ÉVOLUTION AVEC L'ÂGE DES TAILLES DES ESPACES ET DES TRAVÉES DANS L'OS SPONGIEUX DE L'ENFANT ÉTUDIÉE PAR MESURE AUTOMATIQUE

Giulia WITMER **

(Manuscrit reçu le 31 octobre 1968)

RÉSUMÉ

Ce travail comprend :

I - La mise au point d'une méthode automatique qui à partir de la microradiographie d'une coupe d'os spongieux permet d'une part de mesurer les tailles des travées et des espaces et d'autre part d'évaluer la fraction de l'aire totale de la coupe occupée par les travées (masse osseuse); les mesures sont présentées sous une forme directement utilisable par un ordinateur;

II - L'application de la méthode à l'étude de ces paramètres dans la vertèbre de l'enfant.

* Ce travail a été réalisé dans les Laboratoires du Commissariat à l'Energie Atomique, Département de la Protection Sanitaire (Dr H. JAMMET - Centre d'Etudes Nucléaires de Fontenay-aux-Roses), en collaboration avec le Professeur J. LEFÈVRE (Hôpital des Enfants Malades, Service de Radiologie), dans le cadre de l'Association EURATOM/C.E.A. « Niveaux de contamination radioactive du milieu ambiant et de la chaîne alimentaire ».

** Attachée de recherche au Centre National de la Recherche Scientifique (Centre d'Etudes des maladies du métabolisme chez l'enfant, Prof. P. ROYER, Hôpital des Enfants Malades).

Les résultats obtenus montrent que :

- pendant les trois premiers mois de la vie, la fraction de l'aire totale occupée par les travées passe de 40 à 20 % ; la taille des travées varie peu tandis que celle des espaces augmente considérablement ;
- à partir du quatrième mois, la fraction de l'aire totale occupée par les travées se stabilise à 20 %, valeur analogue à celle obtenue pour une vertèbre d'adulte jeune ; la croissance de la taille des espaces médullaires se poursuit ;
- à partir de deux ans, la fraction de l'aire totale occupée par les travées reste constante, la taille de ces dernières augmente de même que celle des espaces ;
- les courbes de répartition des tailles des espaces reflètent plus fidèlement que la dimension moyenne la structure d'un os spongieux ; les calculs d'absorption d'énergie par la moelle osseuse après irradiation devraient donc être basés sur ces courbes.

SUMMARY

Firstly an automatic method has been developed in order to measure trabecular and medullary spaces sizes from the microradiography of a spongy bone section and to evaluate the fraction of the total area of the section formed by the trabeculae (bone mass) ; the measures are presented in a form directly suitable for computer processing.

Secondly the method has been applied to the study of these parameters in infant's vertebrae.

Our results have shown that :

during the first three months of life the portion of the total area occupied by the trabeculae decreased from 40 to 20 per cent ; the trabeculae varied little in size whereas the medullary spaces increased greatly ;

from the 4th. month onwards the portion of the total area occupied by the trabeculae settled at 20 per cent, a value similar to the value obtained for a young adult vertebra ; the size of the medullary spaces was still increasing ;

from the age of two years onwards, the portion of the total area occupied by the trabeculae remained constant, both the trabecular and medullary spaces sizes increased ;

the spongy bone was more accurately described by the distribution lines of the space sizes than by their average size ; the calculations of energy absorptions by bone marrow after irradiation should therefore be based on the distribution lines.

INTRODUCTION

Pour calculer l'énergie absorbée par la moelle osseuse, soit après irradiation externe, soit après contamination par un élément radioactif ostéotrope, il est nécessaire de connaître la structure microscopique de l'os spongieux, c'est-à-dire la disposition des travées dans l'espace, leur taille et la distance qui les sépare les unes des autres.

Ces paramètres ont été définis chez l'adulte en utilisant des modes d'expression et des techniques différents.

Des agrandissements photographiques ou des projections agrandies de coupes histologiques permettent de mesurer à la règle graduée les dimensions des travées et des espaces.

Ainsi ROBERTSON et GODWIN (1954) obtiennent des valeurs allant de 40 à 250 μm pour les travées et de 200 à 700 μm pour les espaces.

Pour ENGSTRÖM *et coll.* (1957) les dimensions des travées vont de 50 à 100 μm , celles des espaces de 500 à 1 000 μm .

La Commission Internationale des Unités Radiologiques (I.C.R.U., 1961) se basant sur ces résultats, a choisi pour les calculs d'absorption d'énergie des valeurs moyennes de 100 μm pour les travées et de 400 μm pour les espaces.

Les valeurs obtenues par YOSHINAGA et ANTOKU (1962) vont de 80 à 120 μm pour les travées; ils indiquent la courbe de répartition des dimensions des espaces en soulignant que la moyenne arithmétique n'a pas beaucoup de valeur.

SPIERS (1966-1968) mesure chez un adulte de 33 ans des espaces entre 50 et 1 500 μm ; ils sont plus petits chez un enfant de 5 ans. Pour les calculs d'absorption d'énergie, il remplace les dimensions moyennes des espaces par leur fréquence de distribution.

Exception faite du résultat de SPIERS, il n'existe pas, à notre connaissance, de telles mesures dans l'os spongieux de l'enfant.

En utilisant les oculaires intégrateurs de Zeiss (HENNIG 1958 - FROST *et coll.* 1961) on peut évaluer à partir d'une coupe d'os spongieux soit la fraction de l'aire totale occupée par le tissu calcifié, soit la surface qui sépare les travées de la moëlle, mais ces techniques ne permettent pas de mesurer les dimensions des travées et des espaces.

Nous nous sommes proposés dans ce travail d'étudier ces dimensions dans l'os spongieux vertébral du nouveau-né et d'en suivre l'évolution jusqu'à l'âge de deux ans.

Cette analyse n'est possible que si l'on dispose d'un grand nombre de données que l'on ne peut obtenir en mesurant à la règle graduée les dimensions des travées et des espaces sur un agrandissement photographique.

Nous avons mis au point un dispositif entièrement automatique qui, à partir de la coupe osseuse, présente les données sous une forme directement utilisable par un calculateur.

Cette méthode permet d'examiner une coupe sur toute sa surface par une succession de balayages. La détection se fait par une photodiode et le contraste nécessaire au bon fonctionnement de celle-ci est obtenu en remplaçant la coupe histologique par une microradiographie (*).

Les renseignements fournis par la photodiode, enregistrés sur bande magnétique et triés par un analyseur multicanaux, sont ensuite inscrits sur cartes perforées et soumis aux programmes d'analyse.

CHOIX DES ÉCHANTILLONS

Les prélèvements, une vertèbre cervicale et une vertèbre lombaire, sont effectués sur des enfants de 0 à deux ans décédés d'affections aiguës ou des suites de malformations n'atteignant pas le squelette.

(*) Indépendamment de notre travail, DARLEY (1968) a mis au point un appareil permettant également une mesure automatique.

TABLEAU I
Répartition par classes d'âge et causes de décès des enfants
dont les vertèbres ont été examinées

Age	Poids de naissance	Premier mois	Cause de décès
2 jours	2 850 g	Malrotation des anses intestinales.	Anoxie par fausse route respiratoire.
2 jours	3 550 g	Cardiopathie congénitale.	
2 jours	2 930 g	Listériose.	
4 jours	3 000 g	Occlusion intestinale.	Méningite.
1 jour	2 800 g	Maladie hémorragique du nouveau-né.	
11 jours	2 300 g	Atrésie de l'œsophage.	
15 jours	—	Hémorragie méningée.	
17 jours	—	Cardiopathie congénitale.	
19 jours	2 750 g	Omphalocèle opéré.	Infection pulmonaire post-opératoire.
19 jours	3 010 g	Atrésie du grêle et septicémie.	
19 jours	3 500 g	Atrésie de l'œsophage.	
26 jours	2 740 g	Staphylococcie pleuro-pulmonaire.	
<i>Deuxième et troisième mois</i>			
1 mois	3 700 g	Infection pulmonaire à pyocyaniques.	
1 mois	2 000 g (jumelle)	Coqueluche, septicémie.	
2 mois	—	Hémorragie pulmonaire.	
2 mois	2 450 g	Troubles de la ventilation d'origine indéterminée.	
2 mois	2 960 g	Cardiopathie congénitale.	
3 mois	3 260 g	Malformation pulmonaire.	
3 mois	—	Infarctissement pulmonaire.	
<i>Du quatrième au sixième mois</i>			
3 mois 1/2	3 820 g	Thrombose des veines cérébrales.	
3 mois 1/2	3 000 g	Coqueluche. Salmonellose.	
4 mois	2 500 g	Staphylococcie pleuro-pulmonaire.	
4 mois	—	Eventration diaphragmatique.	Anoxie.
4 mois	—	Péritonite purulente.	
5 mois	2 800 g	Malformation vasculaire cérébrale.	
5 mois	3 210 g	Hémorragie méningée.	
5 mois	3 500 g	Hyperthermie. Toxicose.	
6 mois	—	Encéphalopathie d'origine indéterminée.	
<i>Sixième au douzième mois</i>			
7 mois 1/2	3 500 g	Détresse respiratoire.	Fausse route.
9 mois	2 100 g	Méningite à pyocyaniques.	
10 mois 1/2	3 200 g	Collapsus cardio-vasculaire avec troubles respiratoires.	
11 mois	2 670 g	Toxicose avec hématomélie.	
<i>De un à deux ans</i>			
1 an 2 mois	—	Septicémie à bacille de Pfeiffer.	
1 an 3 mois	3 700 g	Myocardite aiguë.	
1 an 1/2	4 000 g	Coma après intoxication.	
<i>Au-dessus de deux ans</i>			
2 ans 1/2	2 800 g	Cardiopathie congénitale.	
2 ans 1/2	4 200 g	Cardiopathie congénitale.	
3 ans 1/2	—	Septicémie à pneumocoques.	
5 ans 1/2	—	Septicémie à colibacilles.	
8 ans	—	Arrêt cardiaque au cours d'intervention pour strabisme.	
30 ans	—	Tumeur cérébrale.	

L'histoire clinique de chaque enfant a été analysée pour choisir autant que possible les cas proches du normal.

Pour permettre la comparaison avec les résultats obtenus par d'autres auteurs, nous avons aussi prélevé quelques vertèbres d'enfants plus âgés et d'un adulte (Tableau I).

TECHNIQUES

PRÉPARATION DES PRÉLÈVEMENTS

La fixation se fait à l'alcool éthylique à 95°. Dans la partie médiane des deux vertèbres de chaque enfant nous prélevons une tranche de quelques millimètres d'épaisseur, dans la vertèbre cervicale dans le sens sagittal et dans la lombaire dans le sens transversal.

Après déshydratation dans l'alcool éthylique absolu les pièces sont incluses dans le métacrylate de méthyle. Les blocs obtenus sont coupés en tranches de 40 à 50 μm d'épaisseur par une tronçonneuse à disque diamanté (Bronwill thin sectioning machine).

Les coupes sont radiographiées ensuite sur plaques Maximum Resolution de Kodak, à l'aide d'un appareil Varay à tube Tubix (anode de tungstène et fenêtre de béryllium) pendant huit minutes, à 12 kV, 10 mA et une distance foyer-plaque de 8 cm. Après développement dans le D 178 de Kodak et fixation, les plaques sont prêtes pour la lecture.

TECHNIQUES DE MESURE

L'appareillage de mesure est formé de trois parties :

- I - un dispositif optique permettant d'agrandir et d'analyser la microradiographie;
- II - un dispositif d'enregistrement électronique des informations;
- III - un dispositif permettant de mettre les informations sous une forme directement utilisable par un ordinateur I.B.M. 360/50.

I - DISPOSITIF OPTIQUE

Il se compose d'un lanamètre Leitz modifié et d'une photodiode (fig. 1).

Le premier est un microscope qui projette l'image agrandie ($\times 80$) de la préparation sur une table de lecture au centre de laquelle est incorporée la photodiode de détection.

Pour permettre le déplacement de l'image au-dessus de cette dernière deux moteurs sont couplés à la platine du microscope. Le premier assure le déplacement longitudinal à vitesse constante, alternativement de gauche à droite et de droite à gauche; le second, qui n'agit qu'à chaque fin de parcours du premier, assure un déplacement transversal d'avant en arrière de 200 μm .

On obtient ainsi le balayage complet de l'échantillon. Pour chaque enfant la coupe sagittale de la vertèbre cervicale est balayée d'avant en arrière (1 - fig. 5)

et de haut en bas (2 - fig. 5); la coupe transversale de la vertèbre lombaire d'avant en arrière (3 - fig. 5) et de gauche à droite (4 - fig. 5).

La photodiode au sulfure de Cadmium (La Radiotechnique ORP - surface sensible $0,25 \text{ mm}^2$), montée sur la table de lecture au centre de l'image projetée,

FIG. 1. — Microscope lanamètre Leitz : sont visibles, à droite et en dessous de la platine, les deux moteurs, sur la table l'image agrandie de la microradiographie, au centre de cette image la photodiode de détection.

L'enregistreur magnétique est visible dans la partie droite de la photographie.

est sensible à la lumière transmise. Les espaces médullaires et les travées osseuses étant, sur la microradiographie, deux milieux de densité optique différente, pour chacun d'eux la photodiode se trouve dans des états électriques différents.

Les microradiographies n'ayant pas toutes les mêmes caractéristiques optiques, un potentiomètre permet d'ajuster la sensibilité de la diode. La réponse de cette

dernière étant proportionnelle au flux lumineux, un thyatron va transformer cette proportionnalité en un système à deux états stables. Dans le thyatron se trouve un relais inversible qui sera dans l'une ou l'autre position suivant l'état électrique de la diode. A chaque changement de structure correspond un changement d'état du relais. L'intervalle de temps qui sépare deux changements d'état est donc directement lié à la longueur de la structure analysée.

II - DISPOSITIF D'ENREGISTREMENT ÉLECTRONIQUE DES INFORMATIONS

Cette technique est liée à l'appareillage de mise en forme qui était disponible.

Pour transférer à ce dernier les informations de la photodiode, l'enregistrement magnétique est la meilleure solution parce qu'il permet de gagner un facteur huit entre la durée de la lecture et celle de la mise en forme.

L'enregistreur magnétique utilisé est de type Ampex SP 300.

A travers une chaîne électronique Renatran, chaque changement d'état du relais se traduit par une impulsion. Les impulsions sont enregistrées sur deux des pistes de la bande magnétique. Une piste recueille l'impulsion qui correspond à la fin d'un espace médullaire, donc au début d'une travée, l'autre recueille l'impulsion qui correspond à la fin d'une travée et au début d'un espace.

Les deux informations, bien qu'électriquement identiques, sont donc parfaitement séparées sur deux des pistes de l'enregistreur.

III - DISPOSITIF DE MISE EN FORME

La bande magnétique est relue par un Ampex associé à un dispositif qui donne aux impulsions les caractéristiques compatibles avec l'analyseur 400 canaux (Intertechnique). Celui-ci est divisé en deux groupes de 200 mémoires magnétiques : dans le premier seront accumulées les informations relatives à la taille des espaces, dans le second celles relatives à la taille des travées.

L'appareil fonctionne ainsi :

— La première impulsion, qui marque la fin d'une travée et le début d'un espace, déclenche l'ouverture successive des mémoires du premier groupe : chacune reste ouverte pendant un temps défini qui correspond à une longueur de 10 ou de 20 μm par mémoire.

— la deuxième impulsion, qui marque la fin d'un espace et le début d'une travée, compte une unité dans la mémoire ouverte au moment de son arrivée et déclenche ensuite l'ouverture successive des mémoires du second groupe.

A chaque mémoire correspond un intervalle de temps défini entre deux impulsions successives, c'est-à-dire une taille définie.

A la fin de la lecture, on disposera de deux histogrammes définissant la répartition des tailles des espaces et des travées (fig. 2).

Les valeurs choisies de 10 ou de 20 μm par mémoire nous permettent de mesurer des tailles allant jusqu'à 2 ou 4 mm, mais en contrepartie la construction de l'appareil fait que les dimensions inférieures à la taille unitaire choisie (10 ou 20 μm) ne sont pas prises en compte.

Les histogrammes sont transférés automatiquement sur bandes perforées puis sur cartes perforées compatibles avec un ordinateur I.B.M. 360/50.

PROGRAMMES

Le premier programme, écrit en Fortran IV, a pour but d'analyser les mesures transcrites sur cartes perforées.

Il permet de connaître le nombre d'espaces médullaires et de travées mesurés, ainsi que les longueurs totales et moyennes des deux ensembles. Il indique l'écart-type des deux distributions et la valeur de ces paramètres dans l'hypothèse théorique où la répartition des tailles est de type gaussio-logarithmique. Enfin il calcule les fractions respectives des surfaces des deux ensembles par rapport à l'aire totale examinée, c'est-à-dire la coupe d'une vertèbre entière.

FIG. 2. — En haut de l'image un exemple d'impression des résultats obtenus pour une coupe (microradiographie *b*, fig. 4) : dans la colonne de gauche les résultats concernant les espaces, dans celle de droite ceux concernant les travées.

Pour éviter que, à la fin de chaque balayage, le temps nécessaire à la translation soit compté comme un grand espace nous avons été obligés de prolonger ce temps de translation pour qu'il ne soit pas enregistré par l'analyseur multicanaux, ce qui explique que le nombre de mesures (N) est plus petit pour les espaces que pour les travées.

Dans ce cas une unité correspond à 20 μm .

En bas de l'image les histogrammes obtenus pour la même coupe sur l'analyseur 400 canaux : en ordonnée le nombre de mesures, en abscisse les dimensions des espaces (149) et des travées (150).

La figure 2 montre l'impression des résultats ainsi obtenus pour une coupe donnée (coupe *b* de la figure 4).

Pour faciliter l'intercomparaison d'un très grand nombre de données, ce premier programme regroupe ensuite les dimensions en dix catégories de tailles arbitrairement choisies.

Ce regroupement est analysé par un second programme qui présente les données en fonction de l'âge et qui pour chaque tranche d'âge calcule les valeurs moyennes.

Le tableau II montre l'impression des résultats ainsi obtenus pour les vertèbres d'enfants âgés de 1 à 30 jours.

CRITIQUE DE LA MÉTHODE

I - PRÉCISION DE LA MÉTHODE

Nous l'avons évaluée de trois façons :

- par l'étude théorique de l'erreur relative en fonction du nombre de mesures par coupe. Le calcul a montré que pour 500 mesures, ce qui est l'ordre de grandeur obtenu pour une coupe, on ne peut considérer comme significative qu'une différence entre les résultats supérieure à 5 %;
- en contrôlant la reproductibilité des résultats sur le dispositif expérimental.

Pour cela, nous avons :

- a) remplacé la microradiographie par un seul élément de taille constante qui a été mesuré un très grand nombre de fois. Le résultat obtenu sur l'analyseur multicanaux était reproductible à ± 1 %;
- b) relu la même microradiographie plusieurs fois tout au long de l'expérience. Pour 750 mesures enregistrées à chaque fois les résultats obtenus s'écartaient de la moyenne de ± 5 %;
- en vérifiant la validité du dispositif expérimental.

Les travées et les espaces ont été découpés séparément sur les agrandissements photographiques ($\times 50$) de deux microradiographies. Le rapport de poids des deux ensembles est proportionnel au rapport de leur surface respective. En comparant ce rapport avec celui obtenu à partir des mêmes microradiographies par la mesure automatique, on obtient les valeurs suivantes :

	Photographie	Mesure automatique
Coupe <i>a</i> (fig. 4)	59 % de surface calcifiée	54 % de surface calcifiée
Coupe <i>b</i> (fig. 4)	19 % de surface calcifiée	17 % de surface calcifiée

II - IMPORTANCE DE L'ÉPAISSEUR DE LA COUPE RADIOGRAPHIÉE

Ayant vérifié la fidélité de l'appareillage et la validité des mesures, nous avons étudié ensuite le rôle joué par l'épaisseur de la coupe.

Pour obtenir le contraste nécessaire au bon fonctionnement de la photodiode, l'épaisseur des coupes à radiographier doit être d'environ 50 μm . Dans ce cas la surface des travées n'est pas toujours perpendiculaire au plan de coupe. Les

PREMIER MOIS

ESPACES MEDULLAIRES

VALEURS BRUTES

139.	19.24	18.77	0.51	66.0	23.0	7.0	3.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	731.
165.	15.93	16.48	0.46	74.0	18.0	5.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	859.
51.	23.35	24.12	0.64	59.0	23.0	11.0	4.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	854.
391.	22.36	23.54	0.56	61.0	23.0	9.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	732.
385.	21.01	23.95	0.61	63.0	22.0	7.0	3.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	837.
203.	19.15	20.04	0.53	67.0	23.0	6.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	507.
527.	26.26	24.18	0.62	50.0	32.0	9.0	3.0	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	764.
475.	28.48	26.55	0.63	47.0	28.0	13.0	5.0	1.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	554.
415.	30.42	33.78	0.49	54.0	19.0	9.0	6.0	3.0	3.0	0.0	1.0	0.0	0.0	723.
447.	28.78	27.77	0.62	47.0	30.0	9.0	6.0	2.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	533.
459.	19.14	21.94	0.53	68.0	21.0	6.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	785.
373.	25.26	25.18	0.60	54.0	23.0	11.0	6.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	676.

VALEURS MOYENNES

LONGUEUR MICRONS	SURFACE POURCENT	REPARTITION DES LONGUEURS(100MICRONS)	MESURES NOMBRES
		0-4 4-8 8-1212-1616-2020-2424-2828-3232-3636-40	

VALEURS BRUTES														
140.	17.32	19.34	0.49	23.0	21.0	17.0	12.0	12.0	4.0	4.0	6.0	1.0 0.0	779.	
166.	17.14	18.03	0.54	18.0	25.0	20.0	8.0	14.0	7.0	3.0	5.0	1.0 0.0	948.	
52.	11.71	11.61	0.36	33.0	25.0	17.0	10.0	8.0	5.0	2.0	1.0	0.0 0.0	969.	
392.	16.21	15.25	0.44	18.0	24.0	20.0	12.0	11.0	6.0	3.0	4.0	0.0 0.0	787.	
386.	12.63	12.76	0.39	27.0	26.0	17.0	10.0	10.0	4.0	1.0	1.0	0.0 0.0	899.	
204.	15.66	17.86	0.47	25.0	23.0	17.0	12.0	11.0	6.0	2.0	4.0	1.0 0.0	550.	
528.	14.86	11.44	0.38	11.0	28.0	24.0	13.0	11.0	5.0	2.0	1.0	0.0 0.0	815.	
476.	15.40	16.31	0.37	19.0	26.0	19.0	13.0	8.0	5.0	1.0	4.0	0.0 0.0	608.	
416.	29.84	30.44	0.51	10.0	16.0	14.0	8.0	16.0	10.0	5.0	14.0	3.0 0.0	773.	
448.	15.93	13.78	0.38	15.0	25.0	21.0	12.0	14.0	4.0	3.0	3.0	0.0 0.0	588.	
460.	16.10	14.55	0.47	17.0	24.0	19.0	11.0	13.0	5.0	3.0	3.0	0.0 0.0	841.	
374.	15.55	15.23	0.40	21.0	25.0	17.0	12.0	10.0	6.0	3.0	2.0	0.0 0.0	733.	
VALEURS MOYENNES														
LONGUEUR MICRONS	SURFACE POURCENT			REPARTITION DES LONGUEURS(100MICRONS)									MEURES NOMBRES	
	0-1	1-2	2-3	3-4	4-1010-2020-3030-40									
165.29	44.1	29.4	11.5	5.6	6.6	0.5	0.0	0.0						9290.

D. C. E.
FAR

VALEURS MOYENNES

LONGUEUR MICRONS	SURFACE POURCENT	REPARTITION DES LONGUEURS(100MICRONS)						MESURES NOMBRES	
		0-1	1-2	2-3	3-4	4-1010-2020-3030-40			
165.29	43.33	44.1	29.4	11.5	5.6	6.6	0.5	0.0	9290.

TABLEAU II

Impression des résultats et calcul des moyennes pour les échantillons provenant d'enfants décédés entre 1 et 30 jours.

La colonne de gauche indique le numéro de l'expérience. Ensuite sont imprimées, dans l'ordre, la longueur moyenne avec l'écart type de la distribution, la fraction de l'aire totale occupée par les espaces (en haut) ou par les travées (en bas) et les répartitions des tailles.

La dernière colonne à droite indique le nombre de mesures par coupe (chacune a été examinée deux fois).

travées coupées en biais apparaîtront plus larges qu'en réalité, avec des rebords moins denses que leur partie médiane; en effet tous les éléments calcifiés d'une coupe, même s'ils ne sont pas en contact direct avec la plaque photographique, apparaissent sur la microradiographie.

Pour essayer de corriger l'erreur de mesure due à ce fait, nous avons diminué légèrement la sensibilité de la photodiode qui, ainsi, ne lit plus les faibles densités des rebords trabéculaires.

En mesurant la surface occupée par les trabécules sur les agrandissements photographiques ($\times 50$) de coupes décalcifiées de $10\text{ }\mu\text{m}$ d'épaisseur, les valeurs obtenues sont comparables à celles données par la mesure automatique de coupes non décalcifiées de $50\text{ }\mu\text{m}$ d'épaisseur.

En faisant varier l'épaisseur des coupes à radiographier entre 50 et $70\text{ }\mu\text{m}$ les différences constatées entrent dans les limites de l'erreur de la méthode. Ce n'est qu'au-dessus de $70\text{ }\mu\text{m}$ que ces différences deviennent significatives.

III - RÔLE DES PLANS DE COUPE

Etant donné le petit nombre de vertèbres par enfant dont nous disposons (une vertèbre cervicale, une vertèbre lombaire), nous n'avons pu examiner que deux plans de coupe : le plan médian sagittal dans la vertèbre cervicale, et le plan médian transversal dans la vertèbre lombaire (fig. 5).

Une partie des coupes a été examinée dans deux directions perpendiculaires (fig. 5) (1, 2, 3, 4).

Cependant, nous avons disposé de deux vertèbres cervicales et de deux vertèbres lombaires d'un enfant de 14 mois. Ceci nous a permis de comparer les deux plans dans les deux types de vertèbres.

Pour cet enfant, les deux plans de coupe des vertèbres cervicales et le plan de coupe sagittal de la vertèbre lombaire ont donné des résultats comparables. Par contre, la répartition est significativement différente pour le plan transversal de la vertèbre lombaire.

Cette différence a été retrouvée chaque fois que nous avons comparé chez le même enfant le plan sagittal de la vertèbre cervicale et le plan transversal de la vertèbre lombaire (fig. 5) (1 et 4).

RÉSULTATS

Nous les exposons en fonction de l'âge qui est le paramètre déterminant vis-à-vis de tous les facteurs analysés qui sont :

- fraction de l'aire totale d'une coupe occupée par le tissu calcifié;
- dimensions moyennes des travées et des espaces;
- répartitions des tailles des travées et des espaces.

Tous ces facteurs restent liés entre eux au cours de la croissance.

La répartition des tailles des travées suivant dans tous nos échantillons une loi gaussio-logarithmique, nous ne parlerons que de leur taille moyenne.

Nous avons classé nos prélèvements en six groupes.

Le premier groupe rassemble les échantillons provenant d'enfants décédés entre un et trente jours. Il présente des résultats homogènes qui sont les suivants (incidence 1) :

- fraction de l'aire totale occupée par le tissu calcifié : environ 43 %;
- dimension moyenne des travées : environ 165 μm ;
- dimension moyenne des espaces : environ 232 μm ;

60 % des espaces mesurent entre 10 et 200 μm , 20 % entre 200 et 400 μm (courbe A - fig. 3).

FIG. 3. — Evolution de la répartition des tailles des espaces en fonction de l'âge (cf. Tableau III).

- A) premier mois,
- B) deuxième et troisième mois,
- C) de quatre à six mois,
- D) de six mois à un an,
- E) de un à deux ans.

Pour chaque classe d'âge les traits verticaux indiquent la variation maxima des répartitions en fonction du plan de coupe.

Les échantillons d'enfants décédés au cours du deuxième et troisième mois forment le deuxième groupe. A cet âge (incidence 1) le tissu calcifié ne représente plus que 30 % de la surface totale, la dimension moyenne des travées diminue légèrement, celle des espaces augmente (environ 350 μm), ce qui est dû à la diminution relative du nombre des petits espaces (49 % entre 10 et 200 μm , 20 % entre 200 et 400 μm) (courbe B - fig. 3).

TABLEAU III
Evolution des tailles des espaces médullaires en fonction de l'âge (Incidence 1) (cf. fig. 3)

	Longueur moyenne μm	% surface totale occu- pée par les espaces	(en pourcentage)									
			0 400 μm	400 800 μm	800 1 200 μm	1 200 1 600 μm	1 600 2 000 μm	2 000 2 400 μm	2 400 2 800 μm	2 800 3 200 μm	3 200 3 600 μm	3 600 4 000 μm
Premier mois	232	56,67	83,3	11,8	1,9	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Deuxième et troisième mois	344	69,86	70,2	16,7	5,6	2,6	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Quatrième au sixième mois	654	79,50	43,9	25,8	13,4	6,3	4	2,4	0,7	0,6	0,3	0,1
De six mois à un an	611	78	46,3	26,8	12	6,9	2,6	1,8	1	0,0	0,4	0,0
De un à deux ans	672	79,50	40,3	29,4	14,1	6,8	3,4	1,7	0,8	0,8	0,2	0,0
Au-dessus de deux ans	755	76,80	36	31,1	13,5	6,4	4,3	2,5	1,4	0,3	0,1	0,1

Cette évolution s'accroît dans le troisième groupe (de 4 à 6 mois). Les travées occupent 20 % de la surface totale, leur taille moyenne est de 150 μm , celle des espaces passe à 650 μm par la diminution du nombre des petits espaces (44 % inférieurs à 400 μm) et par la présence d'espaces dépassant les 2 000 μm (courbe C - fig. 3).

Entre six mois et un an, on ne constate aucun changement important (courbe D - fig. 3).

FIG. 4. — Agrandissements des microradiographies de coupes sagittales de la vertèbre cervicale d'enfants âgés : a) de 2 jours, b) de 5 mois, c) de deux ans et demi ($\frac{1}{2}$ vertèbre) et d) de 8 ans ($\frac{1}{4}$ vertèbre) ($\times 5,8$).

De un à deux ans, la répartition de la taille des espaces reste inchangée (courbe E - fig. 3).

Au-delà de deux ans nous n'avons disposé que de quelques prélèvements d'enfants âgés de deux à huit ans. Dans ce groupe, la fraction de l'aire totale

TABLEAU IV
Evolution des tailles des travées osseuses en fonction de l'âge (Incidence 1)

	Longueur moyenne μm	% surface totale occu- pée par les travées	(en pourcentage)						2 000 3 000 μm	3 000 4 000 μm
			0-100 μm	100-200 μm	200-300 μm	300-400 μm	400 1 000 μm	1 000 2 000 μm		
Premier mois	165	43	44,1	29,4	11,5	5,6	6,6	0,5	0,0	0,0
Deuxième et troisième mois	131	30	53,1	28,1	8,5	4,1	3	0,1	0,0	0,0
Du quatrième au sixième mois	149	20,5	47,8	28,9	11,5	4,6	4,9	0,4	0,0	0,0
De six mois à un an	150	22	43	34,4	11,7	4,5	4,8	0,0	0,0	0,0
De un à deux ans	152	20,5	44,8	35,4	9,3	3,1	4,6	0,4	0,0	0,0
Au-dessus de deux ans	203	23	28,7	40,3	12,4	5,9	7,8	0,9	0,1	0,0

occupée par les trabécules reste constante autour de 20 %, la dimension moyenne des travées augmente (environ 200 μm), de même que celle des espaces (environ 750 μm).

En comparant à ces résultats ceux obtenus pour la vertèbre d'un adulte, cette évolution est encore plus manifeste; la taille moyenne des travées est d'environ 180 μm , celle des espaces de 1 000 μm avec augmentation du nombre des grandes tailles, tandis que la fraction de l'aire totale occupée par le tissu calcifié est de 16 %.

FIG. 5. — Variation des répartitions des tailles des espaces médullaires en fonction du plan de coupe de la vertèbre et de la direction du balayage (cf. Tableau V).

I - premier mois,

II - de un à deux ans.

En haut et à droite de l'image sont représentés les deux plans de coupe et les quatre directions de balayage.

Nous observons ce même type d'évolution dans les deux plans de coupe et les quatre directions analysées.

Il existe cependant entre elles des différences dues au fait que les trabécules ne sont pas disposées au hasard mais tendent à s'orienter; cette orientation s'accroît avec l'âge. Ainsi l'incidence 4 (vertèbre lombaire) donne toujours une taille moyenne des espaces un peu plus grande que l'incidence 1 (vertèbre cervicale) par diminution du nombre d'espaces mesurant moins de 400 μm (fig. 5). De même la taille moyenne des trabécules y est un peu plus élevée.

TABLEAU V
Variations des tailles des espaces médullaires en fonction du plan de coupe et de la direction du balayage (cf. fig. 5)

	Longueur moyenne μm	% surface totale occu- pée par les espaces	(en pourcentage)											
			0 400 μm	400 800 μm	800 1 200 μm	1 200 1 600 μm	1 600 2 000 μm	2 000 2 400 μm	2 400 2 800 μm	2 800 3 200 μm	3 200 3 600 μm	3 600 4 000 μm		
Premier mois :														
Incidence 1	232	56	83,3	11,8	1,9	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
— 2	251	53	83,1	11,2	3,2	1,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
— 3	266	57	79,7	15,3	3,3	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
— 4	325	57	71,9	18,2	4,8	1,4	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
De un à deux ans :														
Incidence 1	672	79	40,3	29,4	14,1	6,8	3,4	1,7	0,8	0,8	0,2	0,0	0,0	0,0
— 2	737	76	42,6	21,7	13,1	9	5,6	3,0	1,4	1,6	0,6	0,4	0,4	0,4
— 3	813	80	31,3	29,0	18,3	8,4	5,8	3,0	2,0	0,6	0,4	0,0	0,0	0,0
— 4	699	77	35,5	31,5	14	8,8	4,2	1,9	1,2	1,2	0,3	0,0	0,0	0,0

DISCUSSION

Les vertèbres dont nous disposions provenaient d'enfants décédés à l'hôpital (Tableau I). Même si l'examen de leur dossier clinique a permis d'éliminer tous ceux atteints de maladies propres au système osseux, il existe parmi les prélèvements que nous avons retenus quelques vertèbres d'enfants dont la croissance n'a pas été tout à fait normale.

Pour suivre l'évolution de la structure de la vertèbre, nous avons regroupé nos enfants en classes d'âge, ce qui a atténué les variations liées à l'hétérogénéité de l'échantillonnage.

FIG. 6. — Evolution avec l'âge de la taille moyenne des espaces (I), de la taille moyenne des travées (II) et de la fraction de l'aire totale occupée par le tissu calcifié (III).

En exposant nos résultats, nous parlons de fraction de l'aire totale occupée dans la coupe par le tissu calcifié plutôt que de volume. En effet, quelle que soit la technique utilisée, une mesure de surface sur une coupe ne correspond à une mesure de volume que si les travées sont disposées au hasard dans l'espace (HENNIG, 1958 - MERZ, 1967). Si elles sont orientées, ce qui est le cas dans la vertèbre, le chiffre obtenu dépend de cette orientation et de la direction dans laquelle les travées et les espaces sont mesurés.

Nos valeurs dépendent donc du plan de coupe de la vertèbre et de la direction du balayage.

Nous ne pouvons comparer entre eux que des résultats obtenus sur le même plan de coupe et sous la même incidence de balayage.

Cette réserve est valable aussi pour les mesures des dimensions des espaces et des travées.

Nos résultats peuvent se résumer de la façon suivante :

— pendant les trois premiers mois de la vie, le remaniement osseux étant très intense, la fraction de l'aire totale occupée par le tissu calcifié passe de 40 à 20 % ; la taille des travées varie peu tandis que celle des espaces augmente considérablement ;

— à partir du quatrième mois, la fraction de l'aire totale occupée par le tissu calcifié se stabilise à 20 % ; par contre la croissance de la taille des espaces médullaires se poursuit ;

— au-delà de deux ans, la fraction de l'aire totale occupée par le tissu calcifié reste constante, la taille des travées augmente de même que celle des espaces.

Pour chaque enfant, l'allongement de la taille des espaces médullaires est plus prononcé dans le plan transversal que dans le plan sagittal. Ce phénomène, qui s'accroît avec l'âge, peut être relié au ralentissement de la croissance longitudinale du cartilage, dû à la station debout.

En effet des travaux expérimentaux ont montré que la compression inhibe le cartilage de prolifération (GELPKE, 1961) ; on a aussi observé que les vertèbres d'enfants n'ayant jamais marché sont plus hautes que celles d'enfants normaux du même âge (GOODING et NEUHAUSER, 1965).

Nous discuterons nos résultats en les comparant à ceux déjà connus chez l'adulte.

I. Fraction de l'aire totale occupée par le tissu calcifié dans une coupe d'os spongieux.

De nombreux auteurs l'ont évaluée chez l'adulte sur une coupe histologique soit par pesée après découpage des travées et des espaces sur un agrandissement photographique, soit à l'aide des oculaires intégrateurs.

En utilisant la première méthode, HASHIMOTO *et coll.* (1962) obtiennent une valeur moyenne de 16,2 % dans la vertèbre lombaire ; en utilisant la seconde, BROMLEY *et coll.* (1967) obtiennent des valeurs de $15,1 \pm 8,7$ % entre 30 et 60 ans et de 28 % dans la première décade de la vie.

DUNNILL *et coll.* (1967) indiquent des chiffres plus élevés, autour de 25 % jusqu'à 50 ans, qui diminuent progressivement par la suite.

Les dosages chimiques sur l'os entier peuvent se rapprocher de ce type de mesures. Ils donnent la teneur en cendres, en calcium et en phosphore, d'un os spongieux par rapport à son volume.

Ainsi ARNOLD (1964) montre que le tissu spongieux est formé de 20 à 25 % de tissu calcifié.

Chez deux enfants de 18 mois, DYSON et WHITEHOUSE (1968) obtiennent des résultats comparables.

La vertèbre adulte que nous avons examinée donne une valeur de 16 %, valeur analogue à celle de HASHIMOTO *et coll.* (1962) et de BROMLEY *et coll.* (1967).

En comparant tous ces résultats à ceux obtenus chez l'enfant, on peut dire que la fraction de l'aire totale occupée par le tissu calcifié, qui représente environ 40 % à la naissance, diminue rapidement pendant les trois premiers mois de la vie. A partir de 4 mois, elle ne représente plus que 20 %, valeur qui restera constante jusqu'à l'âge de 40 ans, pour diminuer ensuite avec l'âge.

II. Dimension moyenne des travées.

EGER (1965) étudie l'évolution avec l'âge de la dimension moyenne des travées : elle augmente jusqu'à l'âge de 15 ans, reste stable autour de 100 μm entre 20 et 40 ans et diminue progressivement ensuite.

Pour ATKINSON (1967) chez l'adulte la disposition des travées évolue avec l'âge entraînant une disparition progressive des travées horizontales et un épaississement des travées verticales.

Nous mesurons une taille moyenne des travées de 150 μm jusqu'à deux ans et de 200 μm chez les enfants plus âgés. Ces valeurs relativement élevées s'expliquent par le système de balayage des coupes qui ne mesure pas obligatoirement les travées dans une direction perpendiculaire à leur grand axe.

Pour obtenir une valeur plus proche de la réalité il faudrait soit balayer la coupe sous plusieurs angles différents, soit remplacer le balayage rectiligne par une sinusoïde coupant le bord des travées dans toutes les directions possibles (Merz, 1967).

III. Dimension moyenne des espaces.

Elle augmente sûrement avec l'âge. Les valeurs indiquées pour l'adulte varient beaucoup selon les auteurs.

La répartition de la taille des espaces ne suivant ni une loi gaussienne ni une loi gaussio-logarithmique, il nous semble difficile d'attacher une signification précise à la valeur moyenne, une même moyenne pouvant recouvrir des formes de répartition très différentes.

Comme à SPIERS il nous semble que seule la courbe de répartition des tailles des espaces peut refléter la structure d'un os spongieux.

Les calculs d'absorption d'énergie doivent donc se baser sur cette courbe.

Nos premiers résultats ont permis un calcul de ce type, montrant que la dose médullaire moyenne est plus importante chez un nourrisson que chez un enfant plus âgé ou un adulte (CHEMTOB *et coll.*, 1968).

IV. Rapport entre la surface qui limite les travées et la masse osseuse.

Cet autre mode d'expression est utilisé par LLOYD *et coll.* (1968). A l'aide d'un balayage avec un tube cathodique, ils mesurent sur des microradiographies le périmètre des travées, qui est proportionnel à la surface qui les limite, et la fraction de l'aire totale qu'elles occupent, qui est proportionnelle à la masse osseuse.

Ce travail, celui de DARLEY et le nôtre soulignent l'importance des mesures automatiques en morphologie osseuse; il nous paraît souhaitable d'étendre l'utilisation de cette méthode à l'étude de l'os pathologique.

BIBLIOGRAPHIE

- ARNOLD J.S. The quantitation of bone mineralisation as an organ and tissue in osteoporosis. *Dynamic studies of metabolic bone disease*. Ed. Pearson O.H., Joplin G.F. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1964, pp. 59-70.
- ATKINSON P.J. Variation in trabecular structure of vertebrae with age. *Calc. Tiss. Res.*, 1967, **1**, 24-32.
- BROMLEY R.G., DOCKUM N.L., ARNOLD J.S. et JEE W.S.S. Quantitative histological study of human lumbar vertebrae. *J. Geront.*, 1966, **21**, 537-543.

- CHEMTOB M., WITMER G., PARMENTIER N.C., LAFUMA J. et LEFEBVRE J. Problèmes posés par l'estimation des doses médullaires absorbées chez le nourrisson et l'enfant au cours des examens radiologiques. Symposium Ossium, Londres 1968. Sous presse.
- RAPPORT DE LA COMMISSION INTERNATIONALE DES UNITÉS RADIOLOGIQUES (I.C.R.U.), 1959. Nat. Bureau Standards Handbook, 1961, 78, 9-10.
- DARLEY P.J. Measurement of linear path length distributions in bone and bone marrow using a scanning technique. Proceedings of the Symposium on Microdosimetry, Ispra (Italy), novembre 13-15, 1967. Ed. Ebert H.G. European Communities, Bruxelles 1968, pp. 509-526.
- DYSON E.D. et WHITEHOUSE W.J. Composition of trabecular bone in children and its relation to radiation dosimetry. *Nature*, 1968, 217, 576-578.
- EGER W. Pathologische Anatomie des Osteoporose unter besonderer Berücksichtigung der Mineralstoffwechselvorgänge im Knochengewebe. *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.*, 1965, 71, 533-568.
- ENGSTROM A., BJORNERSTEDT R., CLEMEDSON C.J. et NELSON A. Bone and radiostrontium. Almqvist and Wiksell/Gebbers Förlag AB, Stockholm, 1957, pp. 90-97.
- FROST H.M., ROTH H., VILLANUEVA A.R. et STANISAVLJEVIC S. Experimental multiband tetracycline measurement of lamellar osteoblastic activity. *Henry Ford Hosp. med. Bull.*, 1961, 9, 312-329.
- FROST H.M. Human osteoblastic activity. Part II : measurement of the biological half-life of bones with the aid of tetracyclines. *Henry Ford Hosp. med. Bull.*, 1961, 9, 87-96.
- GELPKE H. Influence of pressure and tension on growing bone in experimental animals. *J. Bone Joint Surg.*, 1951, 33A, 947-954.
- GOODING C.A. et NEUHAUSER E.B.D. Growth and development of the vertebral body in presence and absence of normal stress. *Amer. J. Roentgenol.*, 1965, 93, 388-394.
- HASHIMOTO M., YUMOTO T., HAMADA T., YOSHINAGA H. et ANTOKU S. On the thickness of each trabecula and intertrabecular spaces in the human sternum, vertebrae, ilium and ribs. *Kyushu J. med. Sci.*, 1962, 13, 267-272.
- HASHIMOTO M., YUMOTO T. et HAMADA T. On the dimensional ratio of the cortex, trabeculae and marrow in the sagittal section of the sternum and in the transverse section of the vertebra. *Kyushu J. med. Sci.*, 1962, 13, 251-266.
- HENNIG A. Considérations critiques sur les mesures de volume et de surface en microscopie. *Zeiss Bull. Techn.*, 1958, 30, 78-87.
- JUSTER M. Sur une méthode d'inclusion des pièces anatomiques. Sur une technique d'amincissement des tranches osseuses incluses dans une matière plastique. *Arch. Anat. Pathol.*, 1959, 7, 179-181.
- LLOYD E., ROWLAND R.E., HODGES D. et MARSHALL J.H. Surface to volume ratios of bone determined by computer analysis of microradiographs. *Nature*, 1968, 218, 365-366.
- MERZ W.A. Die Streckenmessung an gerichteten Strukturen im Mikroskop und ihre Anwendung zur Bestimmung von Oberflächen-Volumen Relationen im Knochengewebe. *Mikroskopie*, 1967, 22, 132-142.
- ROBERTSON J.S. et GODWIN G.T. Calculation of radioactive iodine beta radiation dose to the bone marrow. *Brit. J. Radiol.*, 1954, 27, 241-242.
- SPIERS F.W. Dose to bone from Strontium 90 : implications for the setting of the maximum permissible body burden. *Radiation Res.*, 1966, 28, 624-642.
- SPIERS F.W. Dosimetry at interfaces with special reference to bone. Proceedings of the Symposium on Microdosimetry, Ispra (Italy), novembre 13-15, 1967. Ed. Ebert H.G. European Communities, Bruxelles 1968, pp. 473-502.
- WITMER G., PERRIER J.C., LAFUMA J. et PARMENTIER N.C. Analyse automatique des tailles des espaces et des travées dans l'os spongieux du nourrisson et de l'enfant. Premier Congrès de l'Association Européenne de Radiologie, Barcelone, avril 1967. Sous presse.
- YOSHINAGA H. et ANTOKU S. On the geometrical construction of trabeculae of human bone. *Res. Inst. Nucl. Med. Biol. Hiroshima Univ. Ann. Rep.*, 1962, 3, 39-43.

Nous tenons à remercier M. le Professeur C.A. Baud, Directeur de l'Institut de Morphologie de la Faculté de Médecine de Genève qui a bien voulu accepter la direction d'une thèse consacrée au sujet de ce travail.

Que tous ceux qui nous ont aidé à le réaliser trouvent ici l'expression de notre gratitude.