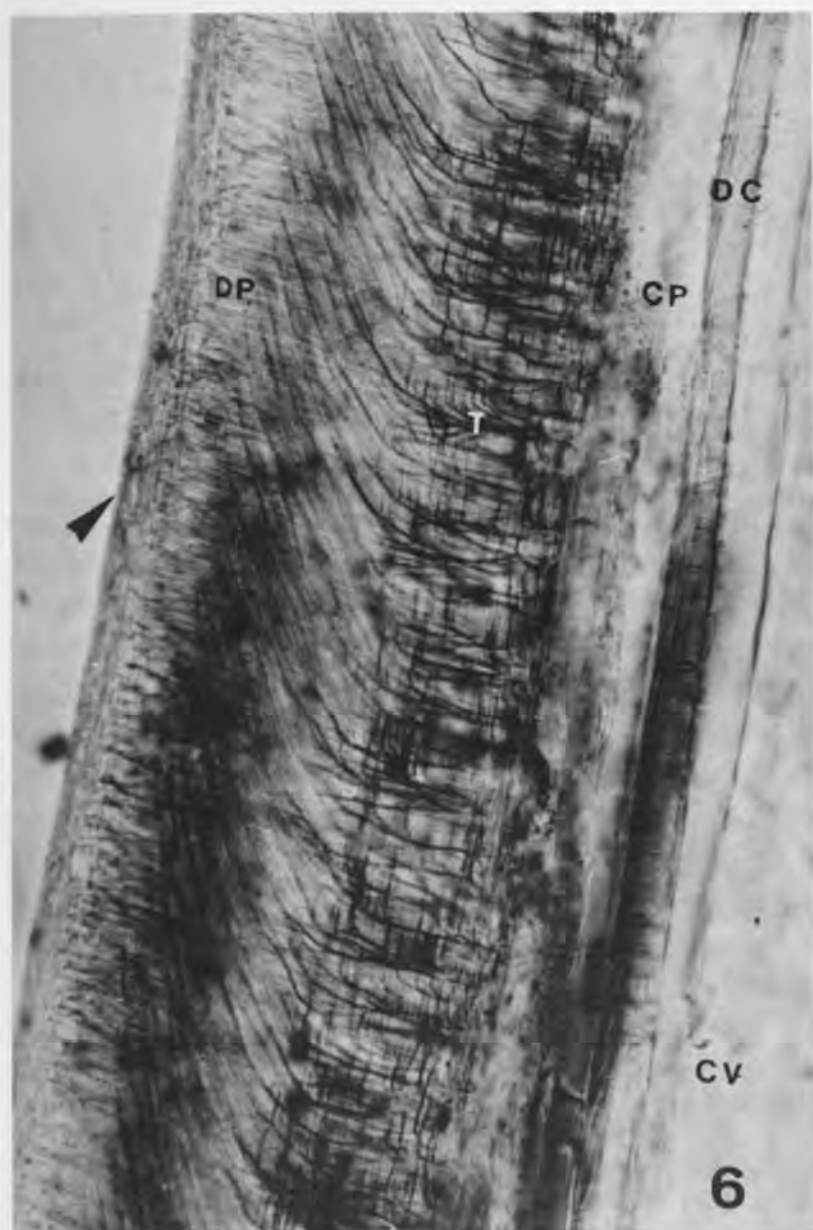


Fig. 6: *Crotalus albolabris*. Trajet et ramifications des tubuli dentinaires (T) dans la dentine périphérique (DP). Canal pulpaire (CP) - Canal à venin (CV) - Dentine centrale (DC) - Couche externe calcifiée (flèche). Coupe non décalcifiée $\times 800$ environ.
Fig. 6: *Crotalus albolabris*. Course and branching of the dentinal tubules (T) in the mantle dentine (DP). Pulp canal (CP) - Poison canal (CV) - Central dentine (DC). Calcified outer layer (arrow). Undecalcified section $\times$ about 800.

Ultrastructure

Microscopie électronique à balayage (MEB)

Observée en MEB, la dentine apparaît constituée de trousseaux de fibres de collagène mal minéralisées (Fig. 7), plus ou moins jointives, avec des espaces interfibrillaires plus ou moins grands. Dans la dentine intertubulaire, ces trousseaux de fibres sont disposés longitudinalement. Le long des trousseaux de fibres, on distingue nettement de très nombreux calcoglobules.

En MEB, les tubuli dentinaires présentent des ramifications, celles d'un canalicule pouvant être connectées à celles d'un canalicule voisin, ce qui donne une image en arête de poisson (Fig. 8). Sur les coupes



Fig. 7: *Vipera russelii*. Dentine périphérique. Restes des prolongements odontoblastiques (PO) se ramifiant dans les canalicules dentinaires. Trousseaux de fibres de collagène imparfaitement minéralisées (flèches) tapissant les tubuli dentinaires. MEB $\times 5000$ environ.
Fig. 7: *Vipera russelii*. Mantle dentine. Remnants of cell processes (PO) branching into the dentinal tubules. Bundles of uncompletely mineralized collagen fibres along the tubules. SEM $\times$ about 5000.

observées après fracture, on constate que le diamètre des canalicules varie d'un canalicule à l'autre, mais aussi, au cours du trajet d'un canalicule (de 1 μm dans la partie la plus étroite à 2 μm au niveau de la furcation). Dans la subsurface, sous la CEC, on trouve un enchevêtrement de fibres de collagène. Selon les espèces, des variantes peuvent se rencontrer. Ainsi, chez *Vitis gabonica* (Fig. 8), les ramifications canaliculaires, distantes de 0,5 μm environ et disposées de façon symétrique de part et d'autre du canalicule principal, sont très nombreuses. Chez *Vipera russelii* (Fig. 7), les ramifications, espacées de 5 à 10 μm environ, sont peu nombreuses. Dans la subsurface, le nombre des tubuli décroît: sur une surface de 25 μm^2 , on n'en compte plus que 2, alors que dans le reste de la dentine périphérique, on en dénombre de 3 à 4 pour une même surface.

Microscopie électronique à transmission (MET)

La dentine intertubulaire se caractérise par sa richesse en fibres, qui présentent la striation périodique caractéristique du collagène de type 1. Ces fibres ne sont

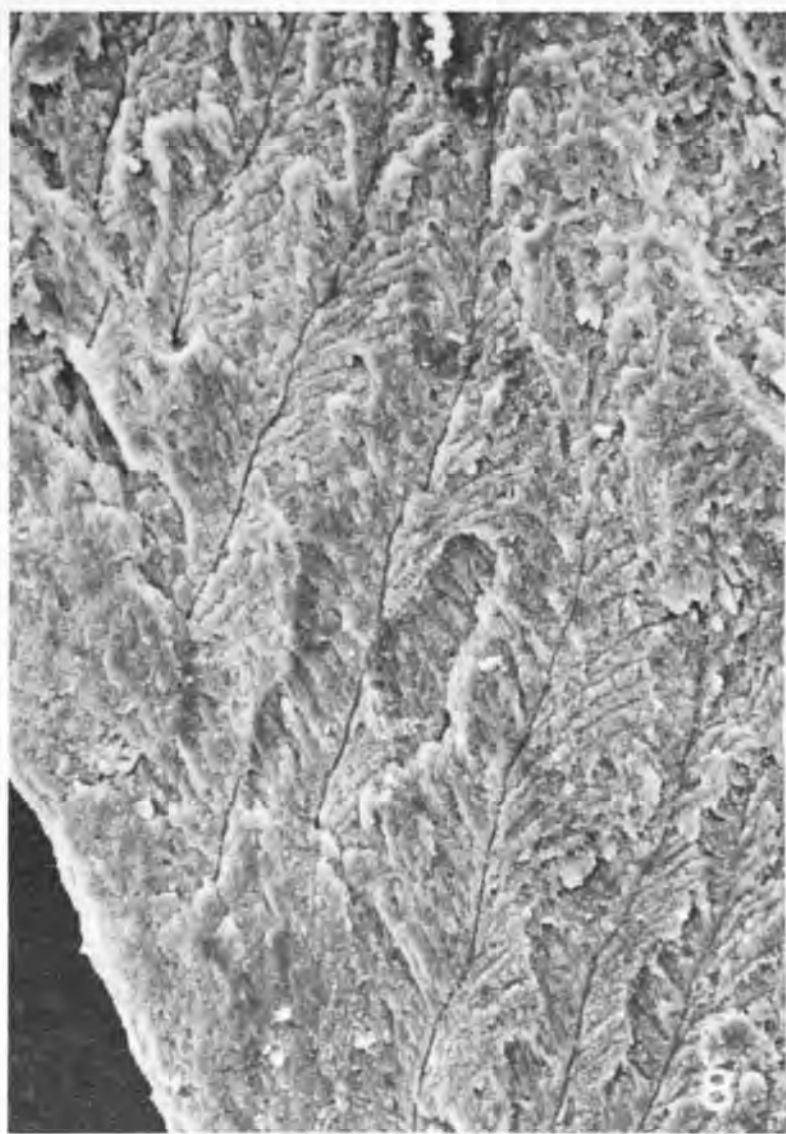


Fig. 8: *Bitis gabonica*. Ramifications canaliculaires de la dentine donnant une image en arête de poisson. MEB $\times$ 1500 environ.
Fig. 8: *Bitis gabonica*. Branching of the dentinal tubules giving a fish-bone aspect. SEM $\times$ about 1500.

pas masquées par les cristaux, que l'on distingue le long de leur trajet ou autour d'elles. Ces cristaux sont aciculaires, avec des espaces intercrystallins importants, ils sont disposés en gerbes de blé. Cette disposition en gerbe semble se faire autour d'une zone moins dense aux électrons (Fig. 9).

La dentine peritubulaire présente une densité aux électrons nettement plus grande, qui permet de la différencier de la dentine intertubulaire. Lorsque la dentine peritubulaire est incomplètement minéralisée, on observe une proportion importante de fibres de collagène, qui suivent la direction des canalicules. Lorsque la minéralisation est achevée, on ne distingue plus que des cristaux très fins, aciculaires, disposés longitudinalement, avec peu d'espaces intercrystallins comparativement à la dentine intertubulaire. L'épaisseur de la dentine peritubulaire est de 0,06 μm environ.

La dentine circumpulpaire

Structure

La dentine circumpulpaire n'est pas visible sur les coupes non décalcifiées.

Sur les coupes décalcifiées, colorées au trichrome de Masson, la dentine circumpulpaire apparaît localisée à la base de la couche odontoblastique. Sa forte imprégnation, qui révèle sa composition riche en collagène, la distingue de la dentine adjacente.

Ultrastructure

Microscopie électronique à balayage (MEB)

La dentine circumpulpaire apparaît, chez toutes les espèces, constituée d'une structure grossièrement globulaire sur toute la longueur du crochet. Sa surface présente des ondulations, et parfois des nodules (Fig. 10). Il existe cependant des variations selon les espèces: Chez *Vipera russelii*, par exemple, les globules ont parfois l'aspect d'hémisphères déformés, de 15 à 20 μm environ de diamètre, et recouverts de calco-globules. Parfois, ces hémisphères se regroupent par lots de deux ou trois, formant des îlots de taille variable (Fig. 11). Chez *Vipera aspis*, la densité des canalicules dentinaires est peu élevée (1 pour 25 μm^2 environ).

Microscopie électronique à transmission (MET)

Observée en MET, la prédentine se caractérise par une grande densité en fibres de collagène. En coupe longitudinale, les fibres présentent la striation périodique du collagène de type 1. Les prolongements odontoblastiques apparaissent riches en organites intracytoplasmiques (mitochondries, polyribosomes en chapelets et grains de lysosomes). Au niveau du front de minéralisation, la concentration en fibres de

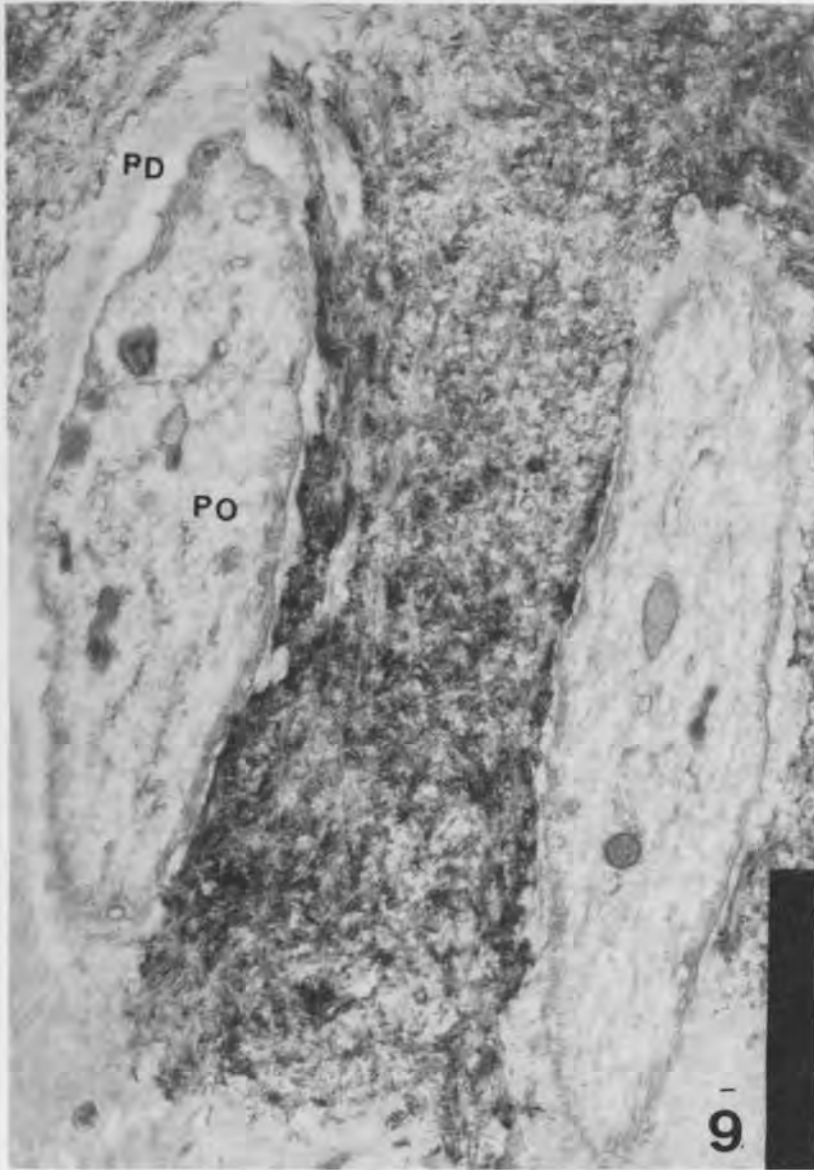


Fig. 9: *Vipera aspis*. Prolongements odontoblastiques coupés transversalement. Remarquer la présence d'organites dans le cytoplasme de l'un des prolongements odontoblastiques (PO) partiellement entouré de prédentine (PD). MET $\times 176000$ environ.

Fig. 9: *Vipera aspis*. Odontoblastic processes observed in transverse section. Some organelles are visible within the cytoplasm of a cell process (PO) partly surrounded with predentine. TEM $\times$ about 176000.



Fig. 10: *Bitis gabonica*. Dentine circumpulpaire avant nettoyage à l'hypochlorite de sodium. MEB $\times 6000$ environ.

Fig. 10: *Bitis gabonica*. Circumpulpal dentine before treatment with sodium hypochlorite. SEM $\times$ about 6000.

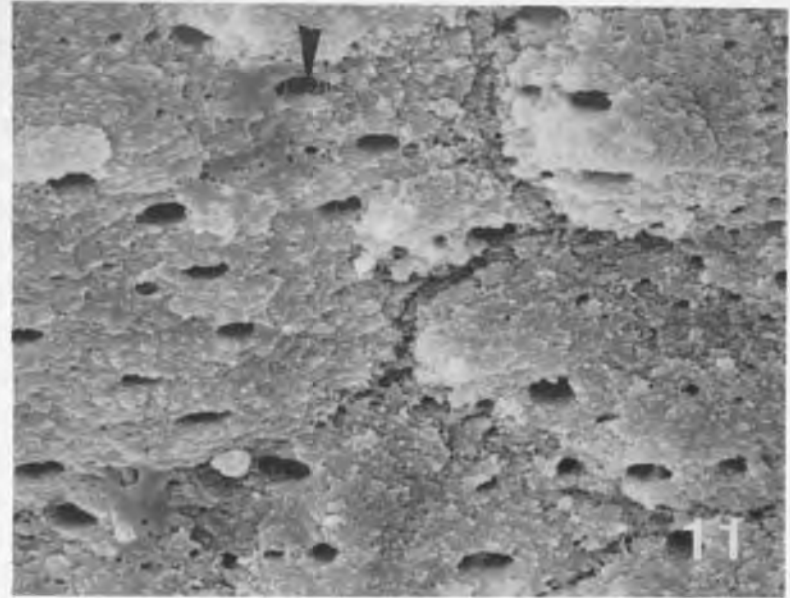


Fig. 11: *Vipera russelii*. Dentine circumpulpaire après nettoyage à l'hypochlorite de sodium. MEB $\times 1800$ environ.

Fig. 11: *Vipera russelii*. Circumpulpal dentine after treatment with sodium hypochlorite. SEM $\times$ about 1800.

collagène diminue, la striation périodique du collagène n'est plus visible et l'on note l'apparition de petits cristaux aciculaires le long des fibres et dans les espaces interfibrillaires.

Analyses physico-chimiques

Les résultats de la diffraction aux rayons X de poudres de crochets donnent les raies principales de (211), (112), (300) et (002), dont les intensités moyennes respectives sont de 160, 60, 60 et 40. Ces résultats indiquent que le minéral est une apatite mal minéralisée, composée de cristaux de très petite taille. La spectrométrie infra-rouge confirme ces résultats et indique que cette apatite est très carbonatée.

DISCUSSION

Les crochets des Vipéridés ayant été peu étudiés jusqu'alors, nous ne disposons que d'un nombre de références limité à confronter avec les résultats de notre travail.

La couche externe calcifiée des crochets des Vipéridés a toujours été appelée émail dans la littérature, depuis Owen (1840), qui, pourtant en niait l'existence. Au contraire, Tomes (1875), Noyes (1935), Mummery (1924), Poole (1956, 1957) reconnaissent son existence et Levi (1939) lui donne le nom de «cuticule d'émail». Selon Tomes (1875, 1923), Poole (1956, 1957), Schmidt et Keil (1971), l'émail des Vipéridés, qui possède un faible indice de réfraction et une biréfringence négative, est légèrement différent de la dentine sous-jacente. Nos propres observations ne nous ont pas permis de mettre en évidence ces particularités en microscopie photonique. En effet, en accord avec Schmidt et Keil (1971), nous avons constaté que

la CEC était difficile à étudier en microscopie photonique chez les Vipéridés, à la différence de l'émail des Crocodiliens, beaucoup plus épais (Poole, 1957, 1967; Peyer, 1968; Scott and Symons, 1974) et, comme Tomes (1875), nous avons constaté la disparition totale de la CEC dans la solution décalcifiante. Sur les microradiographies, les différences de radio-densité de la CEC et de la dentine sous-jacente ne sont pas nettes, peut-être à cause de l'épaisseur des coupes, peut-être parce que le degré de minéralisation des deux tissus est identique. Seules la MEB et la MET nous ont permis de démontrer l'existence de la CEC. La MEB nous a permis de confirmer que la CEC était bien distincte de la dentine, comme l'avaient souligné, en particulier, Schmidt et Keil (1971). La MEB a aussi montré l'existence, à la surface des crochets, d'empreintes en forme de petites dépressions, que Nessi de Avinon et coll. (1986) avaient appelées «stries». Ces dépressions présentent des similitudes avec les perikymaties, ce qui rapprocherait l'ébauche dentaire des crochets des Vipéridés de celle des Vertébrés Supérieurs, comme l'avaient suggéré Tomes (1875), Perrier (1893), Cooper (1965), Anthony (1973).

Notre étude en MET est, à notre connaissance, la première qui ait jamais été faite. Elle nous a permis de mettre en évidence l'existence d'invaginations organiques dans l'épaisseur de la couche externe calcifiée. Ces invaginations peuvent aboutir à des pores, dont l'existence traduit la finesse des invaginations organiques, qui explique leur disparition au cours des étapes de préparation des spécimens. La MET nous a permis de préciser que la CEC est constituée de petits cristaux aciculaires, sans orientation préférentielle, qu'elle présente une densité aux électrons différente de celle de la dentine et que son épaisseur est de 0,4 μm environ. Selon Tomes (1875), Schmidt et Keil (1979), Nessi de Avinon et coll. (1986), l'épaisseur de la CEC augmente de la pointe à la base.

Notre étude en MET ne nous a pas permis d'affirmer la nature prismatique de la CEC des crochets des Vipéridés, si nette chez les Crocodiliens (Cooper et Poole, 1973), non plus que le caractère granuleux ou lamellaire rapporté par Bradford (1954), sur la base d'observations en microscopie photonique. En revanche, la MET a montré que, comme la dentine, la CEC des dents des Vipéridés renferme une proportion importante de structures fibrillaires de nature collagénique. Nous préférons donc, au terme d'émail, celui d'*émailloïde*, utilisé pour la première fois par Poole (1967), repris et actualisé par Kerebel (1980), qui en ont élargi l'acception.

Notre étude de la paroi du canal à venin a montré, en accord avec les observations de Nessi de Avinon et coll. (1986), qu'elle ne présentait pas de perforations liées à la présence d'invaginations de matériel organique. En accord également avec les observations en MEB de Nessi de Avinon et coll. (1986), nos observations de la paroi du canal à venin en MET ont montré l'existence d'une couche interne calcifiée. Ces observations infirment l'opinion de Mummery (1924), qui, sur la base d'observations en microscopie classique, n'avait mis en évidence qu'une seule couche d'émail.

Comme ceux de la CEC, les cristaux de la CIC sont très petits, aciculaires et coexistent avec des fibres de collagène incomplètement minéralisées. En revanche, à la différence de la CEC, que nous avons choisi d'appeler *émailloïde*, la CIC présente des cristaux parallèles entre eux et perpendiculaires à la couche de dentine sous-jacente. Enfin, la CIC est plus épaisse que la CEC. Il semble donc que l'on puisse parler, chez les Vipéridés, d'*émailloïde externe* et d'*émailloïde interne*. L'existence d'un *émailloïde interne* peut s'expliquer si l'on se réfère à l'histogénèse des dents des Vipéridés (Tomes, 1875; Cooper, 1965; Anthony, 1973). La formation du canal à venin a été étudiée par Levi (1939), puis par Gans et Bellairs (1969), qui ont mis en évidence 8 étapes de développement. Pour Nessi de Avinon et coll. (1986), la surface des crochets présente, dès les premiers stades de développement, une cannelure qui, par la suite, se transformerait en canal à venin par la migration des bords de l'émail. Nos observations confirment cette hypothèse, qui n'explique cependant ni les différences morphologiques des deux structures, ni la différence d'orientation des cristaux, ni la présence, chez l'un et l'absence, chez l'autre, d'invaginations de matériel organique. Cette invagination de matériel organique dans l'épaisseur de l'*émailloïde interne* évoque les buissons de l'émail présents dans les dents humaines (Ten Cate, 1980; Provenza et Seibel, 1986).

Il existe, sous l'*émailloïde* des crochets des Vipéridés, une dentine, qui a été appelée *orthodentine* par Owen (1840), Tomes (1875), Bradford (1954), Poole (1956, 1957), Peyer (1968), *normodentine* ou *dentine* de Von Ebner par Schmidt et Keil (1971). Nos observations, mettant en évidence une structure canaliculaire, confirment bien qu'il s'agit d'une *orthodentine*, observée en microscopie photonique, la dentine des Vipéridés présente des lignes de croissance très marquées, selon l'axe du crochet. Etant donné que ces stries de croissance traduisent des changements métaboliques (Kerebel et coll., 1974), on peut admettre l'hypothèse que, chez les Vipéridés, elles signent le passage du mode de vie aquatique au

mode de vie terrestre (Peyer, 1968; Schmidt et Keil, 1979). Toutefois, cette hypothèse doit être avancée avec prudence puisque, selon Guibé (1970), l'origine des serpents demeure encore incertaine. Nos observations ont mis en évidence une organisation particulière des *canalicules dentinaires* chez les Vipéridés: ramifications latérales le long des canalicules, qui, parallèles entre eux, se terminent en oblique au voisinage de l'émailloïde externe. Une organisation semblable des canalicules a été décrite par Kerebel et coll. chez *Prionace glauca* (1974) et chez *Anarhichas lupus* (1978). L'aspect en MEB des ramifications canaliculaires, que nous avons décrit «en arêtes de poisson», correspond au «système d'embranchement» décrit par Bradford (1954). A cause de ce système d'embranchement, en section transversale, le nombre des canalicules dentinaires paraît très élevé, alors qu'en réalité on n'en compte que 3 par μm^2 , ce qui est fort peu si l'on fait la comparaison avec la densité des tubuli dentinaires (30 à 75.000 par μm^2) chez les Vertébrés Supérieurs (Poole, 1956; Schmidt et Keil, 1971; Nessi de Avinon et coll. (1986).

La MET, montrant, autour du prolongement odontoplastique, l'existence d'un fourreau cristallin, de 0,06 μm d'épaisseur, contenant peu de structures fibrillaires et possédant une densité aux élections différente de celle de la dentine environnante, suggère l'existence d'une *dentine péricanaliculaire*. D'autres études seraient cependant nécessaires pour le confirmer.

Les données de la MET, montrant que la dentine des crochets était composée de petits cristaux aciculaires et de fibres de collagène incomplètement minéralisées, ont été confirmées par les analyses physico-chimiques, indiquant que le minéral était *une apatite de faible cristallinité et fortement carbonatée*. La présence de calcoglobules à la surface des trousseaux de fibres de collagène et l'aspect globulaire de la dentine circumpulpaire, tel qu'il apparaît en MEB, sont en relation avec ce type de minéralisation.

RÉFÉRENCES

- Anthony, J. — Anatomie dentaire comparée. Paris, Julien Prélât., 1973.
- Bradford, E.W. — Observations of the teeth of Reptiles. *J. Dent. Res.*, 33: 733-739, 1954.
- Cooper, J.S. — Tooth replacement in amphibious and reptiles. *Br. J. Herpetol.*, 3: 214-217, 1965.
- Cooper, J.J., poole, D.F.G. — The dentition and dental tissues of the Agamid Lizard, *Uromastix*. *J. Zool. Lond.*, 169: 85-100, 1973.
- Frazetta, T.H. — Studies on the morphology and function of the skull in the Bovidae (Serpentes). Part II. Morphology and function of the jaw apparatus in Python Sebae and Python Molurus. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, 118: 217-296, 1966.
- Gans, C., Bellairs, A. — Biology of the Reptilia. London, Academic Press, 1969, vol. I, pp. 117-173.
- Guibe, J. — La systématique des Reptiles actuels. In: Grassé, P.P.: Traité de Zoologie. Paris, Masson, Tome XIV, fasc. II et III: 1054-1061 et 1125-1150, 1970.
- Kerebel, L.M., Le Cabellec, M.T. — Structure and ultrastructure of dentine in the teleost fish. *Lophius. Arch. Biol.*, 24: 745-751, 1979.
- Kerebel, L.M., Le Cabellec, M.T. — Enamoid in the teleost fish. *Lophius. Cell. Tissue. Res.*, 206: 211-213, 1980.
- Kerebel, B., Le Cabellec, M.T., Daculsi, G., Kerebel, L.M. — Osteodentine and vascular osteodentine of *Anarhichas lupus*. *Cell. Tissue. Res.*, 187: 135-146, 1978.
- Kerebel, B., Maillard, Y., Clergeau, S., Daculsi, G., Jacob, P. — Histologie dentaire chez *Prionace glauca*. *J. Biol. Buccale*, 2: 9-13, 1974.
- Levi, G. — Etudes sur le développement des dents chez les Téléostéens. I: Les dents de substitution chez les genres *Ophidium*, *Trigla*, *Rhombus*, *Belone*. *Arch. Anat. Microsc. Paris*, 35: 101-146, 1939.
- Mummery, H.H. — The teeth of amphibia and reptiles. In: Mummery, H.H. The microscopic and general anatomy of the teeth, human and comparative. 2d ed. London, Oxford Medical Publications, pp. 483-494, 1924.
- Nessi de Avinon, A.L., Boero, N.N., Vogt, A.U. — Morphological changes in the bothrops. *Alternatus* inoculating tooth as maturation proceeds. A scanning electron microscopic study. *Comun. Biol.*, 4: 367-376.
- Noyes, H.J. — Comparative dental histology. In: Noyes, N.J.: Oral Histology and Embryology. 7th ed., Philadelphia, Lea and Febiger, pp. 377-389, 1953.
- Owen, R. — Odontography. London, Baillière, 1840, 2 vols.
- Perrier, R. — Elements d'anatomie comparée. Paris, Baillière, 1893.
- Peyer, B. — Comparative Odontology. Chicago, University of Chicago Press, Rainer Zangerl, 1968.
- Poole, D.F.G. — The structure of the teeth of some Mammal-like Reptiles. *J. Microsc. Sc.*, 97: 303-312, 1957.
- Poole, D.F.G. — The formation and properties of the organic matrix of reptilian tooth enamel. *J. Microsc. Sc.*, 98: 349-367, 1957.
- Poole, D.F.G. — Enamoid and enamel in recent Vertebrates. In: Miles, A.E.W.: Structural and Chemical Organization of Teeth. New York, Academic Press, pp. 129-146, 1967.
- Provenza, D.V., Seibel, W. — Oral Histology, Inheritance and Development, 2d ed., Philadelphia, Lea and Febiger, 1986.
- Schmidt, W.J., Keil, A. — Polarizing Microscopy of Dental Tissues. Oxford, Pergamon Press, 1971.
- Scott, J.H., Symons, N.B.B. — Introduction to Dental Anatomy, 7th ed., Edimburg and London, Churchill Livingstone, 1974.
- Ten Cate, A.R. — Oral Histology, Structure, Development and Function. Mosby, 1980.
- Tomes, C.S. — On the structure and development of the teeth of Ophidia. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.*, 165: 297-302, 1875.
- Tomes, C.S. — A Manual of Dental Anatomy, Human and Comparative, London, J. and A. Churchill, 1923.
- Vaeth, R.H., Rossman, D.A., Shoop, W. — Observations of tooth morphology in Snakes. *J. Herpetol. (U.S.)* 19: 20-26, 1985.
- Reprints requests: Dr. A.L. Kattie, Unité 225 INSERM, Faculté de Chirurgie Dentaire, Place Alexis Ricordeau, 44042 Nantes (France).