

THESE

TOULOUSE ANNEE 2005

**INFLUENCE DE LA LOCALISATION, DE LA DIRECTION  
DU FLUX ET DE LA MATURATION SQUELETTIQUE SUR  
LA PERMEABILITE DES PLATEAUX VERTEBRAUX DU  
MOUTON**

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2005  
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse*

*par*

**Audrey Paule Odette FROMENTIN**  
née le 12 février 1981, à Tarbes ( Hautes-Pyrénées)

---

**Directeur de thèse : M. le Professeur André AUTEFAGE**

---

**JURY**

PRESIDENT :

Jérôme SALES DE GAUZY      Professeur à l'Université Paul Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

André AUTEFAGE      Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Patricia MEYNAUD COLLARD      Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Pascal SWIDER      Professeur à l'Université Paul Sabatier de TOULOUSE

## REMERCIEMENTS

Je remercie sincèrement mon jury de thèse,

**Monsieur le Professeur Jérôme SALES DE GAUZY**

Professeur des Universités

Praticien hospitalier – Hôpital des Enfants de Toulouse

*Chirurgie infantile*

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ma thèse ;

**Monsieur le Professeur André AUTEFAGE**

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Pathologie chirurgicale*

Qui m'a fait l'honneur de diriger ma thèse ;

**Madame le Docteur Patricia MEYNAUD-COLLARD**

Maître de conférence de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Pathologie chirurgicale*

Qui m'a fait l'honneur de participer à mon jury de thèse ;

**Monsieur le Professeur Pascal SWIDER**

Professeur des Universités

*Génie mécanique et productique*

Qui m'a fait l'honneur d'accepter l'invitation à ma soutenance de thèse.

Je remercie tout particulièrement Jean-Michel LAFFOSSE (Service de Chirurgie orthopédique – CHU Purpan- Toulouse) pour ses conseils et son aide précieuse tout au long de la réalisation de cette expérience et de la rédaction de la thèse.

Merci à Sophie PALIERNE (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse) pour sa disponibilité et sa gentillesse.

Je remercie également l'équipe du Laboratoire de Biomécanique de Purpan : Pascal SWIDER, Dominique AMBARD et Jérôme BRIOT qui ont participé à l'élaboration du protocole expérimental et m'ont inculqué de nombreuses notions de biomécanique.

Merci à Franck ACCADBLE (Service de Chirurgie Orthopédique Pédiatrique – CHU Purpan - Toulouse), Anne GAUMEZ-BROUCHET (Service d'Anatomo-Cytopathologie – CHU Rangueil – Toulouse) et Fabienne BRIAND-MESANGE (Service de Biochimie – CHU Purpan – Toulouse) pour avoir contribué à la réalisation de ce travail.

Enfin je dédis ce travail à tous ceux qui m'ont soutenue et encouragée dans mes choix tout au long de ces années d'études à Toulouse : ma famille, mes amis. Ils ont indirectement participé à l'aboutissement de ces études et de cette thèse par leurs conseils, leurs attentions et aussi grâce à tous les bons moments partagés.

# SOMMAIRE

RÉSUMÉ

INTRODUCTION

## **PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE GÉNÉRALE**

- 1.1. Le disque intervertébral
  - 1.1.1. Développement et croissance
  - 1.1.2. Composition biochimique et structure histologique
- 1.2. Le plateau vertébral
  - 1.2.1. Structure et composition
  - 1.2.2. Vascularisation
- 1.3. La perméabilité des plateaux vertébraux
  - 1.3.1. Analyse qualitative
  - 1.3.2. Analyse quantitative
  - 1.3.3. Comparaison avec le cartilage articulaire
  - 1.3.4. Evolution avec l'âge
- 1.4. Pré-requis expérimentaux
  - 1.4.1. Choix d'un modèle animal
  - 1.4.2. Conservation des échantillons
  - 1.4.3. Les différentes méthodes de mesure de la perméabilité

## **PARTIE 2 : MATÉRIELS ET MÉTHODES**

- 2.1. Matériels
- 2.2. Méthodes et dispositif de mesure
- 2.3. Etude histomorphométrique
  - 2.3.1. Dispositif expérimental
  - 2.3.2. Mesure et traitement des données
  - 2.3.3. Validation du processus de mesure

## **PARTIE 3 : RÉSULTATS**

- 3.1. Mesures des perméabilités

3.2. Etude histomorphométrique

**PARTIE 4 : DISCUSSION**

**CONCLUSION**

**RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## INTRODUCTION

Différents modèles ont été développés pour décrire le comportement du disque intervertébral<sup>11</sup>. Les plus anciens ont été basés sur l'hypothèse d'un comportement purement élastique ou visco-élastique du disque mais étaient limités pour décrire les mouvements de fluide à l'intérieur de celui-ci et les échanges avec l'extérieur. Ils ne prenaient pas en compte les propriétés intrinsèques du disque ou des plateaux vertébraux vis à vis des liquides. D'autres modèles en éléments finis sont apparus<sup>25,39,63</sup> et ont considéré le disque comme un matériel poro-élastique, en intégrant les mouvements de fluide interstitiel à l'intérieur du disque. Ces modèles ont ainsi pu anticiper sa réponse mécanique en fonction des mouvements de fluide. Néanmoins, même si plusieurs études ont démontré le caractère anisotrope du disque, élément capital pour comprendre son comportement vis à vis des sollicitations extérieures, des éléments, autres que le tissu discal, interviennent dans les mouvements et les échanges liquidiens. En effet, comme ont pu conclure plusieurs auteurs (Fergusson et coll.<sup>29</sup>, Pédrono et coll.<sup>51</sup>) les conditions aux limites imposées au disque vis à vis des fluides vont influencer son comportement.

Il est donc nécessaire, si l'on veut modéliser correctement le disque, de connaître le comportement des plateaux vertébraux et des parois externes de l'Annulus Fibrosus (AF) vis à vis des fluides (perméabilité, influence de la direction du flux). La périphérie de l'AF est une voie d'apport de nutriments minoritaire par rapport à celle que constituent les plateaux vertébraux<sup>63</sup>. A leur hauteur, on peut décrire un élément essentiel de résistance à l'échange de fluide : les cartilages des plateaux vertébraux (CPV), nommés cartilage end-plate en anglais. On sait depuis l'étude de Brodin<sup>14</sup> que la perméabilité des CPV n'est pas homogène et récemment, Ayotte et coll.<sup>8</sup> ont semble-t-il montré l'influence de la direction du flux vis à vis des échanges des fluides. De plus, au cours de la maturation squelettique, des remaniements importants existent à hauteur des plateaux vertébraux avec le développement de calcifications et la maturation vasculaire.

Notre étude, réalisée à partir d'un modèle animal (agneaux) a donc pour buts de :

- **Quantifier la perméabilité intrinsèque** à l'interface disque intervertébral - corps vertébral constituée par le Cartilage du Plateau Vertébral (CPV) par une méthode de mesure directe
- Dresser une cartographie mettant en relief les **variations** de la perméabilité au sein du CPV
- Mettre en évidence **l'influence de la direction du flux**
- Etudier **l'influence de la croissance** et plus généralement de la maturation squelettique sur cette perméabilité.

L'ensemble de ces résultats est complété par une étude histologique des plateaux vertébraux.

## **PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **1.1. Le disque intervertébral**

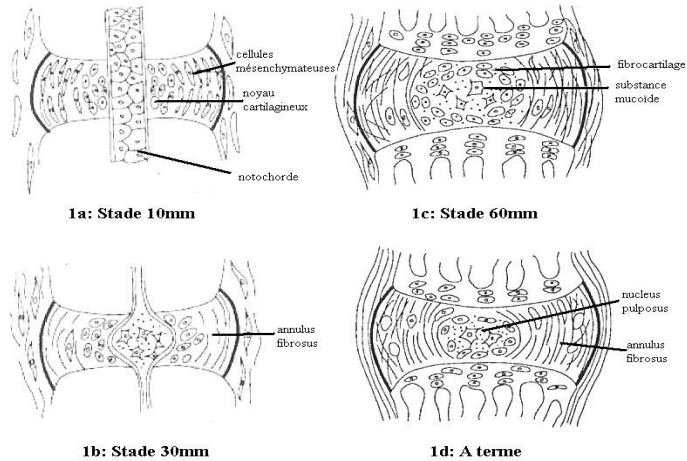
Le disque intervertébral est l'élément essentiel du segment mobile rachidien<sup>3,55</sup>. Il participe à la cohésion intervertébrale et constitue un espace déformable facilitant les mouvements du rachis tout en absorbant et en redistribuant les contraintes dans les 3 dimensions de l'espace<sup>3,18,30,55,70</sup>. Le disque constitue « une unité fonctionnelle » dont les propriétés, complexes, reposent sur une structure et une composition biochimique élaborées, évolutives avec la maturation et le vieillissement de l'organisme.

#### **1.1.1. Développement et croissance :**

Le développement du disque intervertébral et des vertèbres adjacentes débute très tôt durant la vie intra-utérine ; ils sont étroitement liés.

Chez l'homme, au dix-septième jour de vie intra-utérine, apparaissent deux feuilletts : l'ectoblaste, qui va s'invaginer pour former le tube neural à l'origine de la moelle épinière, et le mésoblaste. Ce dernier s'épaissit, puis se segmente, formant les sclérotomes migrant de part et d'autre de la notochorde. Chaque sclérotome va ensuite se cliver horizontalement. La partie crâniale, à l'origine du disque, fusionne à la partie caudale du sclérotome sus-jacent à l'origine du corps vertébral<sup>21</sup>. La notochorde va régresser au sein des corps vertébraux lors de leur différenciation cartilagineuse puis osseuse (Fig. 1a, 1b, 1c, 1d). Au sein du disque, dans un premier temps, l'expansion de la notochorde forme un amas cellulaire ovalaire, le nucleus pulposus. Dans le même temps, les cellules notochordales dégèrent et sont remplacées par une substance mucoïde. Le disque péri-notochordal mésenchymateux (futur annulus fibrosus) se différencie en deux zones : une zone périphérique fibreuse constituée de fibroblastes et de fibres de collagène et une zone centrale plus lâche<sup>19,21</sup>.



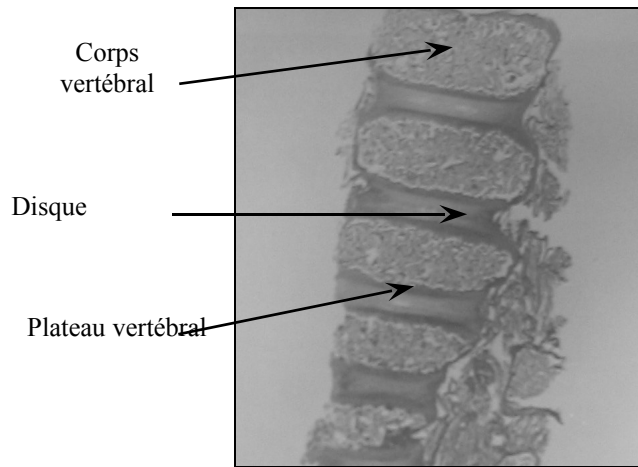


**Fig. 1a, 1b, 1c, 1d :** Régression chordale et formation du nucleus pulposus (d'après Diméglio et Bonnel)<sup>21</sup>

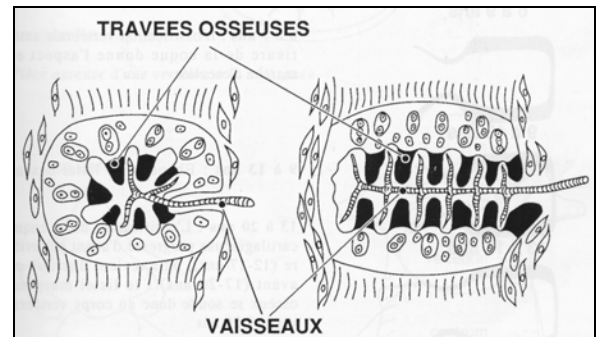
Chez le nouveau-né, à terme, on peut retrouver trois structures distinctes (Fig. 2). Le disque intervertébral est constitué du nucleus pulposus (NP) au centre et de l'annulus fibrosus (AF) en périphérie, fait de lamelles compactes. La maturation post-natale se traduit par la disparition des vestiges chordaux et la transformation du NP en fibrocartilage<sup>19</sup> à mesure qu'il se charge en fibres de collagène.

Chez l'adulte, vers l'âge de 30 ans, le NP est solide, fibreux et n'est plus démarqué aussi clairement de l'AF<sup>19</sup>.

Quant à la croissance de la vertèbre, elle débute dès le 3<sup>o</sup> mois in utero pour se terminer seulement vers la 25<sup>o</sup> année de vie. Elle va se faire dans 2 directions, en hauteur et en largeur par ossification endochondrale, sous l'influence d'un pédicule vasculaire pénétrant le mur vertébral antérieur à l'origine d'une lacune vasculaire (Fig.3).



**Fig.2 :** Disque et vertèbre chez le nouveau-né (d'après Diméglio et Bonnel)<sup>21</sup>



**Fig.3 :** Lacunes vasculaires au sein des corps vertébraux (d'après Diméglio et Bonnel)<sup>21</sup>

Les vertèbres ont une croissance différentielle<sup>21</sup> : l'activité des cartilages de croissance croît du segment cervical au segment lombaire. La hauteur des zones de croissance est plus importante sur les faces inférieures des vertèbres cervicales et lombaires et sur les faces supérieures des vertèbres dorsales. La croissance du disque est elle aussi différentielle<sup>21</sup>. En fin de croissance, les disques représentent  $\frac{1}{4}$  de la hauteur totale au niveau du rachis cervico-dorsal, et  $\frac{1}{3}$  de la hauteur totale dans la région lombaire.

### 1.1.2. Composition chimique et structure histologique :

Le disque est constitué en son centre du Nucleus Pulposus (NP) et en périphérie de l'Annulus Fibrosus (AF). Le NP et l'AF central sont en contact direct avec le cartilage hyalin des plateaux vertébraux. Les fibres de la partie interne de l'AF sont attachées à la plaque cartilagineuse du plateau vertébral et les fibres de la partie externe sont ancrées dans la périphérie des plateaux vertébraux<sup>55</sup>.

Le NP, qui est composé à 80% d'eau, représente environ 50% du volume du disque intervertébral adulte. Sa matrice extra-cellulaire est faite de collagène (20% du poids sec) et

de protéoglycanes (50% du poids sec). Ces derniers, sous forme de gel visqueux, confèrent au disque son caractère hydrophile et ses propriétés hydrostatiques.

L'AF est formé de 7 à 15 lamelles concentriques entre lesquelles sont enchâssées cellules et matrice<sup>54</sup>. Il est composé à 60-70 % d'eau, de collagène (65-70 % du poids sec) et de protéoglycanes (10-20 %) concentrés dans sa partie interne<sup>54</sup>. Les protéoglycanes (Pg) de la matrice discale (agrécane et versicane) forment des agrégats. Les agrécane peuvent se lier à des glycosaminoglycanes chargés négativement attirant ainsi les molécules d'eau, ce qui confère au tissu discal ses capacités de résistance aux forces compressives. Le collagène confère au disque ses capacités de résistance en tension.

D'une espèce à l'autre, cette organisation structurale est remarquablement conservée<sup>18,20,26,32,39,49,56,70,72,73</sup>. A partir de la 3<sup>e</sup> - 4<sup>e</sup> décennie, on observe des modifications de la composition du disque et surtout du NP<sup>30,54</sup>, où le contenu en eau chute de 80-90 % à 70 %. Le NP devient alors progressivement fibrotique, moins élastique et moins hydraté. Le contenu en collagène augmente, le contenu en Pg diminue. La cellularité du disque intervertébral humain est faible<sup>54</sup>, en moyenne 5800 cell/mm<sup>3</sup><sup>44</sup>. La distribution des cellules n'est pas homogène<sup>44</sup>: les cellules sont plus nombreuses en regard du cartilage des plateaux vertébraux, et dans la partie externe de l'AF. Ainsi la cellularité du disque diminue de la périphérie du disque vers le centre et des plateaux vertébraux vers le centre. La distribution cellulaire est à mettre en parallèle avec la perméabilité<sup>44</sup>; en effet, les cellules vont se concentrer à proximité des sources de nutriments, c'est à dire à la périphérie de l'AF et à proximité du cartilage des plateaux vertébraux.

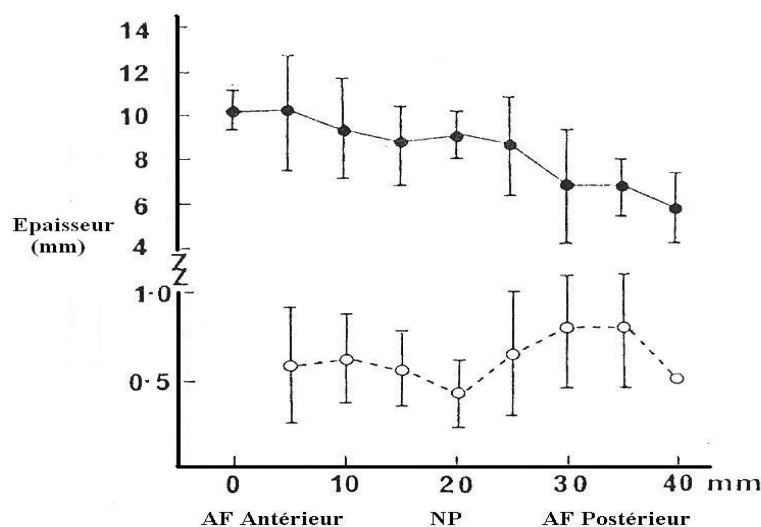
## 1.2. Le plateau vertébral

A l'interface du disque et du corps vertébral, on décrit les « plaques d'extrémité » ou plateaux vertébraux qui, plus qu'un simple tissu transitionnel entre vertèbre et disque, ont un rôle majeur dans la structure et la composition du disque, notamment en permettant le maintien du niveau d'hydratation du disque<sup>22</sup>. De plus, elles vont éviter la hernie du disque à l'intérieur du corps vertébral<sup>22</sup> en absorbant la pression développée d'un côté par le disque et de l'autre par la vertèbre lorsque le rachis est mis en charge<sup>45</sup>. Ses fonctions biologiques et

mécaniques sont sous-tendues par une architecture complexe qui, comme celles du disque, évoluent avec sa maturation et son vieillissement.

### 1.2.1. Structure et composition :

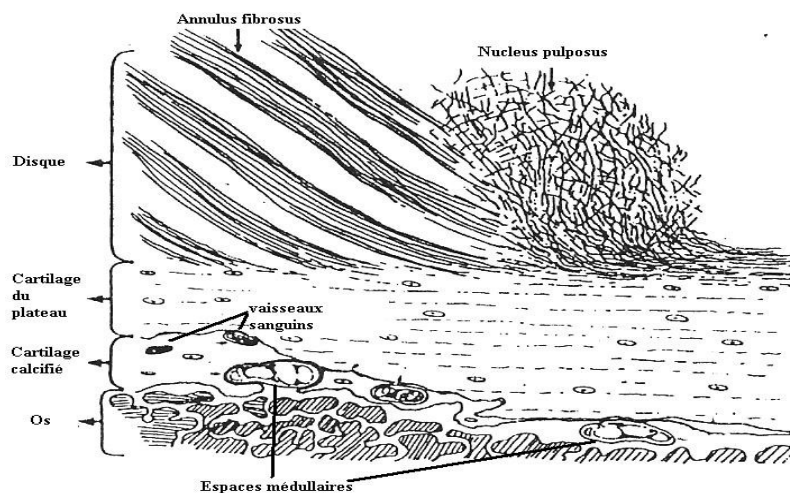
Le plateau vertébral est constitué d'une fine couche de cartilage hyalin associée à une épaisseur d'os sous-chondral. Son épaisseur est variable<sup>30,45,58,59</sup>; en moyenne de 0,60 mm chez l'homme, elle est d'environ 1 mm en périphérie en regard de l'AF et elle diminue en regard du NP (Fig. 4). Ceci est à l'origine d'une dépression du cartilage décrite par Schmorl<sup>22</sup> comme étant une zone particulièrement fragile, siège fréquent de hernies discales lors de rupture de l'AF. Il n'y a pas de différence significative d'épaisseur du cartilage entre le plateau crânial et caudal sauf chez le sujet jeune où le plateau crânial semble plus épais<sup>58</sup>.



**Fig. 4 :** Comparaison des épaisseurs du plateau vertébral(o--o) et du disque inter-vertébral(●--●) chez l'homme (d'après Roberts et coll.)<sup>58</sup>

Le cartilage de plateau vertébral (CPV) est constitué de fibres de collagène parallèles entre elles qui cheminent à partir du disque, alors qu'entre le CPV et l'os vertébral, elles sont nettement séparées. Ainsi, autant on peut décrire des connexions directes entre CPV et disque, autant le CPV et l'os du corps vertébral sont complètement séparés<sup>45</sup>. Au niveau de la périphérie du disque, il y a présence d'une couche de cartilage calcifié entre os vertébral et disque. Dans la région du NP, cette couche de cartilage calcifié est très mince voire indiscernable (Fig. 5).

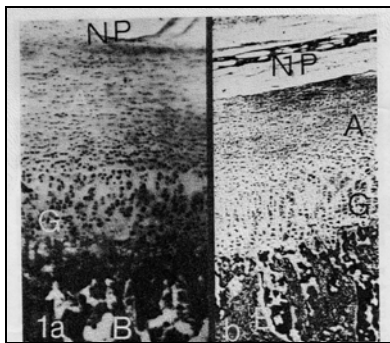
**Fig. 5 :** Histologie de l'interface plateau vertébral / disque:  
(d'après Roberts et coll.)<sup>58</sup>



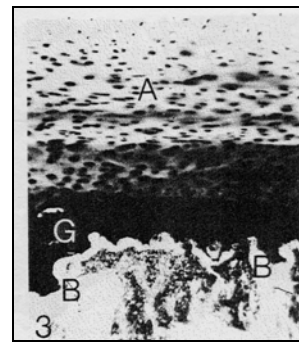
Les cellules, majoritairement des chondrocytes, sont distribuées de manière homogène dans l'épaisseur de CPV, mais sans organisation en strates comme on peut le voir au niveau du cartilage articulaire<sup>45</sup>. La densité cellulaire est plus importante en regard du NP qu'en regard de l'AF<sup>10</sup>. L'aspect est identique entre le plateau crânial et caudal<sup>45</sup>.

L'aspect histologique évolue avec l'âge. Des études sur des rachis de cadavres humains frais d'âge différents<sup>10,22</sup> ont montré des modifications locales importantes. Chez le nouveau-né, on retrouve une couche interne correspondant à une zone de croissance et une couche externe articulaire bordant le disque intervertébral (Fig. 6a). Le cartilage de croissance est caractérisé par des colonnes parallèles de cellules hypertrophiques et prolifératives. Le

cartilage articulaire externe est composé de chondrocytes fusiformes dispersés dans la matrice. Chez des individus de 10 à 15 ans (Fig. 6b), on assiste à une diminution de la zone de croissance avec diminution du nombre de cellules qui prennent une disposition irrégulière. Chez les individus entre 17 et 20 ans : la zone de croissance disparaît progressivement tandis qu'il apparaît une séparation entre le cartilage du plateau vertébral (CPV) et le reste de l'os. Assez tôt durant la vie adulte de fines fibres de collagène se développent à partir du CPV pour se fondre dans la matrice extra-cellulaire du disque et du NP. Ces fibres sont indépendantes des fibres d'ancrage de l'AF et permettent de stabiliser le disque. L'épaisseur du CPV diminue avec l'âge et subit des phénomènes de résorption tandis qu'il est remplacé par du tissu osseux<sup>45</sup> (Fig. 6c et 6d). Au début, le plateau vertébral est constitué d'une couche aplatie de cartilage hyalin ; progressivement apparaissent des protrusions d'os sous-chondral d'abord isolées puis plus nombreuses à l'origine d'une couche ondulée continue. In fine, se forme une couche d'os sclérotique<sup>4</sup> (Fig. 7). La densité minérale au niveau du plateau vertébral augmente donc avec l'âge<sup>26</sup>, et plusieurs études suggèrent une corrélation positive avec la dégénérescence discale<sup>4,10,26,52,57-59,69</sup>.



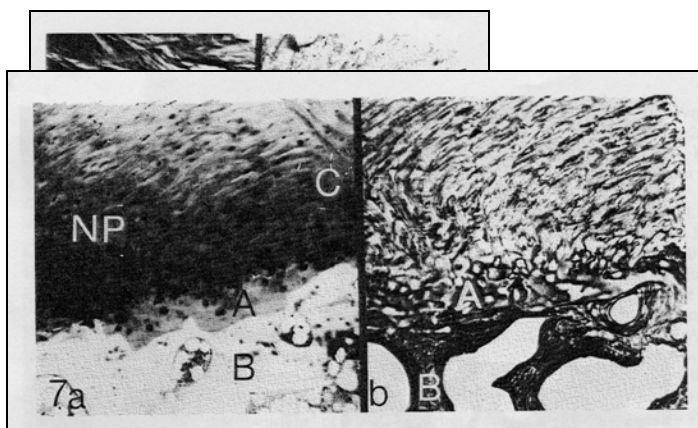
**Fig. 6a** : nouveau-né



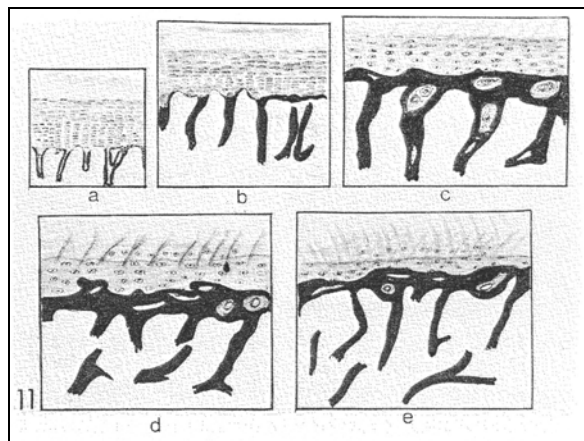
**Fig. 6b** : 15 ans

**Fig. 6 :** Evolution de la structure du plateau vertébral avec l'âge : **6a** : nouveau-né, **6b** : 15 ans, **6c** : 35 ans, **6d** : 65 ans (Grossissement x 50) (d'après Bernick et Cailliet)<sup>1,10,42</sup>

**A** = cartilage hyalin (CPV), **B** = os sous-chondral, **NP** = nucleus pulposus, **C** = Annulus fibrosus. Les tissus ont été colorés à la réaction de PAS sur les photos **1a, 3, 4a et 7a** et au nitrate d'argent sur les photos **1b, 4b et 7b**.



*Fig. 6d : 65 ans*



**Fig. 7 : Minéralisation progressive du plateau vertébral(d'après Bernick et Caillet) <sup>10</sup>**

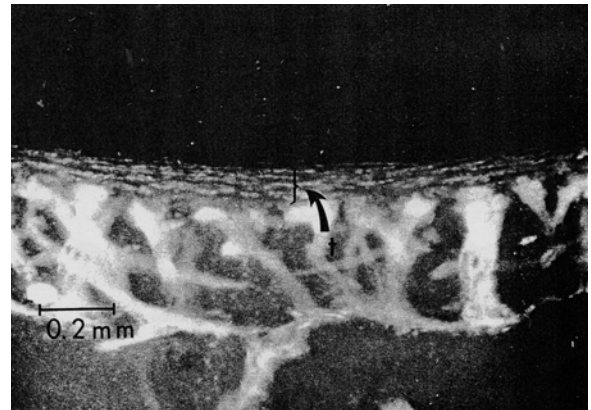
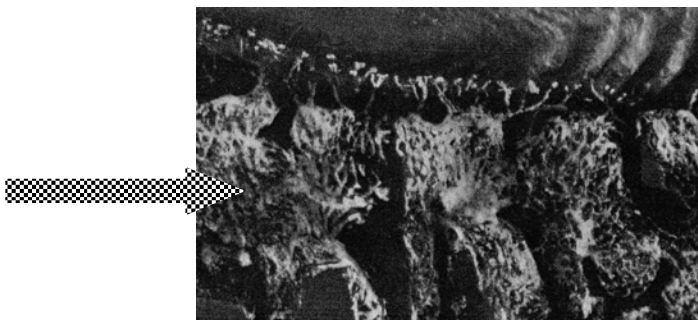
- **a** = Phase de croissance : cartilage de croissance actif représenté par des colonnes régulières de chondrocytes.
- **b** = Phase de maturation : diminution du nombre de chondrocytes actifs
- **c** = Disparition totale du cartilage de croissance
- **d et e** = calcification progressive du cartilage hyalin

Le cartilage des plateaux vertébraux (CPV) et le cartilage articulaire ont la même constitution. Il n'y a pas de différence significative entre les plateaux crâniens et caudaux ni entre les différentes vertèbres de L1 à S1<sup>57</sup>. La matrice du CPV est composée d'un gel de protéoglycanes (Pg) hydraté, renforcé d'un réseau de fibres de collagène<sup>45</sup> et associé à d'autres substances inorganiques et organiques. Les Pg au niveau du CPV, du NP, de l'AF et du cartilage articulaire ont la même structure de base et une composition chimique semblable. Les fibres de collagène ont un diamètre de 300 à 800 Å avec des lacunes encore plus grandes ; c'est le gel eau-Pg avec des pores très petits de 20 à 50 Å qui gouverne la porosité du milieu. Les molécules de Pg sont chargées négativement, ce qui confère une charge nette négative responsable des équilibres ioniques entre le cartilage et l'environnement et de la « pression de gonflement » du cartilage<sup>43</sup>. Le contenu biochimique au niveau du CPV varie en fonction de la localisation<sup>58</sup>. On retrouve une diminution de son contenu en collagène et une augmentation de son contenu en Pg et en eau de la périphérie du plateau vers le centre en regard du NP, ainsi que verticalement, en se dirigeant de l'interface os-CPV vers l'interface CPV-disque.

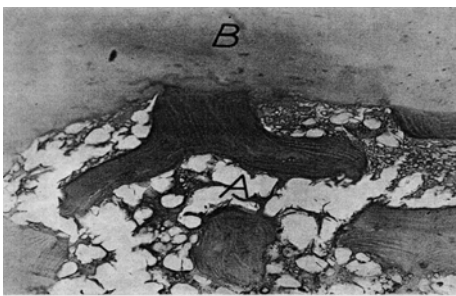
La composition biochimique du CPV est importante pour le maintien de l'intégrité du disque<sup>4,5,10,28,32,45,49,52,58,59,69</sup>, notamment les Pg<sup>32,49,58,59</sup> qui jouent un rôle important dans la régulation des échanges vers l'intérieur et l'extérieur du disque. Ainsi, quand la composition biochimique du CPV est modifiée, par exemple par perte de Pg, il en est de même pour le NP du disque intervertébral adjacent<sup>45</sup>.

### 1.2.2. Vascularisation :

Il existe un lit capillaire au niveau de l'interface os-CPV<sup>20</sup> ; les terminaisons capillaires sont discoïdes et sessiles comme les « tentacules d'une pieuvre » qui viennent au contact du cartilage (Fig. 8a et 8b). Ils s'écoulent soit dans des veinules post-capillaires cheminant parallèlement au CPV sous la forme d'un réseau veineux sous-chondral plexiforme, soit dans les espaces veineux de la moelle au niveau du corps vertébral. L'ensemble de ces veines se draine dans des sinus veineux longitudinaux à l'intérieur du canal vertébral.



**Fig. 8a et 8b :** Terminaisons capillaires au contact du CPV (flèche) (d'après Holm et coll.)<sup>28</sup>



**Fig. 9 :** Contact direct espace médullaire (A) – cartilage du plateau vertébral (B) (d'après Nachemson et coll.)<sup>47</sup>

De plus, on retrouve des zones de contact direct entre la moelle osseuse et le CPV<sup>20</sup> (Fig. 9) : ce sont des zones de diffusion, comme l'ont montré Ayotte et coll.<sup>8</sup> en utilisant un colorant. Ce dernier pénètre dans ces zones de contact pour ensuite diffuser à l'ensemble de l'épaisseur du cartilage<sup>8</sup>. Les terminaisons capillaires ainsi que les zones de contact direct sont plus nombreuses dans la région centrale du plateau (en regard du NP) qu'à la périphérie (en regard de l'AF)<sup>14,47,58,67</sup>. En périphérie, le réseau est moins riche voire inexistant par endroit avec des terminaisons moins nombreuses et plus grêles<sup>20</sup>. Oki et coll.<sup>50</sup> ont étudié la

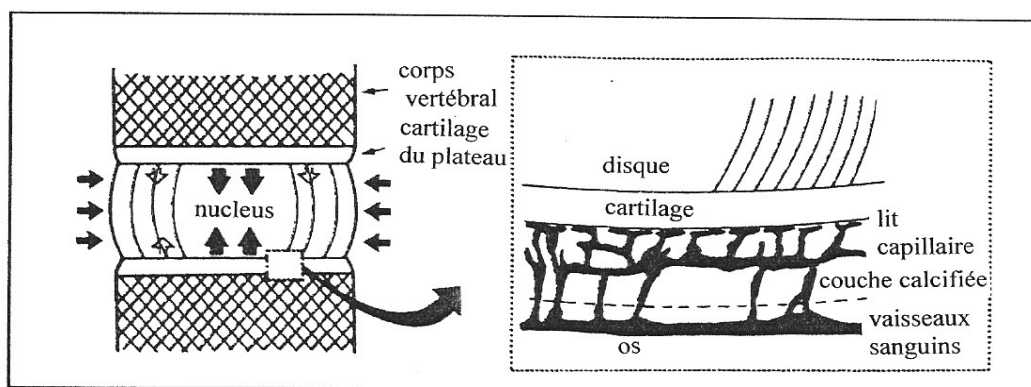


morphologie des bourgeons vasculaires en microscopie électronique au contact des plateaux vertébraux. Selon eux, le nombre de vaisseaux en regard du NP n'est pas plus important qu'en regard de l'AF interne, mais ils présentent plusieurs boucles (comme un ressort), alors qu'en regard de l'AF, ils ne font qu'une seule boucle offrant ainsi une surface d'échange moins importante.

La vascularisation au niveau des CPV évolue avec l'âge<sup>4,10,20,22,34,45,61</sup>. Au début, de fins vaisseaux pénètrent le cartilage pour sa nutrition, ainsi que celle du disque et du corps vertébral en plein développement. Ces vaisseaux persistent jusqu'à la maturité ; puis le disque devient avasculaire. Selon Rudert et Tillmann<sup>61</sup>, il semble que chez le fœtus et l'enfant jusqu'à l'âge de 7 ans, des vaisseaux pénètrent le CPV aussi bien en regard de l'AF que du NP, de façon à faire face aux besoins nutritifs importants durant le développement et la croissance du disque. Puis ces vaisseaux diminuent en nombre, principalement à la périphérie du disque. De plus, avec l'âge, il y a une obstruction progressive des vaisseaux sous-chondraux des plateaux vertébraux. Chez le jeune, ces canaux nourriciers et les espaces osseux sont remplis de moelle, de tissu fibreux lâche et d'éléments myéloïdes. Après 45 ans, ils sont progressivement obstrués par du collagène, du tissu fibreux et des calcifications. Ceci va avoir des effets délétères sur les échanges entre le sang et le disque<sup>45</sup> : diminution de la perméabilité aux nutriments, taux plus élevé de lactates (en rapport avec une diminution du métabolisme aérobie), une chute du pH. Ces effets délétères peuvent ainsi être à l'origine de perturbations métaboliques avec dégénérescence discale<sup>52</sup> du fait de la mort cellulaire et du relargage local d'enzymes de dégradation.

Le maintien des capacités mécaniques du disque repose donc sur l'intégrité de sa structure biochimique, notamment le contenu de sa matrice<sup>43</sup> en eau. Les voies par lesquelles l'eau est retenue dans le disque sont 1) la pression osmotique exercée par les molécules dissoutes au sein du disque et 2) la pression d'imbibition exercée par le gel de Pg. La teneur en eau au niveau des disques n'est pas uniforme, elle est de 60-75 % au niveau de l'AF et de 70-90% au niveau du NP chez l'homme jeune<sup>18,27</sup>. Par contre, elle diminue d'environ 10 % au niveau des disques dégénérés et ce d'autant plus que la dégénérescence est avancée. Cette diminution en eau affecte l'élasticité du disque et ses capacités à redistribuer efficacement aux vertèbres adjacentes les efforts qu'il subit<sup>18</sup>.

Malgré son caractère avasculaire et sa faible cellularité, le disque est un « organe vivant », siège d'un métabolisme actif. Il nécessite donc des échanges avec l'extérieur pour l'apport de nutriments et le rejet de déchets. Ces échanges vont se faire par deux grandes voies<sup>14,28,33,44,47,67,68</sup> : d'une part, grâce aux vaisseaux sanguins retrouvés en nombre important à la face externe de l'anneau<sup>44</sup> qui permettent la nutrition des cellules de la partie externe de l'AF<sup>69</sup> et d'autre part, grâce aux capillaires sanguins, sous la forme de bourgeons vasculaires au contact du CPV<sup>58</sup> assurant la nutrition des cellules de la partie interne de l'AF et du NP<sup>69</sup> (Fig. 10).



**Fig. 10 :** Les deux voies d'apport nutritives du disque (d'après Holm et coll.)<sup>28</sup>

### 1.3. La perméabilité des plateaux vertébraux

Les solutés dissous peuvent être transportés dans et à travers la matrice avasculaire du disque par un mécanisme passif de diffusion<sup>2,10,14,28,32,33,43-45,47-49,53,63,67,68</sup> en fonction des gradients de concentration des métabolites indépendamment d'échanges de liquide. Les corps dissous peuvent également être transportés au cours des échanges de fluides « pompés » à l'intérieur et à l'extérieur du disque lors des mouvements ou de la mise en charge du rachis. Ce mécanisme actif, appelé « bulk-flow » ou convection<sup>14,25,28,33,43-45,47,59,63,67,68</sup>, dépend des échanges de liquide. Une quantité faible est pompée pendant les changements physiologiques de charge au niveau des disques : chez l'homme, moins de 0,01 % de fluide du disque est échangé pendant un cycle de marche et on estime que 3 à 20 % du liquide total du disque est échangé durant la journée du fait de la « pression » sur le disque en position debout ou assise et de la « dépression » lors de la position allongée, qui crée un afflux de liquide<sup>14,25,67</sup>. On

décrit ainsi de petits échanges oscillatoires au cours des mouvements et de la marche qui se surajoutent aux échanges plus importants au cours de la journée. Fergusson et coll.<sup>25</sup> ainsi que Sélard et coll.<sup>63</sup> ont étudié l'influence des modifications de la perméabilité du CPV et de l'AF. Ils ont pu montrer que des perturbations de cette perméabilité influaient sur les transports moléculaires aussi bien par diffusion que par convection et donc aussi sur la concentration en nutriments dans la matrice discale avec un risque pour le métabolisme cellulaire (défaut d'apport en nutriments). La mort cellulaire qui en résulte avec risque de dégénérescence discale peut retentir sur la fonction mécanique du disque<sup>63</sup>. Ce défaut d'apport peut provenir soit d'une diminution de la perméabilité du plateau vertébral (objet de cette étude), soit d'un défaut d'approvisionnement sanguin par hypo-concentration du métabolite ou par hypo-perfusion locale.

Il existe deux voies d'apports de nutriments pour le disque<sup>14,28,33,44,47,67,68</sup>. Ces deux voies n'ont pas une importance égale. La voie principale de nutrition du disque intervertébral se fait au travers du cartilage du plateau vertébral<sup>7,14,25,28,47,63,67</sup>. En effet, des études colorimétriques ont rapporté une diffusion prédominant en regard des CPV par rapport à l'AF<sup>7</sup>. Fergusson et coll.<sup>25</sup> ont montré que, si on réduit la perméabilité du CPV à 0, on constate une diminution de fuite de liquide de 40 à 54 % par rapport à une perméabilité normale ; alors qu'une perméabilité nulle en périphérie de l'AF ne réduit ces pertes que de 13 à 20 %. Sélard et coll. en 2003<sup>63</sup>, ont développé un modèle en éléments finis de la diffusion de trois nutriments (oxygène, glucose et lactate) à l'intérieur du disque intervertébral humain en tenant compte de sa structure hétérogène et de sa géométrie complexe. Ils ont pu montrer grâce à ce modèle que la concentration en corps dissous du NP est surtout sensible aux conditions aux limites au niveau du CPV et très peu à celles au niveau de l'AF. C'est donc la perméabilité du CPV qui joue un rôle nutritionnel primordial<sup>58</sup> en autorisant les échanges entre les vaisseaux sanguins et les cellules discales concernant les synthèses et entre la matrice discale et les vaisseaux sanguins concernant les déchets du métabolisme discal<sup>59</sup>. Le transport de ces molécules dépend de nombreux facteurs : les vaisseaux<sup>10,20,32,36,47</sup> (nombre, surface de contact ...), les solutés<sup>2,32,42,44,49,53,63,67,68</sup> (poids, taille, forme, charge ...), mais surtout les propriétés du CPV<sup>4,5,10,28,32,45,49,52,58,59,69</sup> (minéralisation<sup>4,26,52</sup>, composition en Pg<sup>32,49,58,59</sup> qui contrôle la répartition des charges ...). La composition du CPV est variable en fonction de la région, centrale ou périphérique, et de la même façon, la perméabilité des plateaux vertébraux est hétérogène.

### 1.3.1. Analyse qualitative :

Nachemson et coll.<sup>47</sup>, (et avant lui Brodin<sup>14</sup>) ont étudié qualitativement la perméabilité des plateaux vertébraux grâce à l'utilisation de colorant. Leur portion centrale était perméable dans presque tous les cas, tandis que leur périphérie était imperméable. L'examen histologique de la partie latérale des plateaux vertébraux retrouvée imperméable a montré que le colorant était arrêté au niveau de la zone calcifiée du cartilage. Cette zone constitue un véritable blocage au colorant, comme il pourrait l'être aux autres molécules<sup>47,67</sup>. De plus, la perméabilité du CPV est à mettre en relation avec la présence de bourgeons vasculaires et de zones de contact direct<sup>20,33,44,47,58,59</sup>. Ces zones sont nombreuses dans la région centrale des plateaux en regard du NP et leur nombre diminue vers la périphérie en regard de l'AF interne pour devenir très faible au niveau de la partie la plus périphérique des plateaux<sup>14,47,58,67</sup>. Des auteurs<sup>20,44</sup> ont quantifié la surface de ces zones d'échanges : elles représentent 7 à 20 % de la surface des plateaux vertébraux. Ces zones ont une distribution hétérogène et tendent à être d'autant moins représentées que l'on s'éloigne du centre. Notre étude n'a pas pu confirmer ces résultats, de plus amples analyses histologiques sont nécessaires. De plus, dans la région centrale des plateaux vertébraux, l'épaisseur de cartilage calcifiée est fine (moins de 25µm sur 20 à 30% de la surface du cartilage central), ce qui représente une barrière peu importante. Maroudas et coll.<sup>44</sup> ont mesuré in vitro la perméabilité au glucose des plateaux vertébraux de L4-L5, en différents sites. Ils ont trouvé une différence significative de la perméabilité des plateaux entre leur partie centrale ( $0,58 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{sec}$ ) et la partie latérale ( $0,18 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{sec}$ ). Ainsi, en rapportant ces perméabilités mesurées à la perméabilité totale « potentielle » des plateaux (càd la perméabilité du cartilage hyalin profond seul), on trouve un coefficient de 36% pour la région centrale et 11% pour les régions latérales. Urban et coll.<sup>67</sup> estiment quant à eux que 85% de l'interface est perméable au niveau du NP, 35% en regard de l'AF interne alors que l'AF externe est pratiquement imperméable. Ces valeurs calculées sont corrélées avec leurs études anatomiques et les résultats histologiques. Il n'y a pas de différence de perméabilité entre les plateaux vertébraux supérieurs ou inférieurs. Ce sont surtout l'épaisseur de la couche de cartilage calcifié (qui apparaît comme imperméable)<sup>47</sup> ainsi que l'importance en nombre des vaisseaux et des contacts directs moelle-cartilage qui semblent gouverner la perméabilité du CPV<sup>63</sup>.

D'autres auteurs<sup>7,8</sup> ont, quant à eux, étudié l'influence de la direction du flux vis à vis de la résistance au fluide au niveau des plateaux vertébraux de moutons. En effet, la pression hydrostatique induite par les contraintes subies par le rachis au cours des activités quotidiennes sont de l'ordre de 0,6 à 1 MPa alors que la pression osmotique de gonflement du disque est environ 0,15-0,2 MPa. Au cours de la journée, le disque peut perdre jusqu'à 20 % de son volume<sup>8,12,41</sup>. Cette perte d'eau entraîne une augmentation de la pression osmotique de gonflement du disque. Durant les périodes de repos, cette pression osmotique rappelle l'eau à l'intérieur du disque qui se réhydrate, et la « pression de gonflement » diminue<sup>8</sup>. Alors que cette dernière est plus faible que la pression hydrostatique, et que la période de repos (environ 8 heures) est plus courte que les périodes d'activité (environ 16 heures), le disque retrouve une hydratation normale. Il semble donc qu'il existe une influence de la direction du flux sur les résistances à l'écoulement<sup>8</sup>. Ayotte et coll. ont ainsi pu montrer que la résistance à l'écoulement serait près de 40 fois supérieure dans le sens plateau vertébral - os (flow-out) que dans le sens os - plateau vertébral (flow-in).

Pour conclure, les échanges du plateau vertébral avec le disque intervertébral et avec l'os vertébral adjacents s'effectuent par des mécanismes passifs (diffusion) et actifs (convection). En outre, seule l'interface os – plateau vertébral est vascularisée, c'est pour cela que la majorité des études publiées ont mesuré la perméabilité des plateaux à ce niveau.

### 1.3.2. Analyse quantitative :

Les études concernant la diffusion au niveau des disques intervertébraux<sup>2,9,11,14,25,27,29,31-33,36,42,44,47-49,53,63,67,68</sup>, du cartilage articulaire<sup>37,42,43,71,74</sup> ou des plateaux<sup>1,7,8,59</sup> sont nombreuses. Il peut s'agir de méthodes semi qualitatives grâce à des reconstructions IRM associées à l'injection de produits de contraste<sup>2,32,36,48,49,53</sup>, ou l'utilisation de colorant<sup>14,47</sup>, ou bien de méthodes semi quantitatives après injection de solutés marqués<sup>33,59,67-69</sup>. Ces méthodes, si elle peuvent apporter des données intéressantes, ne permettent pas d'approcher quantitativement la perméabilité du disque et des plateaux ; seules des études expérimentales<sup>1,8,9,11,27,29,31,37,42</sup> peuvent le permettre. Du fait des difficultés de disposer de modèles humains<sup>2,10,27,31,36,44,47,48,57,69,74</sup>, on s'oriente de plus en plus vers des modèles animaux. Ainsi ces études ont pu être menées sur des chiens<sup>11,29,42,49,67,68,71</sup>, des lapins<sup>14,32,33,44,52,53</sup>, des rats<sup>26,39</sup>, des vaches<sup>42,70</sup>, des singes (babouins)<sup>64</sup>, des porcs<sup>1,9</sup> ou encore des moutons<sup>18,73</sup>.

Gu et coll. (1999)<sup>27</sup> ont mesuré la perméabilité du disque intervertébral, dans différentes directions (axiale, circulaire et radiale) et en fonction de la dégénérescence du disque, sur des rachis lombaires de cadavres humains avec comme témoin la mesure au niveau du cartilage articulaire de bovin (où  $k = 1,40 \pm 0,13 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ ). Cette valeur est en accord avec celle trouvée par Mansour et coll.<sup>42</sup>, ce qui tend à prouver que leur dispositif de mesure directe est fiable. Ils ont ainsi pu trouver une perméabilité axiale de  $1,53$  à  $1,64 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ , une perméabilité radiale de  $1,67$  à  $1,92 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  et une perméabilité circulaire de  $1,15$  à  $1,62 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ . Best et coll.<sup>11</sup>, puis Houben et coll.<sup>29</sup> et enfin Iatridis et coll.<sup>31</sup>, ont calculé par une méthode indirecte sur des tests en compression confinée, la perméabilité radiale de l'AF du disque intervertébral humain<sup>11,31</sup> ou canin<sup>29</sup> et ont recherché son caractère anisotrope. Les valeurs retrouvées au cours de ces trois études sont très proches les unes des autres : de  $0,1$  à  $0,4 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ <sup>29</sup>, de  $0,15$  à  $0,3 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ <sup>11</sup>, de  $1$  à  $2,3 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ <sup>31</sup> (Tableau I). Houben et coll.<sup>29</sup> avait eux aussi montré, par la même méthode de calcul, que la perméabilité axiale (surface de l'échantillon perpendiculaire à l'axe du rachis) ( $0,32 \pm 0,15 \cdot 10^{-16} \text{ m}^4/\text{N.s}$ ) était plus importante que la perméabilité radiale (surface de l'échantillon parallèle à l'axe du rachis) ( $18 \pm 5 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ ). Ces études confirment le caractère anisotrope de l'AF avec une perméabilité radiale qui décroît du centre vers la périphérie<sup>29</sup>.

Néanmoins pour Iatridis<sup>31</sup> et Ateshian<sup>6</sup>, il semble que de telles mesures ne soient pas très « précises » et que l'on doit leur préférer des mesures « directes » comme le permet la manipulation de Gu et coll<sup>27</sup>.

*Remarque:* les notions de mesures directes et indirectes seront abordées dans le chapitre 1-4-3.

Etude	Best et coll. (1994)* <sup>11</sup>		Houben et coll. (1995)* <sup>29</sup>		Houben et coll (1997)* <sup>29</sup>		Gu et coll. (1997) <sup>27</sup>			Iatridis et coll. <sup>31</sup> (1998)*
Espèce étudiée	Homme (AF)		Chien (AF)		Chien (AF)		Homme (AF)			Homme (AF)
$k_0$ ( $\times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ )	0,26 (ant.)	0,23 (post.)	0,18 (rad.)	0,32 (axial)	0,10 (ext.)	0,28 (int.)	1,92 (rad.)	1,53 (axial)	1,14 (circ.)	0,18
Ecart-type : $\pm$	$\pm 0,12$	$\pm 0,09$	$\pm 0,05$	$\pm 0,15$	$\pm 0,05$	$\pm 0,09$	$\pm 0,04$	$\pm 0,05$	$\pm 0,05$	$\pm 0,07$

**Tableau I : Mesures de la perméabilité discale  $k_0$  :** \* : Mesure indirecte, ° : Mesure directe  
 AF = Annulus Fibrosus, ant = perméabilité antérieure, post = perméabilité postérieure, rad = perméabilité radiale, axial = perméabilité axiale, ext = perméabilité de l'AF externe, int = perméabilité de l'AF interne, circ = perméabilité circulaire.

Le tableau 1 montre que les valeurs numériques de la perméabilité de l'AF trouvées dans la littérature varient avec un facteur 10. Ces différences sont imputables aux différences d'espèces, au sens du flux pris en compte et surtout aux différentes méthodes de mesures

employées. En effet, les perméabilités étant de l'ordre de  $10^{-15}$  m<sup>4</sup>/N.s, il est difficile de comparer les résultats obtenus avec différents types d'appareils de mesure, de précision variable.

### 1.3.3. Comparaison avec le cartilage articulaire :

Nous manquons de valeurs de référence, et comme la structure des CPV se rapproche du cartilage articulaire, on se réfère souvent aux valeurs de perméabilités le concernant (Tableau II). Mc Cutchen en 1962<sup>37,43</sup>, fut le premier à déterminer la perméabilité du cartilage articulaire (de bovins), en exerçant une pression d'une atmosphère : il a montré que cette perméabilité variait en fonction de la profondeur du cartilage prélevé. Il a pu trouver une perméabilité  $k$  égale à  $0,58.10^{-15}$  m<sup>4</sup>/Ns. Pour le cartilage d'épaule de bœuf, pour les couches superficielles, elle est de  $0,76.10^{-15}$  m<sup>4</sup>/N.s et pour les couches les plus profondes, elle est de  $0,43.10^{-15}$  m<sup>4</sup>/N.s. Ces valeurs indiquent une grande résistance à l'écoulement des fluides. Puis, Edwards en 1967<sup>42</sup> a déterminé la perméabilité du cartilage articulaire au niveau des hanches de chien en exerçant une différence de pression de 0,48 MPa. Il a ainsi pu montrer que le cartilage était plus perméable à la solution de lactate de Ringer qu'au sérum salé physiologique. En 1968, Maroudas et Bullough confirment la variation de la perméabilité du cartilage articulaire avec la profondeur. Ils exerçaient une pression de une atmosphère. La perméabilité du cartilage décroît en profondeur alors que, de façon inverse, la densité de charges de la matrice cartilagineuse et le nombre de fibres de collagène augmentent dans les couches profondes du cartilage articulaire. Ils ont prouvé par ailleurs que la congélation n'affectait pas les résultats des mesures de perméabilité. Mansour et coll (1976)<sup>42</sup>, ont mesuré la perméabilité du cartilage articulaire de vache en appliquant des différences de pressions variables : de 0,14 à 2,76 MPa, en utilisant une solution de lactate de Ringer à température ambiante. Ils ont trouvé alors une perméabilité allant de 0,3 à  $3,3.10^{-15}$  m<sup>4</sup>/N.s. La perméabilité du cartilage articulaire bovin diminue avec l'augmentation de la contrainte compressive. Ceci provient du fait que, lorsque le cartilage est mis sous pression, le réseau de fibres de collagène et de Pg de la matrice cartilagineuse, initialement lâche avec de nombreux espaces entre les molécules, devient plus compact, avec des molécules tassées et une densité de charges (due aux Pg) augmentées et donc plus résistantes à l'écoulement de fluide interstitiel et moins perméable<sup>37,42,43</sup>. Ces observations sont confirmées par Mow et Lai en 1980<sup>37</sup> qui ont mesuré expérimentalement la perméabilité du cartilage articulaire entre 0,36 et  $1,10.10^{-15}$  m<sup>4</sup>/N.s pour

des pressions exercées de 0,072 à 1,033 MPa.

Dans les années 1990, Wayne et coll.<sup>71</sup>, ont étudié la perméabilité d'échantillons ostéochondraux provenant de plateaux tibiaux de chiens à l'état frais et après conservation à + 4°C dans un milieu de culture. Ils ont trouvé des valeurs comparables à celles des autres auteurs autour de 9 à  $10 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ . Puis, Ateshian et coll., en 1997 retrouvent sur des bovins des valeurs de l'ordre de 2,2 à 2,7.  $10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ . Buschman et coll., en 1998<sup>16</sup>, ont pu calculer, par une méthode en compression confinée, la perméabilité du cartilage articulaire d'épaules de vaches et ont trouvé des valeurs de l'ordre de 10 à  $40 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ .

En 1999, Li et coll.<sup>38</sup> ont déterminé la perméabilité d'échantillons de cartilage par un test de compression non confinée. Les valeurs retrouvées sont du même ordre de grandeur: 1,6 à  $5,4 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ . Chen et coll.<sup>17</sup> ont montré une variation de la perméabilité en fonction de l'épaisseur au niveau d'échantillon de cartilage de bœuf : elle diminue de la superficie ( $4,6 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ ) à la profondeur ( $0,5 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ ). En supposant l'échantillon comme un milieu homogène, la perméabilité était égale à  $7,5 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ . Ils utilisent quant à eux un dispositif de compression confinée. Enfin, Williams et coll. en 2003<sup>74</sup> ont mesuré la perméabilité du cartilage articulaire de condyles fémoraux humains lors d'une étude sur la congélation des échantillons ostéo-chondraux et ont trouvé des valeurs allant de 0,1 à  $0,6 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ .

Etude	Espèce étudiée	$k_0$ ( $\times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ )	Ecart-type
Mc Cutchen <sup>43</sup>	bovin	0,4 – 0,7	-
Mansour <sup>42</sup>	bovin	0,3 – 3,3	-
Mow <sup>46</sup>	homme	0,3 – 1,1	-
Wayne <sup>71</sup>	chien	10,1	$\pm 0,7$
Ateshian <sup>6</sup>	bovin	2,2 – 2,7	-
Buschman <sup>16</sup>	bovin	10,0 – 40,0	-
Li <sup>38</sup>	?	1,6 – 5,4	-
Chen <sup>17</sup>	bovin	0,5 – 7,5	-
Williams <sup>74</sup>	homme	0,1	$\pm 0,1$

**Tableau II :** Valeurs de la perméabilité du cartilage articulaire

Le tableau II montre de grandes variations d'une étude à l'autre : elles sont imputables aux différentes méthodes de mesures utilisées. Ainsi, il est difficile de connaître la valeur exacte de la perméabilité du cartilage articulaire.



Par contre, on peut constater que les perméabilités du cartilage articulaire et du cartilage des plateaux vertébraux ont des valeurs du même ordre de grandeur. Il est difficile de les comparer de façon brute étant donné les différences de structure, de composition et de propriétés mécaniques des deux types de cartilage.

Les valeurs de perméabilité de la littérature sont à utiliser avec d'autant plus de précaution que certains auteurs comme Setton et coll.<sup>64</sup> ont montré, à l'inverse, des différences nettes de perméabilité entre le cartilage des plateaux vertébraux et le cartilage articulaire.

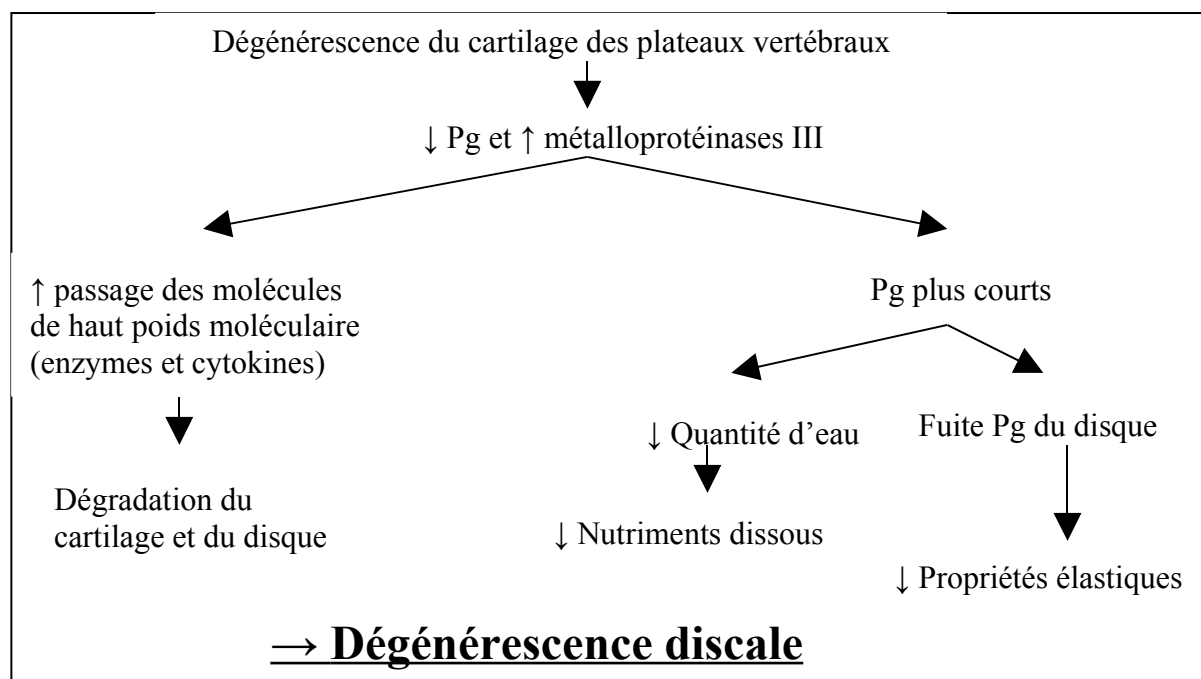
### **1.3.4. Evolution avec l'âge :**

Nachemson et coll. en 1970<sup>47</sup>, ont étudié par une étude qualitative colorimétrique la perméabilité du plateau vertébral. Ils ont pu montrer que la perméabilité de la partie centrale des plateaux diminuait avec l'âge croissant des spécimens. Il existe donc une corrélation significative entre la dégénérescence macroscopique et l'imperméabilité de la partie centrale des plateaux. Par contre, aucune corrélation n'a été mise en évidence avec la partie latérale des plateaux. Cette étude réaffirme la prépondérance de la région centrale en terme de perméabilité.

Cette voie nutritive au travers du cartilage des plateaux vertébraux (CPV) est précaire<sup>63,69</sup> et peut être l'objet de perturbations en rapport avec des modifications histologiques au niveau de leurs différentes couches et des vaisseaux à leur contact, avec l'âge ou au cours de certaines pathologies. Cette modification de la perméabilité est donc soutenue par des modifications locales que l'on peut regrouper sous le terme de « dégénérescence des CPV ». Cette dernière se caractérise par des remaniements mécaniques, biochimiques et histologiques du disque et des plateaux en regard.

Au niveau biochimique (Fig. 11), les remaniements du disque et du cartilage des plateaux vertébraux<sup>58</sup> se caractérisent par une diminution des protéoglycanes (Pg) agrégés<sup>19,58</sup> et une augmentation de la métalloprotéinase de type 3 qui va cliver l'acide hyaluronique du reste du Pg. Ces phénomènes sont également observés lors de lésions d'arthrose du cartilage articulaire. La diffusion de produits de contraste chargés négativement est moins importante et plus lente au niveau des disques matures par rapport aux disques immatures<sup>32,49</sup>; ceci provient de la quantité de collagène et/ou de la quantité de charges négatives au sein de la matrice. La dégradation du CPV étant associée à une diminution de son contenu en Pg, cela induit une augmentation de sa perméabilité à des molécules plus grosses telles que des

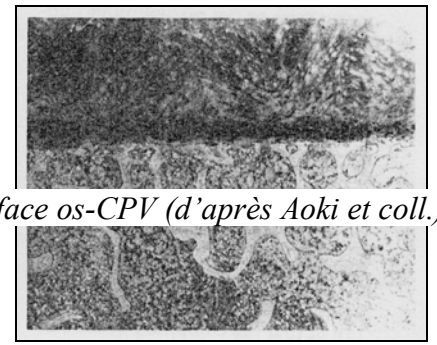
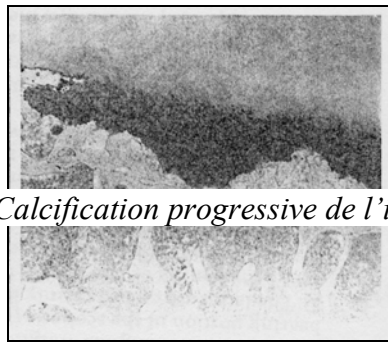
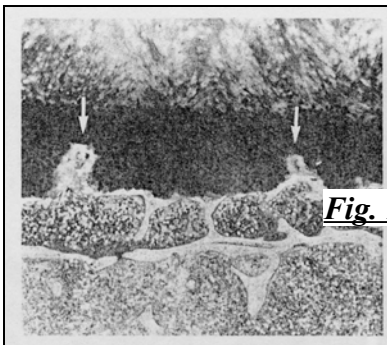
cytokines et autres enzymes ayant des effets délétères sur l'activité des cellules discales<sup>59</sup>. De plus, avec l'âge, les Pg deviennent plus courts, ils peuvent alors « s'échapper » du disque si des pores existent au niveau du cartilage des plateaux, ce qui va diminuer les propriétés hydrostatiques du disque. Au total, quand la quantité en Pg du CPV diminue, il se produit une fuite des Pg du NP et une chute de son hydratation avec perturbations de ses qualités mécaniques.



**Fig. 11 :** Evènements biochimiques de la dégénérescence des CPV

En terme histologique, les cartilages des plateaux vertébraux (CPV) sont le siège de remaniements majeurs avec l'âge<sup>22</sup>. On a vu que la diminution de son épaisseur s'accompagnait de l'apparition d'une couche calcifiée d'abord discontinue puis continue qui constitue une véritable barrière à la diffusion<sup>47</sup> (Fig. 12a, 12b et 12c). Bernick et coll. (1980) puis Bernick et Cailliet<sup>10</sup> ont montré une minéralisation progressive à partir de l'âge adulte chez l'homme (entre 20 et 40 ans) au niveau du CPV. Chez les individus plus âgés, il y a un remplacement de ce cartilage calcifié par de l'os ; à partir de 60 ans, seule une fine couche de cartilage sépare l'os vertébral du disque. Cette calcification progressive va interférer sur la diffusion des éléments nutritifs au travers du CPV, avec une diminution de la perméabilité du plateau chez les sujets âgés<sup>10,44,47,59</sup>. Les contacts entre les vaisseaux sanguins et le CPV sont plus importants au niveau des disques immatures<sup>32</sup> ; les CPV jeunes sont plus perméables<sup>32</sup>. En effet, avant la maturité osseuse, des vaisseaux sont directement en contact avec le cartilage et permettent la diffusion facile des nutriments vers le disque, tandis qu'avec l'âge et le

remplacement progressif du cartilage par de l'os, ce dernier s'insinue entre les vaisseaux et le cartilage rendant la diffusion plus difficile<sup>10</sup>. Il existe aussi des modifications des parois des vaisseaux qui s'épaississent tandis que les espaces osseux s'oblitérent avec du tissu fibreux parfois calcifié<sup>10</sup>. En plus de la minéralisation physiologique du CPV, des calcifications peuvent apparaître au cours de certains états pathologiques tels que les scolioses. Ces calcifications modifient la diffusion des solutés<sup>10,47,59</sup>, et ainsi peuvent favoriser la dégénérescence discale.



**Fig. 12** : Calcification progressive de l'interface os-CPV (d'après Aoki et coll.)<sup>4</sup>

**Fig. 12a** : Interdigitation osseuse au sein du cartilage (flèches)

**Fig. 12c** : Couche continue d'os à l'interface du CPV

**Fig. 12c** : Couche continue d'os à l'interface du CPV

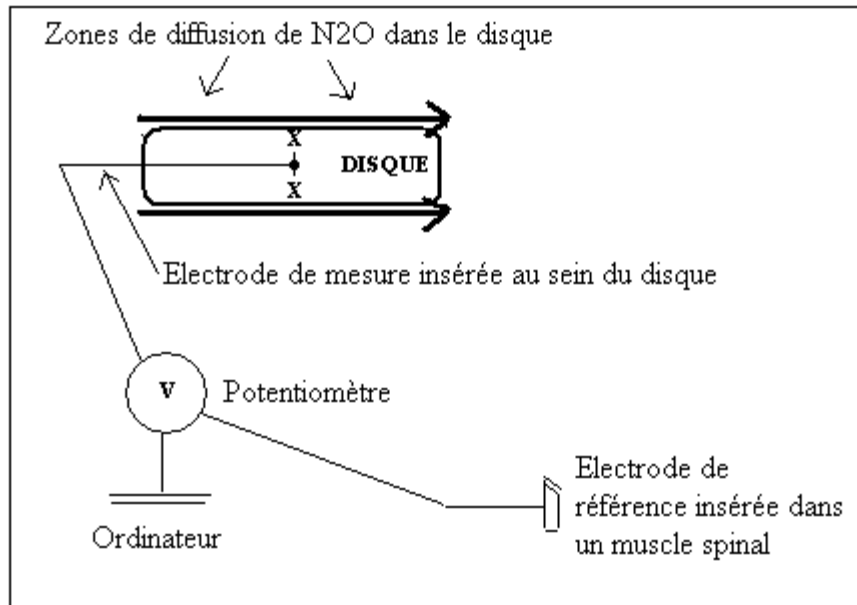
**Fig. 12c** : Couche continue d'os à l'interface du CPV

En 1969, Nachemson<sup>47</sup> fut l'un des premiers à faire le **Fig. 12c** : Couche continue d'os à l'interface du CPV

au de disques lombaires opérés chez l'homme. Une diminution marquée du pH a été observée au niveau de certains disques, notamment ceux qui présentaient des signes dégénératifs sur les radiographies. Cette augmentation de concentration en ion hydrogène provient d'une accumulation d'acide lactique, produit du métabolisme intermédiaire des hydrates de carbone dans des conditions anaérobies. Ainsi, cette diminution de pH signe une altération de l'oxygénation au niveau du disque et par conséquent une altération de la diffusion discale. Nachemson<sup>2</sup>, en étudiant la perméabilité discale, retrouve une corrélation significative entre dégénérescence discale au centre des plateaux vertébraux et diminution de la diffusion, mais sans affirmer lequel est la cause et lequel est la conséquence, même si pour lui, il semble que ce soit l'imperméabilité qui soit à l'origine de la dégradation du disque, mais pas de façon isolée car d'autres facteurs interviennent étant donné que des disques dégénérés peuvent encore être perméables.

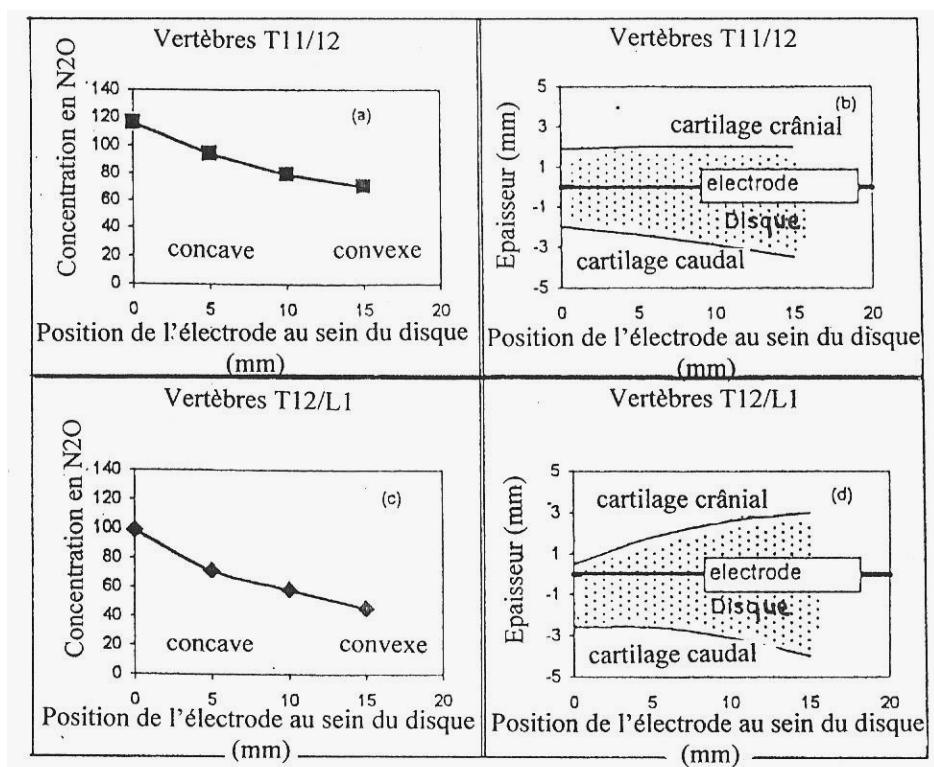
Ainsi, on peut dire que l'intégrité du cartilage du plateau vertébral est le « garant de la santé » du disque<sup>58</sup> et que des lésions au niveau de ce cartilage risquent d'induire des désordres métaboliques discaux. De telles modifications histologiques se produisent au cours de la maturation physiologique des plateaux vertébraux, de même qu'au cours des phénomènes pathologiques comme le montrent les remaniements radiologiques observés de

part et d'autre des disques au cours des scolioses. Par exemple, Urban et coll. (2001)<sup>69</sup>, ont mesuré en per-opérateur chez des patients scoliotiques par une méthode électrochimique la diffusion du  $N_2O$  au niveau du disque intervertébral, dans la concavité et la convexité de la courbure de la scoliose. Ils ont ensuite calculé la perméabilité du cartilage du plateau vertébral à partir de la mesure de la concentration du  $N_2O$  dans le disque et dans le sang (Fig. 13).

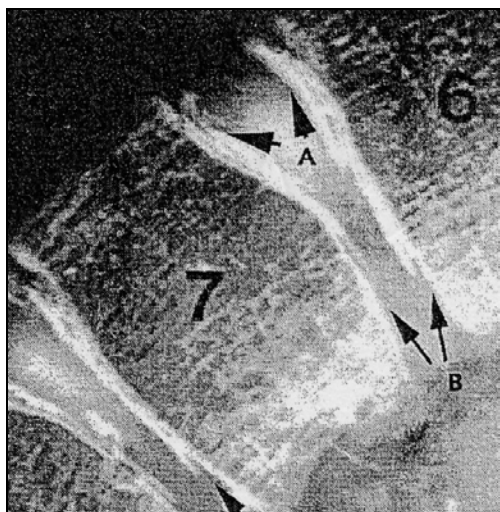


**Fig. 13:** Dispositif de mesure du  $N_2O$  (d'après Urban et coll.)<sup>69</sup>

Ils ont montré que la diffusion du  $N_2O$  connaissait un minimum au niveau du disque correspondant à l'apex de la courbure (quel que soit le niveau du disque concerné) et augmentait pour les disques les plus éloignés (Fig. 14). De plus, ils ont montré que la diffusion du  $N_2O$  était plus faible dans le disque en regard de la convexité de la scoliose par rapport à sa concavité. Ceci a été mis en rapport avec l'existence de calcification et d'un épaissement de l'os sous-chondral au niveau de la convexité au cours des scolioses, qui peuvent ainsi être le facteur prédominant de la diminution de la perméabilité du disque et donc du transport de nutriments (Fig. 15).



**Fig. 14** : a et c = Profil des concentration en N<sub>2</sub>O discale en fonction de la position de l'électrode au sein du disque (d'après Urban et coll.)<sup>69</sup>  
 b et d = épaisseur du disque (en pointillés) en regard de l'électrode.



**Fig. 15** : Radiographie des vertèbres L6-L7 d'un enfant scoliotique : la calcification du cartilage est plus importante au niveau de la convexité de la scoliose -flèches en A- qu'au niveau de la concavité -flèches en B- (d'après Urban et coll.)<sup>69</sup>

Les troubles de la composition du cartilage des plateaux vertébraux (CPV) durant la croissance ont été incriminés dans le développement de pathologies rachidiennes, notamment dans le cas de scolioses<sup>45</sup>. Urban et coll.<sup>69</sup> ont montré dans une première étude une variation de la composition du disque intervertébral dans les scolioses, et dans une autre<sup>70</sup> qu'il existait

des remaniements des CPV prédominant à l'apex de la courbure et l'ont relié à une modification de leur perméabilité.

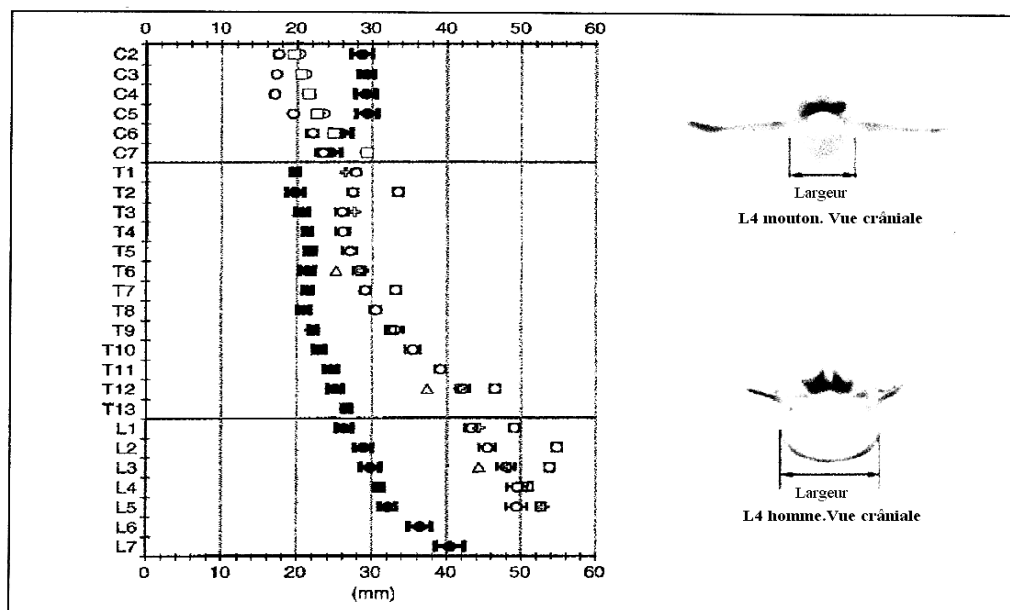
En conclusion, on comprend l'importance de l'apport de molécules d'eau et de solutés à partir des vaisseaux sanguins notamment à travers les plateaux vertébraux et donc l'intérêt de mesurer la perméabilité au niveau des CPV. Son caractère hétérogène, l'influence de la direction du flux, les modifications histologiques et leurs évolutions au cours de la croissance sont des points qu'il est nécessaire d'étudier pour comprendre le comportement biomécanique du disque.

## **1.4. Pré-Requis Expérimentaux**

### **1.4.1. Le Choix d'un modèle animal :**

Afin de mettre au point des modèles fiables, il est nécessaire d'obtenir par l'expérimentation les valeurs les plus précises et les plus reproductibles possibles. Ceci n'est réalisable que par l'utilisation d'un grand nombre d'échantillons afin de s'affranchir de la dispersion des mesures due à la grande variabilité biologique<sup>73</sup>. Ainsi, comme les disques humains sont peu disponibles, des animaux aussi variés que le lapin, le mouton et la chèvre, le porc, la vache ou le chien ont été étudiés. De telles espèces sont plus facilement disponibles, et permettent d'obtenir une population homogène en terme de race, d'âge, de sexe, et de paramètres biométriques (taille et poids) à la différence de ce que l'on pourrait obtenir chez l'homme.

Les disques ovins (et caprins) sont de plus en plus employés comme modèle de disques humains<sup>18,56,72,73</sup>, aussi bien pour des études in vivo que in vitro, et ce, en dépit de différences anatomiques et morphométriques<sup>18</sup>. Wilke et coll.<sup>73</sup> ont comparé l'anatomie du rachis ovin à celle du rachis humain (Fig. 16). Leur étude leur a permis de conclure qu'il existe des similarités importantes entre les deux espèces en ce qui concerne les principales dimensions des vertèbres à l'exception des vertèbres thoraciques beaucoup plus petites chez les ovins, et des disques intervertébraux plus de deux fois moins hauts (6 mm contre 15 mm). Les similitudes anatomiques prédominent au niveau du rachis lombaire<sup>73</sup>. Ce sont donc les vertèbres lombaires que nous utiliserons pour notre étude.



● Wilke et coll., 1996, mouton	○ Panjabi et coll., 1991, homme
⊙ Tominaga et coll., 1995, homme	△ Cotterill et coll., 1986, homme
⊕ Scoles et coll., 1988, homme	□ Francis et coll., 1955, homme
◻ Berry et coll., homme	

**Fig. 16 :** Similitudes anatomiques entre rachis ovin et humain : largeur du cartilage des vertèbres C2 à L7 (d'après Wilke et coll.)<sup>73</sup>

De plus, Wilke et coll.<sup>72,73</sup> ont montré des similitudes biomécaniques entre le rachis des ovins et des hommes. L'étude des mobilités rachidiennes entre les deux espèces semble indiquer que le modèle ovin est adapté aux études portant sur la pathologie et la chirurgie du disque ainsi que sur l'évaluation des implants rachidiens<sup>72</sup> chez l'homme. Reid et coll.<sup>56</sup> ont montré de fortes similitudes en terme de constitution biochimique des disques lombaires chez les deux espèces, et Costi et coll.<sup>18</sup>, que les disques ovins avaient un comportement semblable aux disques humains en terme d'hydratation et de réponse à la pression en fonction de leur hydratation.

Ainsi, ces études tendent à affirmer que les disques ovins constituent un modèle pertinent pour l'étude in vivo et in vitro du disque humain<sup>18,56,72,73</sup>.

### 1.4.2. La conservation des échantillons :

Dans leur étude sur les disques ovins, Costi et coll.<sup>18</sup> ont remarqué qu'après 4 à 5 heures, les échantillons conservés dans l'eau à 37°C commençaient à présenter des signes de décomposition. De plus, leurs propriétés mécaniques étaient modifiées dès la 8<sup>ème</sup> heure. De même, Rodrigo et coll.<sup>60</sup> ont montré que la viabilité des chondrocytes conservés à + 4°C sans milieu de culture était rapidement limitée (100% à 6 h, puis 80% à 12 h, 70 % à 24 h puis chute rapide à moins de 50%). Malinin et coll.<sup>40</sup> confirment qu'après 20 jours de conservation à + 4°C dans un milieu de culture apparaissent des lésions tissulaires.

Traditionnellement, on utilise le lactate de Ringer comme solution de conservation des échantillons ostéo-chondraux, mais il semble qu'il soit préférable de conserver les échantillons à + 4°C dans un milieu de culture stérile amenant les nutriments nécessaires au métabolisme des chondrocytes<sup>74</sup>. Ce milieu doit être changé toutes les 48 à 72 heures, pour permettre un apport régulier de nutriments et une élimination des enzymes de dégradation des chondrocytes venant à mourir. Wayne et coll.<sup>71</sup>, ont pu conserver des échantillons ostéochondraux jusqu'à 60 jours à + 4°C dans une solution de conservation standard changée deux fois par semaine<sup>13</sup>. Ils n'ont pas trouvé de différences significatives des propriétés mécaniques ou biochimiques (quantité et distribution des Pg) à l'exception du métabolisme cellulaire qui diminue de façon très importante au 60<sup>ème</sup> jour. Ils ont montré par ailleurs que la conservation dans un milieu de culture à 37 °C induisait des lésions tissulaires contrairement à ce que certains ont pu observer<sup>60</sup>. Les résultats de Wayne et coll. sont confirmés par Williams et coll.<sup>74</sup> qui ont démontré que le mode de conservation à +4°C maintenait les chondrocytes en vie ; une différence significative du nombre et de la densité de chondrocytes viables n'apparaissant qu'après 14 jours de conservation. Leur métabolisme chute significativement lui aussi à partir du 14<sup>ème</sup> jour sans qu'il y ait de modification de la quantité de Pg au niveau de la matrice cartilagineuse des échantillons. L'ensemble de ces études nous rassurent quant à la possibilité de réaliser des mesures sur des spécimens considérés comme étant à l'état frais jusqu'à une durée de 14 jours à compter du prélèvement.

On retrouve, dans la littérature<sup>8,9,74</sup>, des résultats contradictoires concernant l'influence de la congélation des échantillons sur les résultats des expérimentations. L'origine des différences retrouvées n'est pas encore bien élucidée. Il semble que la congélation puisse produire des dommages tissulaires par formation de cristaux de glace et mort cellulaire<sup>8,9,40,60,62,65,66,71</sup>. Les cellules, en relarguant leurs enzymes dans la matrice extra-



cellulaire, détériorent les Pg du cartilage et perturbent la perméabilité. Les altérations des Pg, induites par la congélation, sont similaires à celles retrouvées au niveau des disques âgés (augmentation de la proportion de Pg de petite taille<sup>9</sup>).

Williams et coll.<sup>74</sup> ont montré que la congélation à - 80°C tuaient les chondrocytes. Ces observations ont été confirmées par les travaux de Enneking et Campanacci<sup>23,24</sup>. Bass et coll. (1997)<sup>9</sup> ont étudié l'effet de la congélation (à -20 °C sans liquide de conservation pendant 14 jours) sur les propriétés biomécaniques de disques de porc. Ils ont ainsi montré que la congélation modifiait de façon très importante les propriétés mécaniques des échantillons ; la perméabilité des disques congelés était 82% plus importante que celle examinée à l'état frais et la pression de gonflement des disques 25% plus faible. De plus, Bass a pu constater en réalisant une série de 5 mesures consécutives sur chaque échantillon congelé que, même si la première mesure est proche de celle retrouvée sur le spécimen frais, les autres mesures divergent et ce d'autant plus que l'on répète les cycles avec des valeurs de plus en plus importantes ce qui semble prouver que cette différence de comportement est sous-tendue par des lésions tissulaires.

Ainsi, la majorité des auteurs s'accordent sur l'utilisation de cryoprotecteur ou des techniques de congélation plus perfectionnées<sup>40,60,62,65,66,71,74</sup> qui évitent la formation de cristaux de glace et préviennent le choc osmotique induit par la déshydratation cellulaire lors de la congélation. Tomford et coll.<sup>66</sup> ont étudié la toxicité des cryoconservateurs et ont montré que le glycérol était plus toxique que le DMSO (DiMéthyl SulfOxyde). Le meilleur taux de survie est alors obtenu grâce à une phase de pré-congélation par immersion des spécimens dans une solution de concentration en DMSO de 4 à 12 % pendant quelques minutes, suivie d'une diminution lente en température qui permet l'établissement d'un équilibre des milieux extra et intracellulaires et évite ainsi les lésions cellulaires<sup>40,60,62,65,66,71,74</sup>. Il n'a pas été prouvé qu'une congélation à - 196°C soit plus efficace qu'à - 80°C<sup>62</sup>.

En ce qui concerne la décongélation, les auteurs pratiquent pour la plupart une décongélation rapide à température ambiante, dans une solution de Ringer (avec ou sans DMSO) à laquelle sont ajoutés des inhibiteurs des collagénases ou des métalloprotéinases<sup>27,62,74</sup>. Ceci semblerait améliorer les résultats en évitant la dégradation de la matrice cartilagineuse par les enzymes relarguées lors de la mort cellulaire.

Néanmoins, ces notions ne sont applicables qu'aux chondrocytes isolés. Le problème semble plus complexe pour le cartilage car intervient la matrice extra-cellulaire qui constitue

un obstacle à la diffusion du DMSO<sup>66</sup>, ce qui induit des taux de survie plus faibles lors de la conservation de pièces anatomiques<sup>62</sup>. Cependant, une étude colorimétrique a montré<sup>65</sup> que le DMSO peut diffuser à l'ensemble d'échantillons ostéochondraux de taille conséquente en moins de 2 heures.

Ce protocole de congélation semble toutefois acceptable pour des échantillons de plateaux vertébraux de petite taille : 5 mm de diamètre par 6 mm d'épaisseur. En effet, d'une part, il permet des taux de survie de chondrocytes jusqu'à 80-90% quand ils sont isolés et 50% au sein de cartilage intact, d'autre part, les auteurs l'ayant appliqué retrouvent des valeurs de perméabilité proches de celles de la littérature<sup>11,31,71</sup>. Gu et coll.<sup>27</sup> ont conservé leur colonnes lombaires à -20°C avant de travailler sur les échantillons, leurs valeurs n'ont pas été altérées.

En conclusion, les meilleures méthodes de conservation des plateaux vertébraux sont :

- la conservation à +4°C dans un milieu de culture à changer toutes les 72h, au maximum pendant 14 jours.
- la congélation en présence d'un cryoprotecteur (du DMSO, par exemple), précédée par une phase de pré-congélation (diminution lente de la température). La décongélation se fait rapidement, à température ambiante, dans une solution de lactate de Ringer, à condition d'ajouter au milieu des inhibiteurs des collagénases.

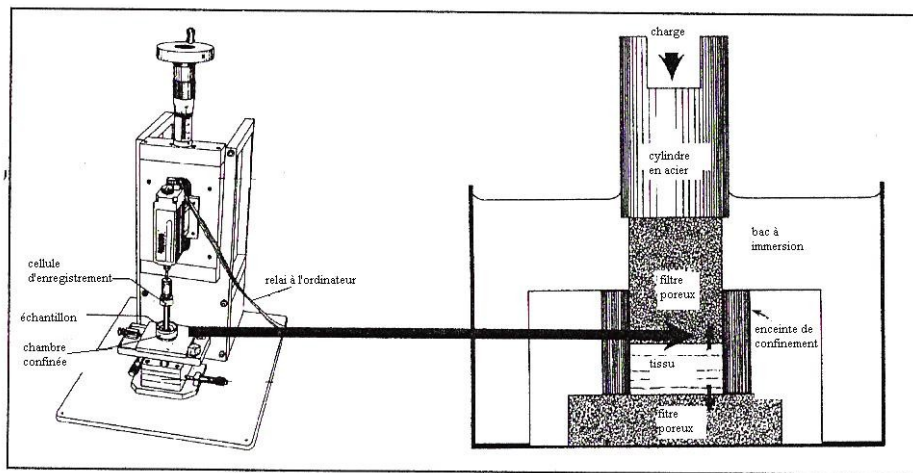
### 1.4.3. Les différentes méthodes de mesure :

Il existe dans la littérature 3 grands types de méthodes de mesure de la perméabilité d'un échantillon cartilagineux ou ostéo-chondral :

- **Méthode de mesure « indirecte »** par un test de compression de l'échantillon au sein d'un dispositif « confiné ».
- **Méthode de mesure « directe »** par application soit d'un gradient de pression soit d'un débit continu d'un fluide au travers de l'échantillon.

- **Autres méthodes** de détermination par mesure d'un courant électrique de part et d'autre de l'échantillon ou par mesure de la concentration de gaz dissous.

La première méthode de mesure « indirecte » est en fait un calcul de perméabilité au cours de test en compression confinée. Ces tests ont été largement utilisés <sup>6,11,15-17,29,31,35,37-39,43,46,64,71,74,75</sup> mais les sollicitations sur l'échantillon sont complexes (fluide et déformation). Il est donc nécessaire de prendre en compte avec précaution ces résultats comme référence des perméabilités que l'on retrouve par d'autres méthodes. Au cours de ces expériences, aux extrémités de l'échantillon, on applique des filtres dont les pores sont assez petits pour transmettre la compression de la matrice solide cartilagineuse et assez grande pour ne pas entraver la « libre » exsudation du fluide hors de l'échantillon. L'échantillon est confiné à sa périphérie dans une enceinte étanche et rigide afin d'éliminer toute déformation latérale et ainsi de se mettre dans le cadre théorique d'une compression à une dimension où les déplacements et le flux ne se font que dans une direction longitudinale (Fig. 17).



**Fig. 17 :** Dispositif expérimental de compression en confiné (d'après Best et coll.)<sup>1,11,27</sup>

On réalise alors deux phases : la première est la phase de compression où l'on applique une force continue qui entraîne un déplacement jusqu'à un palier puis une deuxième phase de relaxation où la déformation est maintenue. On enregistre alors la contrainte en fonction du temps. Cette expérimentation permet de déterminer par calcul la perméabilité  $k_0$  (Tableau III).

	Setton <sup>64</sup> (CPV)	Best <sup>11</sup> (AF)	Iatridis <sup>31</sup>	Houben <sup>29</sup>
$k_0$ (m <sup>4</sup> /N.s)	1,43.10 <sup>-15</sup>	0,25.10 <sup>-15</sup>	0,2 ± 0,1. 10 <sup>-15</sup>	0,10 – 0,28. 10 <sup>-15</sup>
Espèce étudiée	babouin	homme	homme	chien

D **Tableau III :** *Mesure de perméabilités par une méthode indirecte en confiné,* est « emprisonne » de manière imperméable et étanche entre deux enceintes contenant un fluide (eau, sérum physiologique ou solution de lactate de Ringer). Il s'agit donc de tests en compression semi-confinée. Puis on impose une différence de pression qui est contrôlée<sup>27,42</sup> ou mesurée<sup>1,8</sup> entre les enceintes en amont et en aval de l'échantillon à étudier afin de forcer le fluide à traverser l'échantillon<sup>46</sup>. La perméabilité  $k$  étant définie par la facilité avec laquelle un fluide traverse un matériau poreux, la loi de Darcy permet de la calculer, connaissant le flux de liquide traversant l'échantillon ( $Q$  : volume par unité de temps), la différence de pression entre les deux enceintes  $\Delta p$ , la surface  $A$  et l'épaisseur de l'échantillon  $h$  :  $k = (Q / \Delta p) \cdot (h / A)$  exprimée dans le SUI en m<sup>4</sup>/N.s. Dans les différentes études, la pression de fluide appliquée sur l'échantillon est en général de l'ordre de 0,1 MPa (Mc Cutchen<sup>42</sup> en 1962, lors des premiers travaux sur la perméabilité des cartilages animaux et 0,069 MPa pour par Gu et coll.<sup>27</sup>) (Tableau IV).

	McCutchen <sup>42</sup>	Mansour <sup>42</sup>	Gu et coll. <sup>27</sup>	Accadbled <sup>1</sup>
$k_{app}$ (x10 <sup>-15</sup> m <sup>4</sup> /N.s)	0,43 – 0,76	0,3 – 3,3	1,1 – 1,9	369
Pression utilisée (MPa)	0,1	--	0,069	0,09
Espèce étudiée	vache	vache	homme	porc

**Tableau IV :** *Mesure de perméabilités  $k_{app}$  par une méthode directe*

*Remarque:* la valeur de perméabilité obtenue par Accadbled n'est pas interprétable car très élevée. Il faut mettre en doute le dispositif de mesure utilisé dans cette étude, certainement trop imprécis pour mesurer de faibles variations de pression.

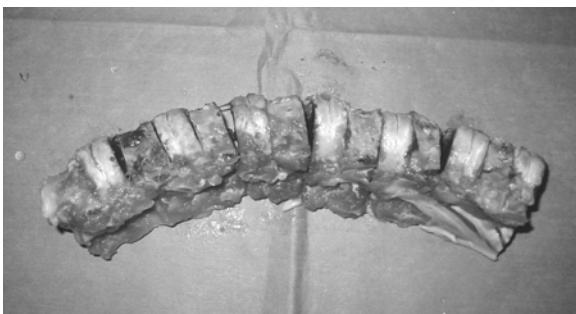
Enfin, d'autres méthodes de mesure permettent d'appréhender la perméabilité au travers des disques intervertébraux et des cartilages des plateaux vertébraux<sup>17,69</sup>. Une méthode électrochimique<sup>17</sup> consiste à mesurer la différence de potentiel de part et d'autre d'un

échantillon cartilagineux soumis à une contrainte en compression qui provoque une fuite d'eau accompagnée d'électrolytes chargés. Une autre méthode<sup>69</sup> consiste en l'utilisation d'oxyde d'azote comme traceur ; elle a l'avantage de pouvoir être pratiquée in vivo, mais elle ne permet pas d'appréhender quantitativement la perméabilité.

## **PARTIE 2 : MATÉRIELS ET MÉTHODES**

### **2.1. Matériels**

Nous avons choisi d'étudier 6 agneaux, issus d'un même lot et provenant du même élevage, séparés en 3 groupes ; chaque groupe de 2 agneaux correspondant à une classe d'âge respectivement de 2, 4 et 6 mois. Tous les animaux étaient indemnes de pathologies apparentes au jour de l'euthanasie. Les animaux choisis ont été euthanasiés selon les règles d'hygiène et de respect des espèces animales par une overdose de 1000 mg de Thiopental (barbituriques). Les rachis lombaires ont été prélevés en bloc de L1 à L6, nettoyés de leurs parties molles (tissus sous-cutané, musculaire et ligamentaire) et immédiatement plongés dans une solution de sérum physiologique (NaCl 9‰) additionnée d'héparine à une concentration de 100 UI/ml à température ambiante. Puis des coupes transversales des rachis ont été réalisées à l'aide d'une scie oscillante, afin d'isoler les disques vertébraux qui ont une épaisseur de 6 mm et sont associés de part et d'autre aux plateaux vertébraux (Fig. 18). On a ensuite réalisé une coupe transversale au niveau de chaque disque pour réaliser un examen macroscopique. Aucun des disques intervertébraux ne présentait d'anomalie (Fig. 19).

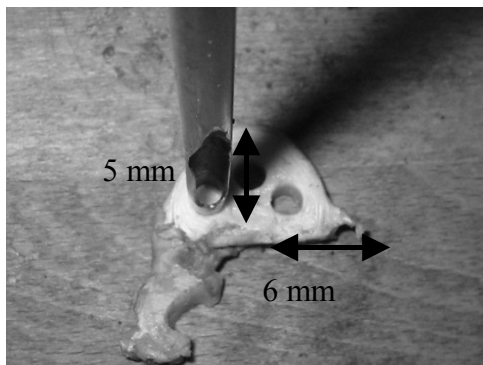


***Fig. 18*** : Rachis lombaire prélevé en bloc et nettoyé des parties molles

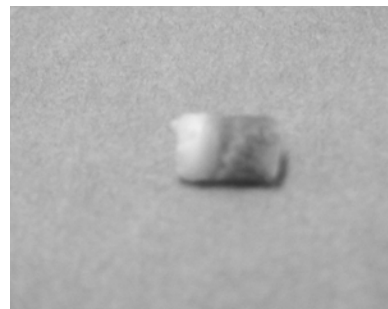


***Fig. 19*** : Examen macroscopique des disques intervertébraux

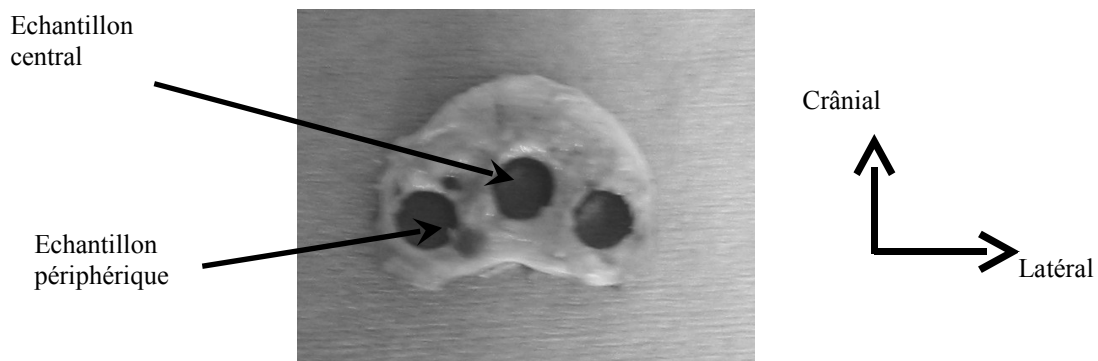
Les plateaux vertébraux ont ensuite été débarrassés des reliquats de disques vertébraux à l'aide de bistouris froids ophtalmologiques, sous microscope binoculaire afin de ne conserver que les plateaux vertébraux associés à leur os sous-chondral. On a ainsi obtenu des pièces anatomiques plates composées de 4 couches : cartilage du plateau vertébral, os sous-chondral, cartilage de croissance et os spongieux. Les échantillons utilisés au cours de la manipulation ont ensuite été découpés à l'aide d'un emporte pièce d'un diamètre de 5 mm fermement maintenu perpendiculairement à la surface du plateau vertébral (Fig. 20). Trois échantillons ont ainsi été obtenus pour nos mesures au niveau de chaque plateau : un échantillon central et deux échantillons périphériques (Fig. 21) disposés symétriquement par rapport au premier. Chaque plateau a donc permis de disposer de 3 échantillons composites de 5 mm de diamètre et de 6 mm d'épaisseur (Fig. 22) pour l'étude biomécanique.



**Fig. 20** : Découpe des échantillons à l'emporte pièce



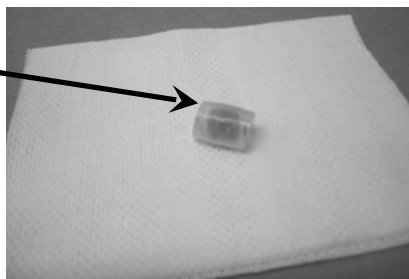
**Fig. 22** : Echantillon de 6 mm par 5 mm



**Fig. 21** : Disposition des échantillons au niveau des plateaux vertébraux

Ces 3 échantillons destinés à la mesure de perméabilité ont immédiatement été insérés dans un tube de silicone de diamètre intérieur de 4 mm, afin de réaliser l'étanchéité à l'intérieur du dispositif de mesure (Fig. 23).

Joint de silicone



**Fig. 23** : Echantillon dans le joint de silicone

Par la suite, deux lots d'échantillons ont été constitués: le premier lot a été destiné à une étude réalisée à l'état frais, le deuxième lot à une étude après congélation. Les échantillons pour examen à l'état frais ont été conservés dans un milieu de culture de composition standard (RPMI 1640®, Cambrex, Verviers, Belgique) à une température constante de + 4°C auquel nous avons ajouté de l'héparine à forte dose (100 UI/ml) afin de prévenir toute coagulation au niveau des capillaires venant



**Fig. 24** : Echantillon dans un tube individuel identifié avec solution de culture pour examen à l'état frais

au contact du plateau vertébral. Chaque échantillon a été conservé dans un tube à essai individuel stérile et identifié (Fig. 24). La solution de culture a été changée toutes les 48 à 72 heures. Tous les examens à l'état frais ont été réalisés dans les 14 jours qui ont suivi le prélèvement. Les échantillons destinés à l'étude après congélation ont été conservés dans une solution de lactate de Ringer en présence de DiMéthyl Sulfoxyde à 10 % (cryo-conservateur) en tube Eppendorf pour congélation à basse température, préalablement identifiés. Nous avons ajouté aussi à cette solution de fortes doses d'héparine (100 UI/ml) comme précédemment. Ces échantillons ont ensuite subi un traitement en plusieurs étapes : une première phase où ils ont été conservés pendant quelques heures à + 4°C dans la solution précédente pour permettre une diffusion du DMSO à l'ensemble de l'échantillon, puis une deuxième phase où ils ont progressivement été amenés à une température de - 20°C, température de leur conservation. La troisième étape est la phase de décongélation qui s'est effectuée à température ambiante pendant 12h heures puis conservation à une température constante de + 4° jusqu'à leur mesure. Après décongélation, ces échantillons ont bénéficié du



même protocole que ceux destinés à un examen à l'état frais. Tous les échantillons ont pu être préparés dans les huit heures qui ont suivi l'euthanasie des animaux et ont été conservés à + 4°C.

Au total, le nombre d'échantillons dont nous disposions pour l'étude biomécanique en fonction des classes d'âge, de leur localisation et du mode de conservation est résumé dans le Tableau V. Plusieurs échantillons ont été endommagés lors des manipulations et n'ont pas pu être utilisés pour les mesures, ce qui explique que les nombres d'échantillons disponibles pour chaque série de mesure varient.

Nombre d'échantillons	2 mois		4 mois		6 mois	
	Central	Périphérique	Central	Périphérique	Central	Périphérique
Etat Frais	9	9	8	16	8	14
Congelé	10	13	7	16	6	19

**Tableau V** : Nombre d'échantillons disponibles pour l'étude biomécanique

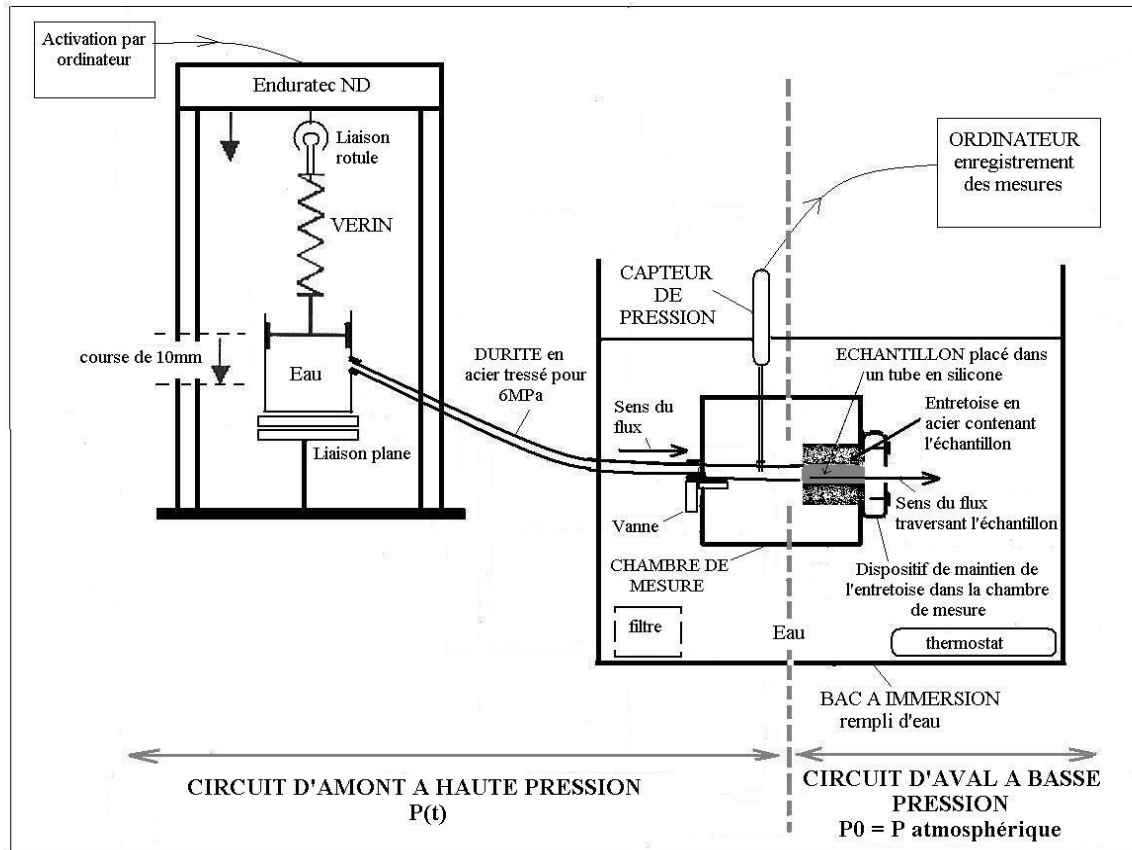
## 2.2. Méthodes et dispositif de mesure

### 2.2.1. Dispositif expérimental :

Afin de mesurer la perméabilité, nous avons réalisé un test de mesure directe<sup>8,27,31</sup>, en améliorant le dispositif précédemment utilisé dans le laboratoire<sup>1</sup>.

L'échantillon de plateau vertébral dont on veut mesurer la perméabilité a été placé de façon étanche, dans une chambre en aluminium par l'intermédiaire d'une entretoise, spécialement usinée, entre deux circuits (représentés sur la figure 25) :

- le circuit d'aval à basse pression, égale à la pression atmosphérique
- le circuit d'amont à haute pression, correspondant à la chambre en aluminium sur laquelle sont branchés de manière étanche un capteur de pression, une vanne et une durite en acier tressé pour 6 MPa, elle-même reliée à un vérin de diamètre de 10mm et de course de 10mm (Joucomatic®, Asco/Joucomatic SA, Rueil Malmaison, France).



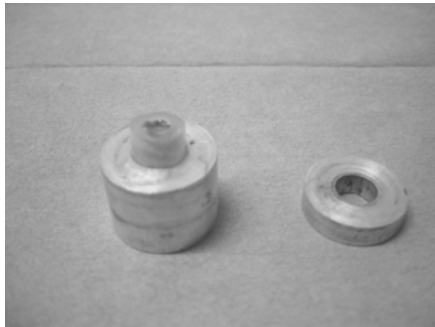
**Fig 25** : Représentation schématique du dispositif de mesure

Le vérin est actionné par Enduratec® (Elf 3200) (Fig. 26) asservie en déplacement par ordinateur. Afin de corriger l'alignement de la machine et du vérin, une liaison rotule a été rajoutée à la partie supérieure du vérin ainsi que deux glissières à sa partie inférieure réalisant ainsi une liaison plane (Fig. 27).

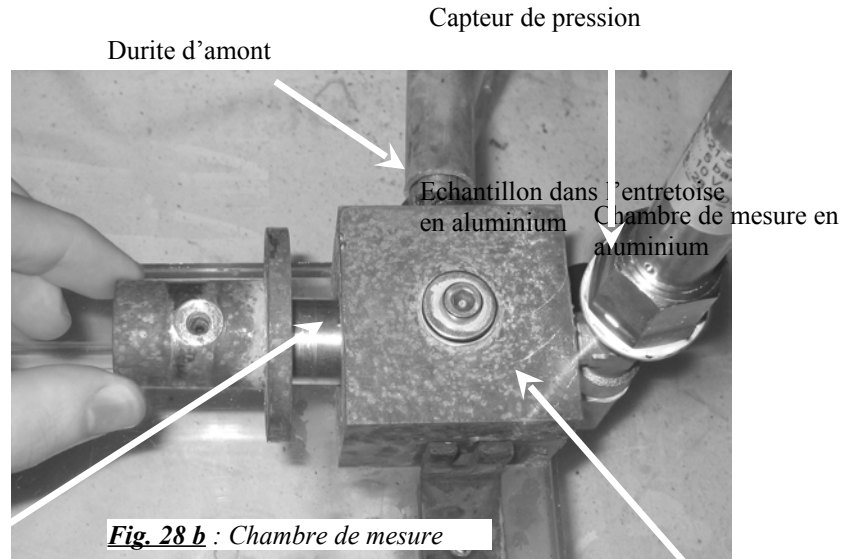


**Fig. 27** : Optimisation de la liaison Enduratec®-vérin

L'échantillon à étudier, placé dans le tube en silicone, a été mis en place dans une entretoise en aluminium usiné conique, en interne afin de réaliser un effet « press-fit » participant à l'étanchéité de l'ensemble (Fig. 28 a.). L'entretoise a alors été enfermée de façon étanche grâce à deux joints toriques en nitrile dans la chambre de mesure (Fig. 28 b.).



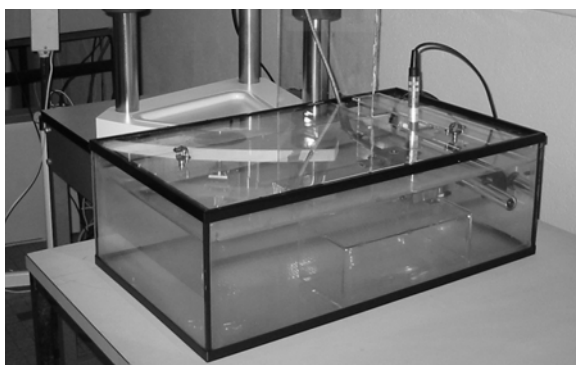
**Fig. 28 a :** Entretoise en aluminium contenant l'échantillon



**Fig. 28 b :** Chambre de mesure

Le circuit haute pression a été purgé par de l'eau en prenant soin d'éliminer toutes les bulles d'air pouvant parasiter le maintien de la pression et les mesures. L'ensemble de la chambre en aluminium renfermant l'échantillon a été immergé dans un bac d'eau continuellement filtrée et maintenu par un thermostat à une température constante de 22°C (Fig. 29).

Quatre mesures ont été effectuées pour chaque échantillon : lors des deux premières mesures, les échantillons ont été placés de façon à avoir un flux dans le sens cartilage – os (CPV-os) ; puis le dispositif est démonté et l'échantillon retourné de façon à inverser le sens du flux (os-CPV) lors des deux mesures suivantes.



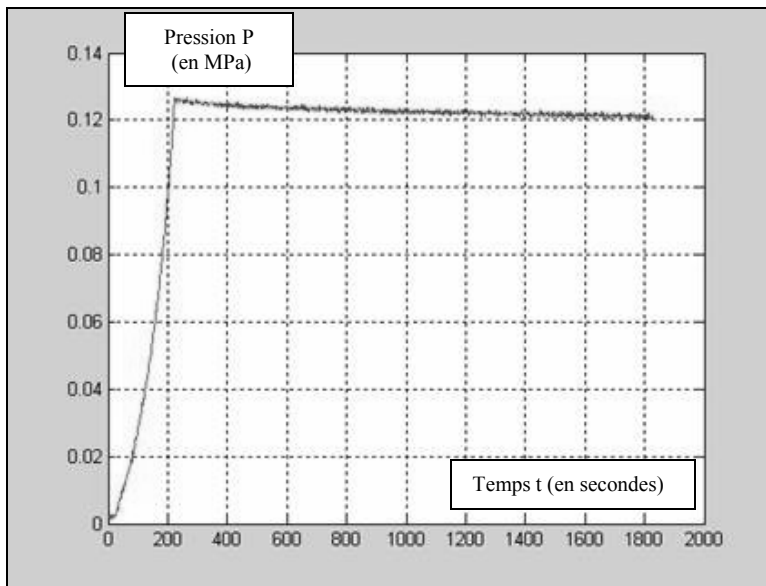
**Fig. 29 :** Immersion du dispositif de mesure

## 2.2.2.

## Mesure et

## traitement des données:

La perméabilité a été mesurée grâce à un flux quasi-statique traversant l'échantillon. Le flux de liquide est obtenu par un vérin actionné par Enduratec. La courbe de pression  $P(t)$  (Fig. 30) en amont de l'échantillon est enregistrée sous Labview 7.0 (National Instruments Corp. Austin Texas USA) grâce à une carte DAQ® (National Instruments Corp. Austin Texas USA) : elle décroît en fonction du temps à partir de la valeur  $P_0$  voisine de 0,12 MPa obtenue lors de l'immobilisation du vérin.



**Fig. 30:** Enregistrement de la courbe de pression  $P$ (unité : MPa) en fonction du temps  $t$  :  $P(t)$ (unité : secondes)

Les données sont ensuite post-traitées sous Matlab R12® (The Math Works Inc., Natick, MA, USA) pour déterminer la perméabilité intrinsèque  $k$  de l'échantillon grâce à l'équation (1), obtenue par approximation selon la méthode des moindres carrés.

Avec :

- $P(t)$  : la pression mesurée à un instant  $t$  et  $P_0$  la pression initiale
- $k$ , la perméabilité
- $\beta$ , une constante caractéristique du dispositif de mesure, déterminée préalablement par étalonnage
- $t$ , un instant donné

$$P(t) = P_0 e^{-(k/\beta)t} \quad (1)$$

Le coefficient  $\beta$ , caractéristique du montage, est défini préalablement par étalonnage. Puis la perméabilité  $k$  est comparée à la précision du montage ( à savoir la plus petite perméabilité mesurable - cf infra -). On peut alors déterminer la perméabilité intrinsèque de

l'échantillon  $k_0$  qui est la perméabilité  $k$  obtenue par le calcul diminuée de la valeur des fuites du montage obtenue par étalonnage. L'ensemble des données numériques est exportée ensuite sous Excel 4.0® (Microsoft Inc., Seattle, Washington, USA) afin de réaliser les calculs des perméabilités.

Chaque échantillon a été testé deux fois dans les deux directions : d'abord dans le sens CPV-Os (CO), puis dans le sens Os-CPV (OC), après avoir retourné l'échantillon dans l'entretoise. Pour chaque échantillon central, nous avons calculé la moyenne arithmétique des deux mesures afin de déterminer sa perméabilité. Pour les échantillons périphériques, nous avons calculé la moyenne des perméabilités des deux échantillons d'un même plateau.

Enfin, certains échantillons ont fait l'objet d'une étude anatomopathologique afin de déterminer l'épaisseur de disque laissé en place malgré nos précautions, l'épaisseur du cartilage du plateau vertébral lui-même, de l'os sous-chondral et du cartilage de croissance. La vascularisation à l'interface os spongieux-cartilage hyalin a également été étudiée.

Les calculs statistiques ont été réalisés sous Statview® (SAS Institute Inc., USA). Pour les comparaisons, nous avons d'abord comparé les variances des différentes séries de valeurs à étudier par un test F de Fisher. Le nombre d'échantillons au sein de chaque série étant inférieur à 30, nous avons réalisé un test T de Student afin de comparer les moyennes. Le seuil retenu a été  $p < 0.05$ .

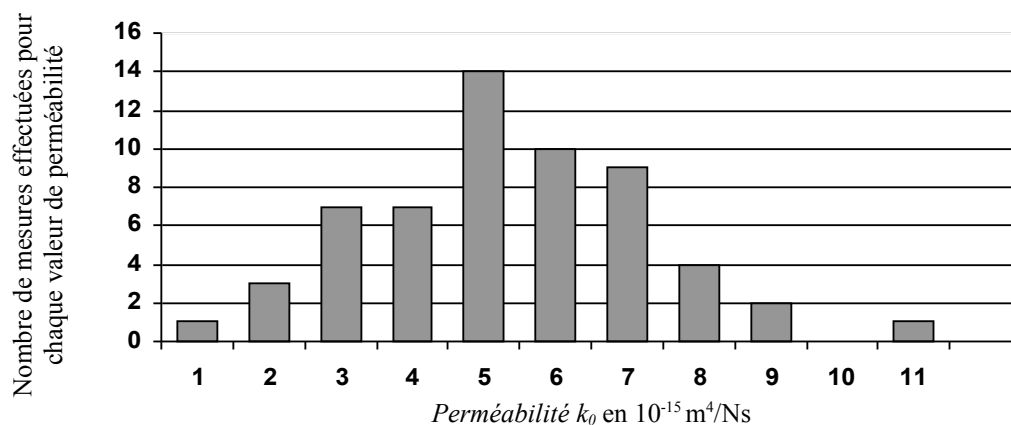
### **2.2.3. Validation du processus de mesure :**

Nous avons contrôlé la stabilité du comportement du montage avec différentes courses de vérin, à différentes vitesses, ce qui nous a permis de déterminer la plage de pression de plus grande stabilité du dispositif qui se situe aux alentours de 0,1 MPa.

Les mesures sur les échantillons ont été précédées par plusieurs séries de mesures d'étalonnage avec une entretoise obturée par un tube de silicone bouché. 58 mesures d'étalonnage ont été effectuées. Ceci nous a permis d'estimer les « fuites » de l'ensemble du circuit, mesurées en moyenne à  $4,86 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$  avec un écart-type de  $1,99 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ . Ainsi, nous avons déterminé la plus petite perméabilité détectable par ce montage qui

correspond à la valeur des fuites augmentée de 2 écart-types soit  $8,84 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  pour un intervalle de confiance de 95 %.

Les valeurs d'étalonnage étaient réparties selon une distribution Gaussienne (voir la figure n°31 : Nombre de mesures d'étalonnage = f (perméabilité)). Ceci nous a permis d'effectuer des tests de comparaison entre les mesures réalisées sur les échantillons et les mesures d'étalonnage.



*Fig. 31: Distribution Gaussienne des mesures d'étalonnage*

Par la suite, nous avons déduit à chaque valeur de perméabilité mesurée, la valeur due aux fuites du dispositif de mesure (soit  $8,84 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ ), de façon à seulement prendre en compte la perméabilité intrinsèque des plateaux. Par exemple, si l'on mesure une perméabilité de  $16,00 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ ; la valeur de perméabilité prise en compte sera :  $(16,00 - 8,84) \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  soit  $7,16 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ .

Pour valider le processus de mesure, nous avons mesuré la perméabilité de 5 échantillons de cartilage articulaire de coude d'agneaux (Tableau VI) de la même façon que l'ont fait Gu et coll.<sup>27</sup> chez le bovin. Nous avons pu déterminer une perméabilité chez ces « échantillons témoins » de  $11,00 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  ( $6,04 \cdot 10^{-15} - 15,30 \cdot 10^{-15}$ ) dans le sens Cartilage-Os sous-chondral. Ces valeurs de perméabilité sont conformes à celles retrouvées dans la littérature<sup>6,16,17,38,42,43,46,71,74</sup>, ce qui montre que notre procédé est fiable. Puis nous les avons comparées aux fuites; il existe une différence très significative ( $p = 6,93\text{E-}08$ ) entre les valeurs des fuites du système et la perméabilité mesurée des échantillons de cartilage articulaire, ce qui prouve que les valeurs trouvées ne sont pas des fuites au niveau du montage.

	Perméabilité dans le Sens Cartilage-Os ( $10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ )	Perméabilité dans le Sens Os- Cartilage ( $10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ )
Echantillon N°1	8,4	--
Echantillon N°2	6,0	4,4
Echantillon N°3	12,8	9,1
Echantillon N°4	15,3	--
Echantillon N°5	12,2	12,1
Moyenne	$11,0 \pm 3,3$	$8,5 \pm 3,2$

*Tableau VI : Mesure de perméabilité du cartilage articulaire de mouton*

## 2.3. Etude histomorphométrique :

Après mesure des perméabilités, les échantillons ont été conservés dans des tubes à essai dans du formol. Sur une sélection d'échantillons non endommagés, une étude anatomopathologique a été réalisée.

Cette étude nous a d'abord permis de réaliser des mesures micrométriques des différents éléments constitutifs des échantillons centraux et latéraux utilisés pour nos mesures :

- l'épaisseur de disque laissé en place,
- l'épaisseur du cartilage du plateau vertébral (CPV), qui est mesurée à deux endroits. On retient au final la moyenne des 2 valeurs,
- l'épaisseur de l'os sous-chondral et enfin,
- l'épaisseur du cartilage de croissance.

D'autre part, nous avons étudié la vascularisation à l'interface CPV - os sous-chondral (présence de capillaires, d'espaces de moelle osseuse), en établissant une classification semi-quantitative: absente (=0), peu abondante (=1), abondante (=2) et très abondante (=3). De la même façon, une estimation des calcifications au sein de l'os sous-chondral a été réalisée selon le même principe de 0 à 3. Ces calcifications se présentant sous forme de travées sont issues du cartilage de croissance et s'étendent en direction du CPV.

## **PARTIE 3 : RÉSULTATS**

### 3.1. Perméabilité :

Les perméabilités pour chaque classe d'âge, exprimées en  $10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ , sont résumées dans les Tableaux VII, VIII et IX (l'ensemble des valeurs pour les 3 classes d'âge sont rappelées en Annexe I, II et III) :

2 MOIS	Centre		Périphérie	
	CO	OC	CO	OC
Mouton N°1	15,70 ± 4,60	12,20 ± 3,49	11,90 ± 3,27	10,30 ± 3,91
Mouton N°2	17,60 ± 4,18	12,40 ± 8,29	11,90 ± 2,70	10,20 ± 2,59
<b>Moyenne</b>	<b>16,60 ± 4,52</b>	<b>12,30 ± 6,36</b>	<b>11,90 ± 2,99</b>	<b>10,30 ± 3,36</b>
Différentielle (CO-OC)/CO	25,9 %		13,5 %	

**Tableau VII:** Perméabilité (unités =  $10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ ) centrale et périphérique à l'âge de 2 mois, en fonction du sens du flux (CO = du cartilage vers l'os et OC = de l'os vers le cartilage)

4 MOIS	Centre		Périphérie	
	CO	OC	CO	OC
Mouton N°3	13,50 ± 5,39	10,90 ± 2,56	9,25 ± 2,06	9,60 ± 2,76
Mouton N°4	12,30 ± 1,09	9,64 ± 4,16	10,60 ± 2,68	12,10 ± 3,19
<b>Moyenne</b>	<b>12,90 ± 3,81</b>	<b>10,30 ± 3,51</b>	<b>10,00 ± 2,52</b>	<b>11,00 ± 3,26</b>
Différentielle (CO-OC)/CO	20,3 %		- 8,5 %	

**Tableau VIII:** Perméabilité (unités =  $10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ ) centrale et périphérique à l'âge de 4 mois, en fonction du sens du flux (CO = du cartilage vers l'os et OC = de l'os vers le cartilage)

6 MOIS	Centre		Périphérie	
	CO	OC	CO	OC
Mouton N°5	10,40 ± 2,58	8,59 ± 1,39	9,39 ± 1,81	8,30 ± 1,54
Mouton N°6	9,72 ± 3,56	7,36 ± 2,13	7,95 ± 1,82	7,15 ± 1,58
<b>Moyenne</b>	<b>10,00 ± 3,20</b>	<b>7,92 ± 1,93</b>	<b>8,63 ± 1,82</b>	<b>7,65 ± 1,66</b>
Différentielle (CO-OC)/CO	21 %		11,5 %	

**Tableau IX:** Perméabilité centrale et périphérique à l'âge de 6 mois.

**Tableau IX:** Perméabilité (unités =  $10^{-15} \text{ m}^4/\text{N.s}$ ) centrale et périphérique à l'âge de 6 mois, en fonction du sens du flux (CO = du cartilage vers l'os et OC = de l'os vers le cartilage)



Au sein des 3 classes d'âge, le mode de conservation (examen à l'état frais versus congélation) n'a pas eu d'influence significative sur les résultats ( $p > 0.4$ ), au centre comme à la périphérie, et quel que soit le sens. Il n'existe pas non plus de différence significative entre les valeurs retrouvées chez les animaux de même âge ( $p > 0.05$ ).

Pour les animaux âgés de 2 mois, la perméabilité moyenne mesurée pour les échantillons centraux est de  $16,60 \pm 4,52 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens CO et de  $12,3 \pm 6,36 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens OC. Individuellement, chez chaque animal, il existe une tendance selon laquelle la perméabilité dans le sens CO est plus importante que dans le sens OC mais de manière non significative ( $p = 0.12$  pour l'agneau N°1 et  $p = 0.14$  pour le N°2). En regroupant l'ensemble des valeurs afin d'augmenter la puissance de nos tests, on trouve que la perméabilité dans le sens CO est significativement supérieure à celle dans le sens OC ( $p = 0.015$ ).

Pour les échantillons latéraux, la perméabilité moyenne périphérique est égale à  $11,90 \pm 2,99 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens CO et de  $10,30 \pm 3,36 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens OC. La différence n'est pas significative ( $p = 0.19$ ).

Dans le sens CO, il existe, entre la perméabilité du centre du plateau vertébral et celle de la périphérie, une différence très significative ( $p = 0.002$ ) qui est en moyenne de  $4,73 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  soit une perméabilité différentielle ((Central-Latéral)/Central) de 28,5 %. Dans le sens OC, la différence est en moyenne de  $2,03 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  et la perméabilité différentielle de 16,5 % ( $p=0.30$ ) ; mais ces différences ne sont pas significatives.

Pour le groupe âgé de 4 mois, la perméabilité moyenne mesurée pour les échantillons centraux est de  $12,90 \pm 3,81 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens CO et de  $10,30 \pm 3,51 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens OC. La perméabilité dans le sens CO est significativement supérieure à celle dans le sens OC ( $p = 0.038$ ) avec une perméabilité différentielle de 20,3 %.

Pour les échantillons latéraux, la perméabilité moyenne est de  $10,01 \pm 2,52 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens CO et de  $10,94 \pm 3,26 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens OC. La perméabilité différentielle de 8.5 % n'est pas significative ( $p = 0.39$ ).

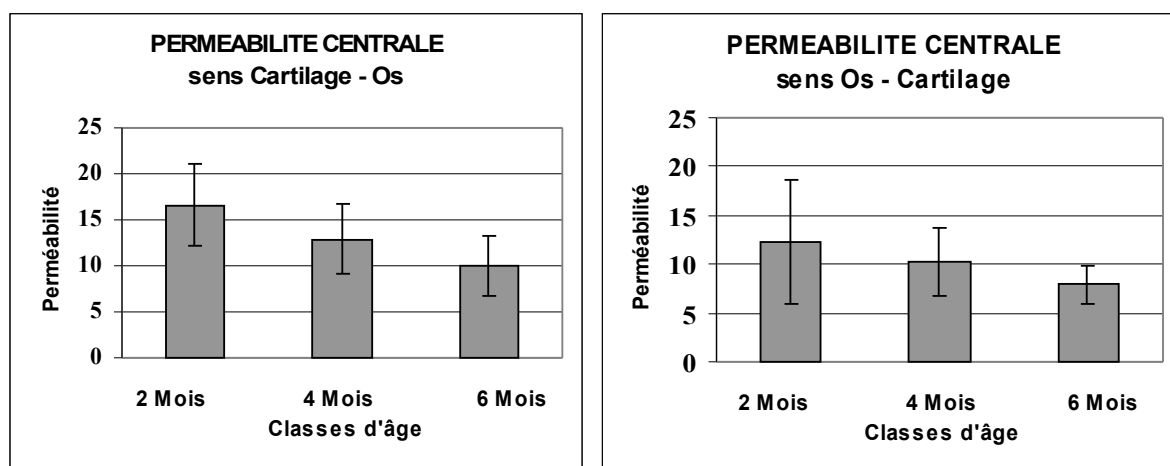
Dans le sens CO, il existe, entre la perméabilité du centre du plateau vertébral et celle de la périphérie, une différence significative ( $p = 0.012$ ) qui est en moyenne de  $2,9 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  soit une perméabilité différentielle ((Central-Latéral)/Central) de 22,3 %. Par contre, dans le sens OC, nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence significative entre la périphérie et le centre des plateaux ( $p = 0.60$ ).

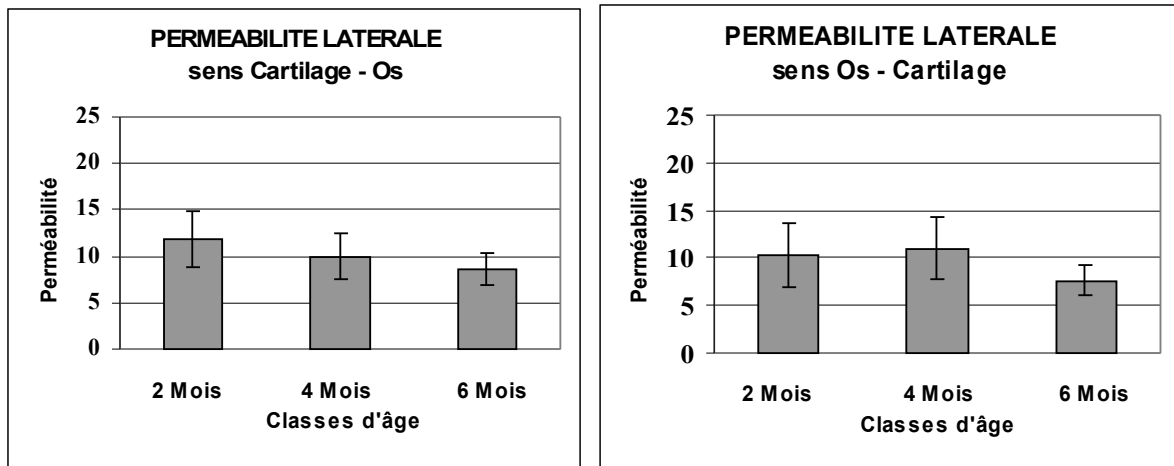
A l'âge de 6 mois, la perméabilité moyenne mesurée pour les échantillons centraux est de  $10,00 \pm 3,20 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens CO et de  $7,92 \pm 1,93 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens OC. La différence de perméabilité au centre entre les deux sens n'est pas significative à 6 mois ( $p = 0.08$ ) malgré une différentielle de 21 %.

Pour les échantillons latéraux, la perméabilité moyenne est de  $8,63 \pm 1,82 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens CO et de  $7,65 \pm 1,66 \cdot 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$  dans le sens OC. La perméabilité différentielle de 11.5 % n'est pas significative ( $p = 0.13$ ).

Dans le sens CO, la perméabilité différentielle ((Central-Latéral)/Central) de 14 % n'est pas significative ( $p = 0.16$ ) ni dans le sens OC ( $p = 0.71$ ).

Comme le montre la figure 32, on constate de manière relativement constante, une diminution des perméabilités avec l'avancement en âge.





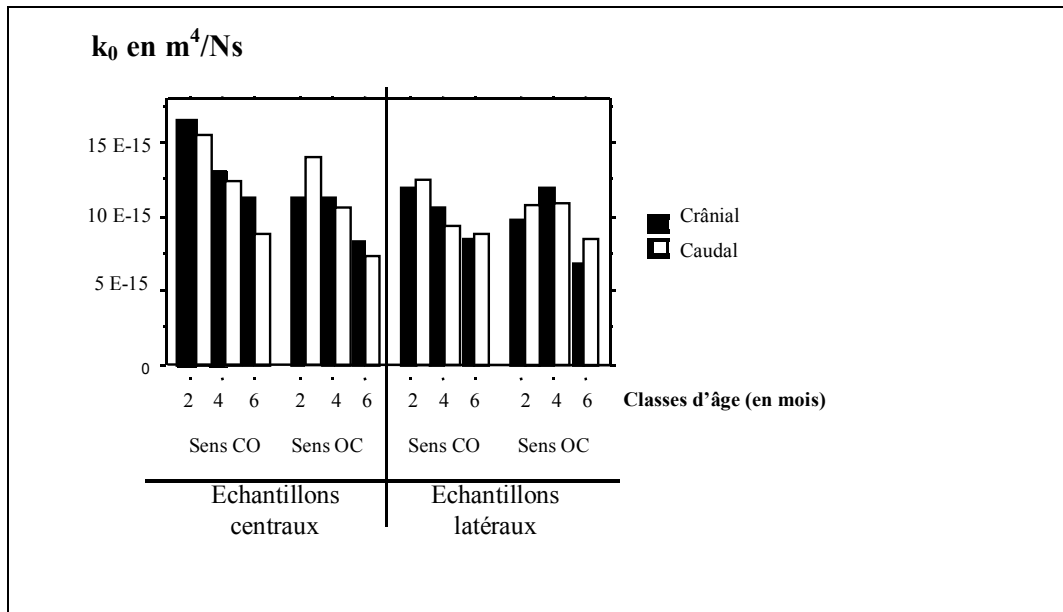
**Fig. 32:** Evolution avec l'âge des perméabilités (unités :  $10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$ )

Cette diminution est très nette au centre dans le sens CO, entre 2 et 4 mois ( $p = 0.044$ ), entre 4 et 6 mois ( $p = 0.045$ ) et entre 2 et 6 mois ( $p = 0.0003$ ). Néanmoins, cette baisse n'est pas toujours significative entre deux classes d'âge successives mais l'est toujours entre 2 et 6 mois comme nous le rappelons dans le Tableau X récapitulant les valeurs de p des tests de t étudiant l'influence de l'âge sur l'évolution des valeurs.

<b>p</b>	$k_0$ : Central CO	$k_0$ : Latéral CO	$k_0$ : Central OC	$k_0$ : Latéral OC
2 mois vs 4 mois	0,0440	0,0800	0,4400	0,5700
4 mois vs 6 mois	0,0450	0,0900	0,0060	0,0020
2 mois vs 6 mois	0,0003	0,0009	0,0300	0,0200

Comme le montre la figure 33, il n'y a pas de différence significative entre les plateaux crânial et caudal. Les valeurs suivent le même profil avec la maturation squelettique.

**Tableau X:** Influence de l'âge sur les perméabilités  $k_0$  : valeurs de p lors des tests de t bilatéraux



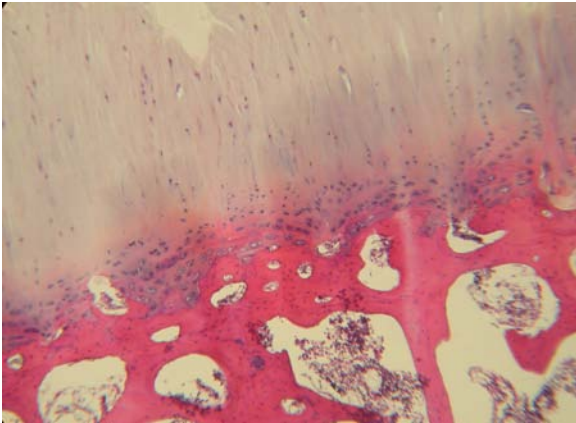
*Fig. 33: Influence de la localisation entre plateaux crânial et caudal sur la perméabilité  $k_0$ .*

### 3.2. Etude Histomorphométrique :

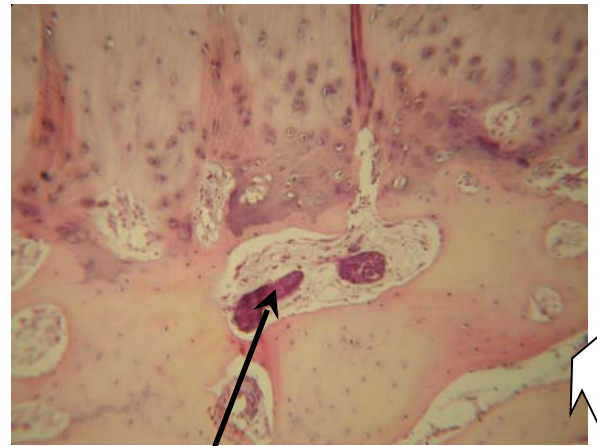
L'étude anatomopathologique a porté sur 25 échantillons d'animaux âgés de 2 mois (14 échantillons centraux et 11 périphériques), 11 à l'âge de 4 mois (7 centraux et 4 périphériques) et 11 à 6 mois (5 centraux et 6 périphériques).

Chaque échantillon a été observé au microscope et les différentes structures ont été identifiées comme le montrent les photos de la figure 34.

*Agrandissement* de l'interface cartilage du plateau vertébral- os sous-chondral



*Agrandissement* : capillaires sanguins au contact du cartilage



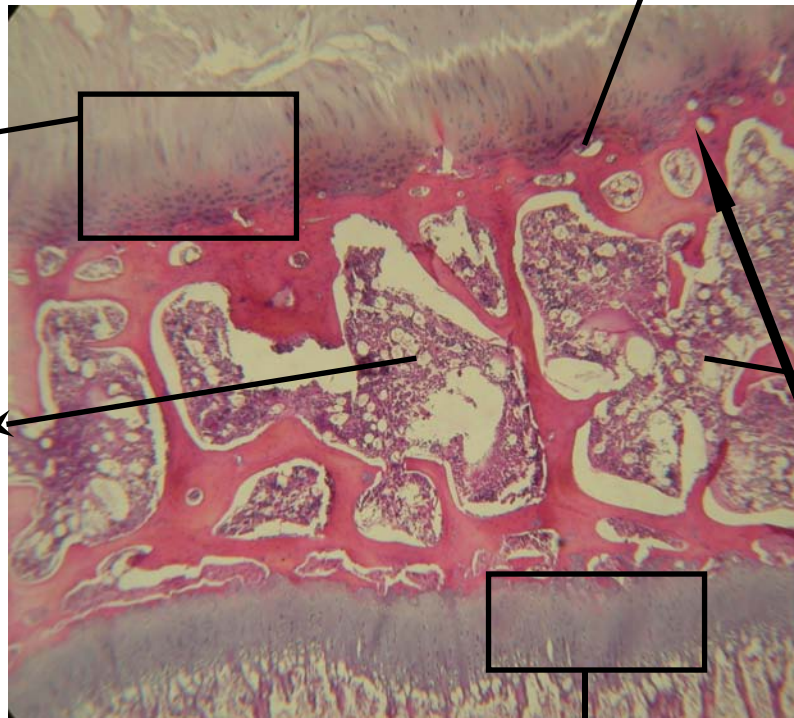
Cartilage du plateau vertébral

Espaces médullaires au contact du cartilage

Couche d'os sous-chondral

Cartilage de croissance

**Fig. 34 : Echantillon central : vue globale**



Les valeurs en millimètres de chaque structure sont récapitulées dans le Tableau XI.

		Epaisseur discale (mm)	Epaisseur du cartilage (mm)	Epaisseur os sous- chondral (mm)	Epaisseur cartilage de croissance (mm)	Epaisseur totale du plateau (mm)	Somme cartilage + Cartilage de croissance (mm)
2 mois	Central	0,95 ±0,28	0,25 ±0,10	1,97 ±0,27	0,36 ±0,08	2,59 ±0,34	0,61 ±0,12
	Périphérie	1,00 ±0,40	0,32 ±0,12	1,74 ±0,53	0,55 ±0,20	2,60 ±0,68	0,86 ±0,25
	p central vs périphérique	0,72	0,10	0,10	< 0,01	0,95	< 0,01
4 mois	Central	1,13 ±0,53	0,23 ±0,07	2,21 ±0,42	0,34 ±0,08	2,73 ±0,40	0,52 ± 0,13
	Périphérie	1,75 ±0,36	0,27 ±0,08	2,14 ±0,93	0,87 ±0,45	3,27 ±0,86	1,14 ±0,44
	p central vs périphérique	0,10	0,48	0,87	0,03	0,23	0,02
6 mois	Central	0,69 ±0,32	0,17 ±0,03	1,84 ±0,38	0,3 ±0,11	2,3 ±0,29	0,47 ±0,13
	Périphérie	1,22 ±0,96	0,25 ±0,05	1,52 ±0,53	0,45 ±0,22	2,23 ±0,65	0,70 ±0,23
	p central vs périphérique	0,32	0,03	0,34	0,22	0,82	0,12

On constate ainsi qu'il n'y pas de différence d'épaisseur de disque laissé en place entre échantillons centraux et latéraux.

**Tableau XI :** Mesures des différents constituants des plateaux vertébraux ; p = seuil de probabilité

A l'âge de 2 mois, le CPV a tendance à être plus fin au centre (0,25 ±0,1 mm) qu'à la périphérie (0,32 ±0,12 mm) mais de façon non significative (p = 0.10), à l'inverse de l'os sous-chondral qui a tendance à être plus épais au centre (1,97 ±0,27 mm vs 1,74 ±0,53 mm en périphérie) (p = 0.10). En ce qui concerne le cartilage de croissance, il est significativement plus épais au niveau des échantillons périphériques (0,55 ±0,20 mm) que centraux (0,36 ±0,08 mm) (p = 0.005). Si l'on additionne maintenant la hauteur des 2 couches de cartilage (CPV + cartilage de croissance) sur les échantillons de 2 mois, on constate que l'épaisseur de la couche cartilagineuse est nettement supérieure à la périphérie (p = 0.004) alors que l'épaisseur totale du plateau (CPV + os sous-chondral + cartilage de croissance) est identique (p = 0.77) au niveau de l'ensemble du plateau. Le fait que la couche cartilagineuse soit plus fine au centre du plateau vertébral peut expliquer en partie la perméabilité plus importante de la zone centrale.

On retrouve globalement les mêmes tendances aux différents âges. Sur l'ensemble des 3 classes d'âge, le CPV a tendance à être plus fin au centre (0,22 ± 0,06 mm) qu'à la périphérie (0,28 ± 0,08) sans que cela soit significatif (p=0.07), sauf à 6 mois (où p=0.03) ; à la

différence du cartilage de croissance significativement ( $p=0.0007$ ) plus épais en périphérie ( $0,62 \pm 0,29$  mm) qu'au centre ( $0,33 \pm 0,09$  mm) sauf à 6 mois ( $p=0.22$ ). Il semble exister aussi avec l'âge une diminution à la fois de l'épaisseur du cartilage de croissance ( $0,45 \pm 0,14$  mm à 2 mois vs  $0,37 \pm 0,16$  mm à 6 mois) et de l'épaisseur du CPV ( $0,28 \pm 0,11$  mm à 2 mois vs  $0,21 \pm 0,04$  mm à 6 mois) mais cela n'est pas significatif ( $p=0,4$ ).

Les données relatives à la vascularisation et aux calcifications aux différentes classes d'âge sont regroupées dans le Tableau XII.

		Capillaires				Espaces médullaires				Calcifications			
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
<i>Abondance</i>													
:													
2 mois	Central	0	9	5	0	0	0	2	12	0	8	5	1
	Périphérique	0	4	6	1	0	0	2	9	1	3	4	3
4 mois	Central	0	4	1	2	0	0	5	2	0	3	4	0
	Périphérique	0	1	3	0	0	0	3	1	0	2	1	1
6 mois	Central	0	1	4	0	0	0	5	0	0	3	2	0
	Périphérique	0	4	2	0	0	0	6	0	0	1	4	1

**Tableau XII :** Evaluation semi-quantitative de la vascularisation et des calcifications au niveau des CPV : 0=absente, 1=peu abondante, 2=abondante et 3=très abondante.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence significative entre la vascularisation au centre par rapport à la périphérie, les espaces médullaires étant partout en quantité très abondante (coté à 3) ou abondante (coté à 2), ni de différences en fonction des différentes classes d'âge. En ce qui concerne les calcifications, il semblerait qu'elles soient plus fréquentes en périphérie sans que cela soit très marqué. Mais ces conclusions ne sont pas définitives compte tenu du trop faible nombre d'échantillons étudiés à ce jour.

## **PARTIE 4 : DISCUSSION**

Nous avons effectué les mesures avec une méthode de mesure directe, en compression semi-confinée<sup>16,35</sup>. Plusieurs raisons nous ont fait préférer cette méthode au test en

compression confinée (mesure indirecte). Il est tout d'abord difficile d'obtenir une chambre de confinement optimale<sup>16</sup> sans induire, dans la périphérie de l'échantillon, des forces de friction pouvant affecter les valeurs des paramètres mécaniques<sup>35</sup> ; les interdigitations à la surface du cartilage au travers des pores du filtre peuvent induire une augmentation de la résistance du tissu lors de la compression<sup>16</sup>. De plus, ce type de protocole expérimental traduit, à notre avis, un état plus physiologique, une véritable perméabilité, c'est à dire le passage d'un fluide au travers de l'échantillon à la différence du type de « mesures indirectes » par des tests en compression confinée qui semble davantage étudier le caractère visco-élastique<sup>42</sup> de la phase solide que son caractère perméable. Enfin, ce dispositif permet de mesurer la perméabilité dans les deux sens (CPV-os et os-CPV) à la différence des autres expérimentations.

Ainsi, nous avons pu développer un dispositif de mesure fiable permettant de trouver des valeurs en accord avec celles de la littérature. Nous avons amélioré le dispositif utilisé par Accadbled en 2003 dans le même laboratoire, qui n'était pas suffisamment précis.

La technique de conservation des échantillons utilisée s'est avérée efficace. Le conditionnement de nos échantillons a prouvé l'absence de modifications par la congélation selon le protocole que nous avons suivi<sup>9,71</sup>. Ce résultat est intéressant pour des expériences ultérieures ; si l'on veut, par exemple, augmenter la durée d'enregistrement, le temps de manipulation sera allongé et la conservation des échantillons par congélation sera plus adaptée.

Le choix de l'agneau comme modèle animal s'est révélé judicieux étant donné qu'il nous a permis d'obtenir de nombreux échantillons de disques intervertébraux, issus d'animaux de même lignée, de constitution proche de celle de l'homme. En effet, peu de rachis humains sont disponibles pour de telles études. L'utilisation de rachis de moutons a permis de réaliser de nombreuses mesures et ainsi d'obtenir des résultats statistiques significatifs.

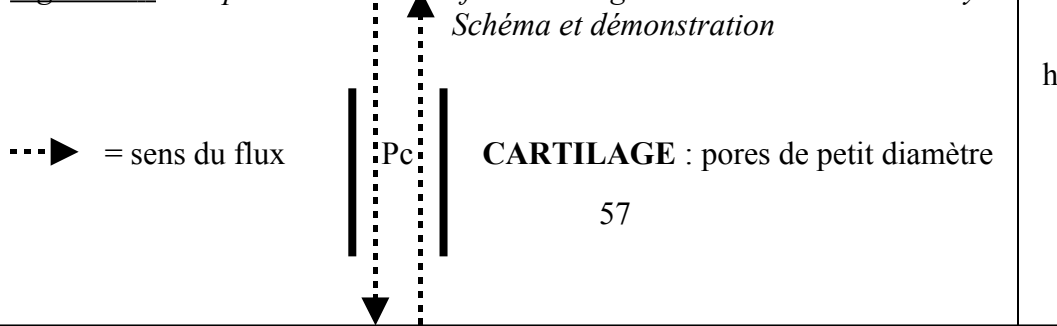
Cette étude montre que la perméabilité a une valeur plus importante dans la région centrale des plateaux vertébraux. En effet, c'est à ce niveau que le cartilage est le plus fin, la différence étant encore plus marquée lorsque l'on considère l'épaisseur du cartilage du plateau vertébral (CPV) additionnée à celle du cartilage de croissance. De plus, le centre du

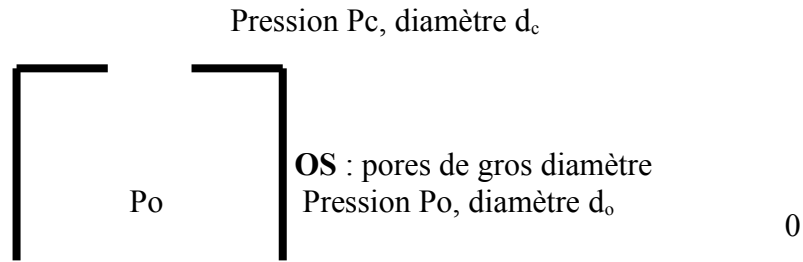


plateau, en regard du nucleus pulposus, est plus richement vascularisé (avec la présence de capillaires et de contacts médullaires) que la périphérie. Notre étude histomorphométrique, qui n'a pu être que qualitative sur ce point, n'a pas confirmé ces données de la littérature<sup>14,47,58,67</sup>. Le fait que les plateaux vertébraux soient plus perméables dans leur région centrale laisse sous-entendre que l'intégrité des disques intervertébraux dépend avant tout des échanges effectués dans cette zone.

La direction du flux a eu une influence significative sur les valeurs de la perméabilité. Mais, alors que Ayotte et coll.<sup>8</sup> avaient pu montrer que la résistance à l'écoulement était près de 40 fois supérieure dans le sens CPV-os que dans le sens os-CPV (mais ils n'ont pas publié de valeurs brutes chiffrées), notre étude chiffrée n'a pas abouti à un tel rapport. Au contraire, nous avons trouvé une perméabilité dans le sens CPV-Os (CO) plus élevée que dans le sens Os-CPV (OC), avec un rapport (CO/OC) ne variant que de 0,91 à 1,38. Ces valeurs semblent liées aux phénomènes de perte de charge comme on peut le voir dans une conduite hydraulique. En effet, des changements de diamètre de conduites provoquent l'apparition de gradients de pression au sein du fluide qui s'écoule. Comme a pu le montrer notre étude histologique, la transition os spongieux-cartilage est brutale et s'associe à de brusques changements de diamètre des pores où cheminent les liquides. Les pores au niveau du cartilage sont de l'ordre de la centaine ou du milliers d'Å, tandis qu'au niveau de l'os spongieux, ceux-ci ont une taille qui peut aller de 1/10<sup>e</sup> à 1 millimètre. En outre, il existe deux zones de transition dont les effets pourraient se cumuler : la zone CPV-os spongieux et la zone os spongieux-cartilage de croissance. Si on applique à notre situation les règles des écoulements de fluides dans des conduites, où la taille des pores au niveau de l'os est grande devant celles du cartilage, on peut montrer que la variation de pression dans le sens os spongieux – CPV ( $\Delta p_{co}$ ) est inférieure à  $\Delta p_{oc}$ . En appliquant ensuite la loi de Darcy on montre que la perméabilité dans le sens CPV-os ( $k_{co}$ ) est supérieure à la perméabilité dans le sens os-CPV ( $k_{oc}$ ) (voir figure 35).

*Figure 35 : Comparaison de l'interface cartilage – os avec une conduite hydraulique.*





Afin d'appliquer les lois des écoulements de fluide dans une conduite hydraulique rectiligne, on fait l'hypothèse que le fluide est parfait et incompressible.

1- Soit le **débit volumique** :  $Q_v = d_c \cdot v_c = d_o \cdot v_o$  ( $d$  : diamètre ;  $v$  : vitesse)

2- On applique le **théorème de Bernoulli** :  $\rho(v^2/2) + P + \rho gh = \text{constante}$

avec  $\rho$  : masse volumique du liquide,  $h$  : hauteur du liquide et  $g$  : accélération de la pesanteur.

3- On a donc les relations suivantes :  $\rho(v_c^2/2) + P_c + \rho gh = \text{constante}$

et  $\rho(v_o^2/2) + P_o = \text{constante}$

D'où :  $P_c - P_o = -\rho(v_c^2 - v_o^2)/2 - \rho gh$

Or  $d_o > d_c$  donc d'après la formule du débit :  $v_c > v_o$

On en déduit que  $P_c - P_o < 0$  alors:  $\Delta P_{co} < \Delta P_{oc}$ .

4- La **loi de Darcy** définit la facilité avec laquelle 1 fluide traverse un matériau poreux.

$$k = (Q/\Delta p) \cdot (h/A) \quad \text{avec :}$$

- $k$ : la perméabilité, exprimée en  $m^4 / N.s$ .
- $Q$  : le volume du flux par unité de temps
- $h$  : la hauteur de l'échantillon
- $\Delta p$  : la différence de pression de part et d'autre de l'échantillon
- $A$  : la surface de l'échantillon.

Donc, d'après la loi de Darcy, si  $\Delta P_{co} < \Delta P_{oc}$ , alors  $k_{co} > k_{oc}$

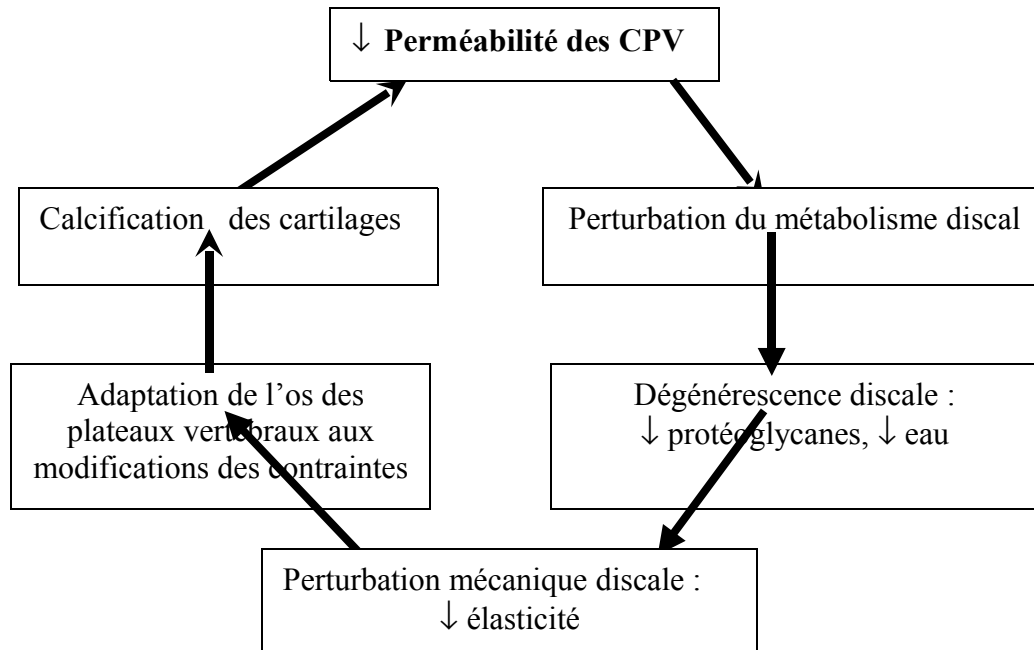
(car  $Q$ ,  $h$  et  $A$  sont des constantes positives).

Toutefois, les hypothèses simplificatrices que l'on avance en faisant ce raisonnement sont nombreuses : un seul changement brusque de diamètre de « conduites », écoulement continu... Il ne peut s'agir là que d'une approche qualitative car on ne dispose pas de valeurs chiffrées précises et fiables sur lesquelles s'appuyer.

L'influence de la maturation osseuse sur les valeurs mesurées confirme les résultats qualitatifs obtenus par certains auteurs grâce à des études IRM<sup>2,32,48,49</sup>, qui avaient montré que des plateaux vertébraux immatures étaient plus perméables que des plateaux adultes. Cette baisse de perméabilité avec l'âge est sous-tendue par des remaniements histologiques : d'une part, les calcifications à l'interface CPV-os sous-chondral deviennent continues et plus épaisses, d'autres part, les vaisseaux nourriciers sont progressivement obstrués. Nous n'avons pas constaté ces phénomènes ; cela est probablement dû à l'âge des animaux choisis, encore immatures à 6 mois. Néanmoins, nous avons montré une diminution des valeurs mesurées avec la croissance.

La structure des CPV n'est pas figée : ils peuvent subir des remaniements en réponse aux sollicitations mécaniques « extérieures ». Des calcifications peuvent ainsi se développer en regard de zones de stress comme l'ont constaté Urban et coll.<sup>69</sup> au cours du développement des scolioses. Les plateaux vertébraux étant le siège d'intenses échanges, la conséquence de ces remaniements va elle-même retentir sur le métabolisme du disque intervertébral.

Il sera donc utile de préciser les rapports existant entre, d'une part, la modification du profil des contraintes qui s'exercent sur les plateaux vertébraux et les disques et, d'autre part, les modifications histologiques notamment les calcifications observées ; ces dernières étant reconnues pour être une cause de la chute de la perméabilité au niveau du cartilage du plateau vertébral. Il a été montré que ce phénomène perturbait les échanges nutritifs du disque et qu'il pouvait donc être une cause de la dégénérescence discale. Or un disque dégénéré ne remplit plus ses fonctions mécaniques, ce qui induit une modification des contraintes subies par les plateaux vertébraux adjacents qui s'adaptent alors par une série de modifications histologiques. Ces dernières peuvent elles aussi mettre en péril la perméabilité. Ceci fait apparaître un véritable cercle vicieux sans que l'on soit en mesure de dire quel est le primum movens (Fig. 36). On comprend dès lors que cette donnée physiologique qu'est la perméabilité des CPV semble être au cœur de la physiopathologie de nombreux états pathologiques.



*Fig.36 : Cercle vicieux de la perméabilité*

## CONCLUSION

La perméabilité des plateaux vertébraux semble être une donnée « clé » pour la compréhension du comportement mécanique du disque intervertébral. D'elle vont dépendre les échanges de fluides entre les différents éléments mis en jeu dans la mécanique vertébrale, mais elle va aussi gouverner les échanges nutritifs et participer au maintien de l'homéostasie discale. Il faut désormais intégrer le fait que la perméabilité de ce tissu a un rôle très important dans le comportement physiologique et biomécanique des segments vertébraux, mais obtenir sa quantification fiable est difficile. En plus des variations inter-individuelles, comme on le retrouve dans le monde vivant, il existe une hétérogénéité avec le centre du plateau qui apparaît plus perméable que la périphérie. La direction du flux semble intervenir aussi de manière importante. Ces deux paramètres peuvent induire la création de « courants » de circulation préférentiels entre le disque et le corps vertébral. La maturation squelettique est un facteur primordial dans l'évolution de la perméabilité qui diminue avec l'âge. Ces données sont une ouverture à des recherches futures pour la compréhension des remaniements dégénératifs qui existent au niveau des disques intervertébraux et au niveau des plateaux, ainsi que les perturbations mécaniques qui leur sont associées. Les conséquences locales sur la perméabilité que pourraient générer des déformations et des contraintes au niveau de l'articulation disco-vertébrale semblent être une voie d'étude dans la compréhension de la physiopathologie des scolioses et des autres affections rachidiennes.

## Annexe I : Valeurs des perméabilités (unités : $10^{-15}$ m<sup>4</sup>/N.s.) du groupe de 2 mois.

<b>Mouton N°1</b>		Central		Périphérie	
Sens de mesure		CO	OC	CO	OC
Vertèbre	Niveau				
L1	Crânial	15,10	13,00	8,28	8,54
	Caudal	16,10	13,10	11,40	11,10
L2	Crânial	13,70	13,10	12,90	6,94
	Caudal	85,60	10,50	10,20	7,67
L3	Crânial	23,30	12,70	15,60	13,10
	Caudal	15,50	--	13,40	19,30
L4	Crânial	12,60	5,39	--	--
	Caudal	24,60	18,90	16,80	9,04
L5	Crânial	14,10	--	6,55	7,12
	Caudal	13,10	11,20	--	--

<b>Mouton N°2</b>		Central		Périphérie	
Sens de mesure		CO	OC	CO	OC
Vertèbre	Niveau				
L1	Crânial	9,88	7,67	8,68	15,60
	Caudal	17,20	11,20	--	--
L2	Crânial	22,20	5,39	12,50	8,81
	Caudal	19,00	4,94	10,70	12,20
L3	Crânial	21,60	12,20	15,40	9,14
	Caudal	10,70	--	--	--
L4	Crânial	19,20	--	12,10	8,71
	Caudal	--	--	12,60	9,15
L5	Crânial	19,60	13,60	15,60	--
	Caudal	1,93	1,11	7,46	7,57

**Annexe II** : Valeurs des perméabilités (unités :  $10^{-15}m^4/N.s$ ) du groupe de 4 mois.

<b>Mouton N°3</b>		Central		Périphérie	
Sens		CO	OC	CO	OC
Vertèbre	Niveau				
L1	Crânial	7,97	8,77	--	13,0
	Caudal	19,10	12,00	9,31	10,70
L2	Crânial	13,30	8,84	8,94	7,70
	Caudal	9,14	10,60	8,24	6,99
L3	Crânial	16,40	16,60	12,60	10,90
	Caudal	6,70	9,91	6,36	11,90
L4	Crânial	21,70	9,50	--	--
	Caudal	--	--	10,40	11,10
L5	Crânial	--	--	6,65	4,13
	Caudal	--	--	--	--

<b>Mouton N°4</b>		Central		Périphérie	
Sens		CO	OC	CO	OC
Vertèbre	Niveau				

Mesure de la perméabilité des plateaux vertébraux

L1	Crânial	11,80	14,60	11,20	14,50
	Caudal	13,40	12,90	9,49	10,40
L2	Crânial	12,50	9,30	13,90	12,80
	Caudal	--	--	13,80	10,40
L3	Crânial	10,20	9,03	11,20	14,60
	Caudal	13,40	--	11,20	11,20
L4	Crânial	11,20	12,90	10,90	16,40
	Caudal	13,20	7,39	4,25	4,97
L5	Crânial	13,10	13,00	9,48	13,90
	Caudal	--	--	--	--

**Annexe III:** Valeurs des perméabilités (unités:  $10^{-15}$  m<sup>4</sup>/N.s.) du groupe de 6 mois.

<b>Mouton N°5</b>		Central		Périphérie	
Sens		CO	OC	CO	OC
Vertèbre	Niveau				
L1	Crânial	--	--	--	--
	Caudal	10,90	10,20	12,40	8,69
L2	Crânial	8,48	7,86	7,75	10,40
	Caudal	10,40	6,98	10,40	8,41
L3	Crânial	13,50	10,30	11,70	--
	Caudal	13,10	7,60	9,28	10,20
L4	Crânial	--		7,74	5,82
	Caudal	6,02	indéterminée	7,18	6,98
L5	Crânial	--	--	8,65	7,58
	Caudal	--	--	--	--

<b>Mouton N°6</b>		Central		Périphérie	
Sens		CO	OC	CO	OC
Vertèbre	Niveau				
L1	Crânial	12,00	11,50	7,28	5,43
	Caudal	--	--	10,30	10,40
L2	Crânial	10,30	5,19	9,29	5,71

	Caudal	8,31	indéterminée	7,96	8,26
L3	Crânial	17,80	7,18	6,76	5,39
	Caudal	7,46	7,15	4,70	7,71
L4	Crânial	7,91	--	7,68	8,20
	Caudal	5,49	5,16	8,63	6,83
L5	Crânial	8,49	8,02	9,00	6,34
	Caudal	--	--	--	--

## Références Bibliographiques

1. ACCADBLED, F.: Mesure de la perméabilité du plateau vertébral : influence de la localisation et du sens du flux. Diplôme d'études approfondies en génie biologique et médical d'Ile de France, 2003, *Laboratoire de Biomécanique*, Toulouse, Université de TOULOUSE III.
2. AKANSEL, G.; HAUGHTON, V. M.; PAPKE, R. A.; and CENSKY, S. C.: Diffusion into human intervertebral disks studied with MR and Gadoteridol. *American Journal of Neuroradiology*, 1997, 18: 443-445.
3. AKESON, W. H.; WOO, S. L.-Y.; TAYLOR, T. K. F.; GHOSH, P.; and BUSHHELL, G. R.: Biomechanics and biochemistry of the intervertebral disc: The need for correlation studies. *Clinical Orthopaedics and Related Research.*, 1977, 129 : 133-140.
4. AOKI, J.; YAMAMOTO, I.; KITAMURA, N.; SONE, T.; ITOH, H.; TORIZUKA, K.; and TAKASU, K.: End plate of the discovertebral joint : degenerative change in the elderly adult. *Radiology*, 1987, 164 : 411-414.
5. ARIGA, K.; MIYAMOTO, S.; NAKASE, T.; OKUDA, S. y.; MENG, W.; YONENOBU, K.; and YOSHIKAWA, H.: The relationship between apoptosis of endplate chondrocytes and aging and degeneration of the intervertebral disc. *Spine*, 2001, 26(22) : 2414-2420.



6. ATESHIAN, G. A.; WARDEN, W. H.; KIM, J. J.; GRELSAMER, R. P.; and MOW, V. C.: Finite deformation biphasic material properties of bovine articular cartilage from confined compression experiments. *Journal of Biomechanics*, 1997 30(11/12) : 1157-1164.
7. AYOTTE, D.; TEPIC, S.; and ITO, K.: Fluid flow in the intervertebral disc and its relation to disc degeneration. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 1999, 81-B Suppl 1 : 67.
8. AYOTTE, D. C.; ITO, K.; and TEPIC, S.: Direction-dependant resistance to flow in the end-plate of the intervertebral disc: an ex vivo study. *Journal of Orthopaedic Research*, 2001, 19 : 1073-1077.
9. BASS, E. C.; DUNCAN, N. A.; HARIHARAN, J. S.; DUSICK, J. B. S.; BUEFF, H. U.; and LOTZ, J. C.: Frozen storage affects the compressive creep behaviour of the porcine intervertebral disc. *Spine*, 1997, 22(24) : 2867-2876.
10. BERNICK, S., and CAILLIET, R.: Vertebral end-plate changes with aging of human vertebrae. *Spine*, 1982, 7(2) : 97-102.
11. BEST, B. A.; GUILAK, F.; SETTON, L. A.; SAED-NEJAD, F.; RATCLIFFE, A.; WEIDENBAUM, M.; and MOW, V. C.: Compressive mechanical properties of the human annulus fibrosus and their relationship to biochemical composition. *Spine*, 1994, 19(2) : 212-221.
12. BOTSFORD, D. J.; ESSES, S. I.; and OGILVIE-HARRIS, D. J.: In vivo diurnal variation in intervertebral disc volume and morphology. *Spine*, 1994, 19(8) : 935-940.
13. BRIGHTON, C. T.; SHADLE, C. A.; JIMENEZ, S. A.; IRWIN, J. T.; LANE, J. M.; and LIPTON, M.: Articular cartilage preservation and storage Part I Application of tissue culture techniques to the storage of viable articular cartilage. *Arthritis and Rheumatism*, 1979, 22(10) : 1093-1101.
14. BRODIN, H.: Paths of nutrition in articular cartilage and intervertebral discs. *Acta Orthopædica Scandinavica*, 1955, 24(3) : 177-183.

15. BURSAC, P. M.; OBITZ, T. W.; EISENBERG, S. R.; and STAMENOVIC, D.: Confined and unconfined stress relaxation of cartilage: appropriateness of a transversely isotropic analysis. *Journal of Biomechanics*, 1999, 32 : 1125-1130.
16. BUSCHMANN, M. D.; SOULHAT, J.; SHIRAZI-ADL, A.; JURVELIN, J. S.; and HUNZIKER, E. B.: Confined compression of articular cartilage : linearity in ramp and sinusoidal tests and the importance of interdigitation and incomplete confined. *Journal of Biomechanics*, 1998, 31 : 171-178.
17. CHEN, A. C.; BAE, W. C.; SCHINAGL, R. M.; and SAH, R. L.: Depth- and strain-dependent mechanical and electromechanical properties of full-thickness bovine cartilage in confined compression. *Journal of Biomechanics*, 2001, 34 : 1-12.
18. COSTI, J. J.; HEARN, T. C.; and FAZZALARI, N. L.: The effect of hydration on the stiffness of intervertebral disc in an ovine model. *Clinical Biomechanics*, 2002, 17(6) : 446-455.
19. COTTEN, A., and DEMONDION, X.: Développement et vieillissement du disque intervertébral lombaire. *Revue du Rhumatisme*, 2000, 67 Suppl 4 : 207-213.
20. CROCK, H. V., and M., G.: Anatomic studies of the circulation in the region of the vertebral end-plate in adult greyhound dogs. *Spine*, 1984, 9(7) : 702-706.
21. DIMEGLIO, A., and BONNEL, F.: Le rachis en croissance. Springer-Verlag France, Paris, 1990, 1<sup>o</sup> édition, 460 pages.
22. DONISCH, E. W., and TRAPP, W.: The cartilage endplates of the human vertebral column (Some considerations of postnatal development). *The Anatomical Record*, 1971, 169 : 705-16.
23. ENNEKING, W. F., and CAMPANACCI, D. A.: Retrieved human allografts. A clinicopathological study. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 2001, 83-A(7) : 971-986.
24. ENNEKING, W. F., and MINDELL, E. R.: Observations on massive retrieved human allografts. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 1991, 73-A(8) : 1123-1142.

25. FERGUSSON, S. J.; ITO, K.; and Lutz-P., N.: Fluid flow and convective transport of solutes within the intervertebral disc. *Journal of Biomechanics*, 2004, 37 (2) : 213-221.
26. GRUBER, H. E.; GORDON, B.; WILLIAMS, C.; NORTON, J.; and HANLEY, E. N.: Bone mineral density of lumbar vertebral end plates in the aging male sand rat spine. *Spine*, 2003, 28(16) : 1766-1772.
27. GU, W. Y.; MAO, X. G.; FOSTER, R. J.; WEIDENBAUM, M.; MOW, V. C.; and RAWLINS, B. A.: The anisotropic hydraulic permeability of human lumbar annulus fibrosus. Influence of age, degeneration, direction and water content. *Spine*, 1999, 24(23) : 2449-2455.
28. HOLM, S.; MAROUDAS, A.; URBAN, J. P. G.; SELSTAM, G.; and NACHEMSON, A.: Nutrition of the intervertebral disc : solute transport and metabolism. *Connective Tissue Research*, 1981, 8 : 101-119.
29. HOUBEN, G. B.; DROST, M. R.; HUYGHE, J. M.; JANSSEN, J. D.; and HUSON, A.: Nonhomogenous permeability of canine annulus fibrosus. *Spine*, 1997, 22(1) : 7-16.
30. HUMZAH, M. D., and SOAMES, R. W.: Human intervertebral disc: structure and function. *The Anatomical Record*, 1988, 220 : 337-356.
31. IATRIDIS, J. C.; SETTON, L. A.; FOSTER, R. J.; RAWLINS, B. A.; WEIDENBAUM, M.; and MOW, V. C.: Degeneration affects the anisotropic and nonlinear behaviours of human annulus fibrosus in compression. *Journal of Biomechanics*, 1998, 31 : 535-544.
32. IBRAHIM, M. A.; HAUGHTON, V. M.; and HYDE, J. S.: Effect of disk maturation on diffusion of low-molecular-weight gadolinium complexes : an experimental study in rabbits. *American Journal of Neuroradiology*, 1995, 16 : 1307-1311.
33. KATZ, M. M.; HARGENS, A. R.; and GARFIN, S. R.: Intervertebral disc nutrition. Diffusion versus convection. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1986, 210 : 243-245.

34. KAUPILLA, L. I.: Ingrowth of blood vessels in disc degeneration. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 1995, 77-A(1) : 26-31.
35. KORHONEN, R. K.; LAASANEN, M. S.; TÖYRÄS, J.; RIEPPO, J.; HIRVONEN, J.; HELMINEN, H. J.; and JURVELIN, J. S.: Comparison of the equilibrium response of articular cartilage in unconfined compression, confined compression and indentation. *Journal of Biomechanics*, 2002, 35 : 903-909.
36. KURUNLHATI, M.; KERTTULA, L.; JAUHAINEN, J.; KARPPINEN, J.; and TERVONEN, O.: Correlation of diffusion in lumbar intervertebral disks with occlusion of lumbar arteries: a study in adult volunteers. *Radiology*, 2001, 221 : 779-786.
37. LAI, M. W., and MOW, V. C.: Drag-induced compression of articular cartilage during a permeation experiment. *Biorheology*, 1980, 17 : 111-123.
38. LI, L. P.; SOULHAT, J.; BUSCHMANN, M. D.; and SHIRAZI-ADL, A.: Nonlinear analysis of cartilage in unconfined ramp compression using a fibril reinforced poroelastic model. *Clinical Biomechanics*, 1999, 14 : 673-682.
39. LOTZ, J. C.; COLLIUO, O. K.; CHIN, J. R.; DUNCAN, N. A.; and LIEBENBERG, E.: Compression-induced degeneration of the intervertebral disc : an in vivo mouse model and finite-element study. *Spine*, 1998, 23(23) : 2493-2506.
40. MALININ, T. I.; WAGNER, J. L.; PITA, J. C.; and LO, H.: Hypothermic storage and conservation of cartilage. *Clinical Orthopaedics and Related Research.*, 1985, 197 : 15-26.
41. MALKO, J. A.; HOUTTON, W. C.; and FAJMAN, W. A.: An *in vivo* Magnetic Resonance Imaging study of changes in the volume (and fluid content) of the lumbar intervertebral disc during a simulated diurnal load cycle. *Spine*, 1999, 24(10) : 1015-1022.
42. MANSOUR, J. M., and MOW, V. C.: The permeability of articular cartilage under compressive strain and at high pressures. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 1976, 58-A(4) : 509-516.

43. MAROUDAS, A.: Biophysical chemistry of cartilaginous tissues with special reference to solute and fluid transport. *Biorheology*, 1975, 12(81) : 233-248.
44. MAROUDAS, A.; STOCKWELL, R. A.; NACHEMSON, A.; and URBAN, J. P. G.: Factors involved in the nutrition of the human intervertebral disc : cellularity and diffusion of glucose *in vitro*. *Journal of Anatomy*, 1975, 120(1) : 113-130.
45. MOORE, R. J.: The vertebral end-plate: what do we know? *European Spine Journal*, 2000, 9 : 92-96.
46. MOW, V. C.; HOLMES, M. H.; and LAI, M. W.: Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage : a review. *Journal of Biomechanics*, 1984, 17(5): 377-394.
47. NACHEMSON, A.; LEWIN, T.; MAROUDAS, A.; and FREEMAN, M. A. R.: In vitro diffusion of dye through the end-plates and the annulus fibrosus of human lumbar inter-vertebral discs. *Acta Orthopædica Scandinavica*, 1970, 41(6): 589-607.
48. NGUYEN-MINH, C.; HAUGHTON, V. M.; PAPKE, R. A.; and CENSKY, S. C.: Measuring diffusion of solutes into intervertebral disks with MR Imaging and paramagnetic contrast medium. *American Journal of Neuroradiology*, 1998, 19 : 1781-1784.
49. NGUYEN-MINH, C.; RILEY III, L.; HO, K.-C.; XU, R.; and HAUGHTON, V. M.: Effect of degeneration of the intervertebral disk on the process of diffusion. *American Journal of Neuroradiology*, 1997, 18 : 435-442.
50. OKI, S.; MATSUDA, Y.; SHIBATA, T.; OKUMURA, H.; and DESAKI, J.: Morphologic differences of the vascular buds in the vertebral endplate : scanning electron microscopy study. *Spine*, 1996, 21(2) : 174-177.
51. PEDRONO, A.; BRIOT, J.; SALES DE GAUZY, J.; SEVELY, A.; and SWIDER, P.: Influence des migrations du fluide sur le comportement biomécanique d'un modèle éléments finis poro-élastique du segment vertébral lombaire. Communiqué édité par le Journal de la Recherche de l'université de Toulouse III, novembre 2002.

52. PENG, B.; HOU, S.; SHI, Q.; and JIA, L.: The relationship between cartilage end-plate calcification and disc degeneration: an experimental study. *Chinese Medical Journal*, 2001, 114.
53. PERLEWITZ, T. J.; HAUGHTON, V. M.; RILEY III, L.; NGUYEN-MINH, C.; and VARGHESE, G.: Effect of molecular weight on the diffusion of contrast media into cartilage. *Spine*, 1997, 22(23) : 2707-2710.
54. RANNOU, F.; POIRAUDEAU, S.; CORVOL, M.; and REVEL, M.: Biochimie et biologie du disque intervertébral. *Revue du Rhumatisme*, 2000, 67 Suppl 4 : 214-218.
55. RANNOU, F.; POIRAUDEAU, S.; CORVOL, M.; and REVEL, M.: Contraintes mécaniques et disque intervertébral lombaire. *Revue du Rhumatisme*, 2000, 67 Suppl 4 : 219-224.
56. REID, J. E.; MEAKIN, J. R.; ROBINS, S. P.; SKAKE, J. M. S.; and L., H. D. W.: Sheep lumbar intervertebral discs as models for human discs. *Clinical Biomechanics*, 2002, 17(4) : 312-314.
57. ROBERTS, S.; McCALL, I. W.; MENAGE, J.; HADDAWAY, M. J.; and EISENTEIN, S. M.: Does the thickness of the intervertebral subchondral bone reflect the composition of the intervertebral disc? *European Spine Journal*, 1997, 6 : 385-389.
58. ROBERTS, S.; MENAGE, J.; and URBAN, J. P. G.: Biochemical and structural properties of the cartilage end-plate and its relation to the intervertebral disc. *Spine*, 1989, 14(2) : 166-174.
59. ROBERTS, S.; URBAN, J. P. G.; EVANS, H.; and EISENTEIN, S. M.: Transport properties of the human cartilage endplate in relation to its composition and calcification. *Spine*, 1996, 21(4) : 415-420.
60. RODRIGO, J. J.; THOMPSON, E.; and TRAVIS, C.: deep-freezing versus 4° preservation of vascular osteocartilaginous shell allografts in rats. *Clinical Orthopaedics and Related Research.*, 1987, 218 : 268-275.

61. RUDERT, M., and Bernhard, T.: Lymph and blood supply of the human intervertebral disc. Cadaver study of correlations to discitis. *Acta Orthopædica Scandinavica*, 1993, 64(1) : 37-40.
62. SCHARCHAR, N. S., and McGANN, L. E.: Investigations of low-temperature storage of articular cartilage for transplantation. *Clinical Orthopaedics and Related Research.*, 1986., 208 : 146-150
63. SELARD, E.; SHIRAZI-ADL, A.; and URBAN, J. P. G.: Finite element study of nutrient diffusion in the human intervertebral disc. *Spine*, 2003, 28(17) : 1945-1953.
64. SETTON, L. A.; ZHU, W.; WEIDENBAUM, M.; RATCLIFFE, A.; and MOW, V. C.: Compressive properties of the cartilaginous end-plate of the baboon lumbar spine. *Journal of Orthopaedic Research*, 1993, 11 : 228-239.
65. TOMFORD, W. W.; DUFF, G. P.; and MANKIN, H. J.: Experimental freeze-preservation of chondrocytes. *Clinical Orthopaedics and Related Research.*, 1985, 197: 11-14.
66. TOMFORD, W. W.; R., F. G.; and MANKIN, H. J.: Studies on cryopreservation of articular cartilage chondrocytes. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 1984, 66-A(2) : 253-259.
67. URBAN, J. P. G.; HOLM, S.; MAROUDAS, A.; and NACHEMSON, A.: Nutrition of the intervertebral disc. An *in vivo* study of solute transport. *Clinical Orthopaedics and Related Research.*, 1977, 129 : 101-113.
68. URBAN, J. P. G.; HOLM, S.; MAROUDAS, A.; and NACHEMSON, A.: Nutrition of the intervertebral disc. Effect of fluid flow on solute transport. *Clinical Orthopaedics and Related Research.*, 1982, 170 : 296-302.
69. URBAN, M. R.; FAIRBANK, J. C. T.; ETHERINGTON, P. J.; LOH, L.; WINLOVE, C. P.; and URBAN, J. P. G.: Electrochemical measurement of transport into scoliotic intervertebral discs *in vivo* using nitrous oxide as a tracer. *Spine*, 2001, 26(8) : 984-990.

70. VAN DIEEN, J. H.; KINGMA, I.; MEIJER, R.; HÄNSEL, L.; and HUISKES, R.: Stress distribution changes in bovine vertebrae just below the endplate after sustained loading. *Clinical Biomechanics*, 2001, 16 Suppl 1 : S135-S142.
71. WAYNE, J. S.; AMIEL, D.; KWAN, M. K.; WOO, S. L.-Y.; FIERER, A.; and MEYERS, M. H.: Long-term storage effects on canine osteochondral allografts. *Acta Orthopædica Scandinavica*, 1990, 61(6) : 539-545.
72. WILKE, H.-J.; KETTLER, A.; and CLAES, L. E.: Are sheep spines a valid biomechanical model for human spines? *Spine*, 1997, 22(20) : 2365-2374.
73. WILKE, H.-J.; KETTLER, A.; WENGER, K. H.; and CLAES, L. E.: Anatomy of the sheep spine and its comparison to the human spine. *The Anatomical Record*, 1997, 247 : 542-555.
74. WILLIAMS, S. K.; AMILE, D.; BALL, S. T.; ALLEN, T.; WONGS, V. W.; CHEN, A. C.; SAH, R. L.; and BUGBEE, W. D.: Prolonged storage effects on the articular cartilage of fresh human osteochondral allografts. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 2003, 85-A(11) : 2111-2120.
75. WILLIAMSON, A. K.; CHEN, A. C.; and SAH, R. L.: Compressive properties and function-composition relationships of developing bovine articular cartilage. *Journal of Orthopaedic Research*, 2001, 19 : 1113-1121.



Toulouse, 2005

NOM : FROMENTIN

PRENOM : Audrey

TITRE : Influence de la localisation, de la direction du flux et de la maturation squelettique sur la perméabilité des plateaux vertébraux du mouton.

RESUME : L'apport de nutriments au disque intervertébral se fait principalement par les plateaux vertébraux. Cette étude vise à mesurer la perméabilité des plateaux en évaluant l'influence de la localisation et de la direction du flux, ainsi que de la maturation squelettique. Les mesures ont été réalisées avec des échantillons de plateaux vertébraux d'agneaux de 2, 4 et 6 mois, grâce à un dispositif de mesure direct. Les résultats ont montré que la partie centrale des plateaux est plus perméable que la périphérie, car elle est plus fine et davantage vascularisée. La perméabilité est également plus élevée lorsque le flux traverse le plateau dans le sens disque – os. Par ailleurs, la perméabilité diminue au cours de la croissance des agneaux, étant donné que le cartilage se calcifie et que les vaisseaux sanguins s'oblitérent. Cette même évolution est observée lors des scolioses et peut alors expliquer en partie la dégénérescence discale.

MOTS-CLES : plateau vertébral, disque intervertébral, perméabilité, mouton.

---

ENGLISH TITLE : Influence of location, fluid flow direction and bone tissue maturity on the permeability of vertebral end-plates of sheep.

ABSTRACT: The contribution of nutrients to the intervertebral disc is mainly done by vertebral end-plates. This study aims at measuring the permeability of the end-plate by evaluating the influence of the localization and the direction of flow, as well as the skeletal maturation. Measurements were carried out with samples from 2, 4 and 6 months old lambs' vertebral end-plate, thanks to a direct measurement device. Results showed that the central zone of the vertebral end-plate is more permeable than the periphery, because it is thinner and more vascularized. Thus, the permeability in the disc-vertebrae direction is greater than the permeability in the

vertebrae-disc direction. In addition, the permeability decreases with age, since the cartilage is calcified and blood vessels are obliterated. The same evolution is observed in scoliosis and could explain the degeneration of the intervertebral discs.

KEY WORDS: vertebral end-plates, intervertebral disc, permeability, sheep.