

Université de Lille 2

*Ecole Doctorale de Biologie et de Santé*

# THESE DE DOCTORAT

Présentée par

**Vittorio Michele Pansini**

## **Apport de la Spectroscopie $^1\text{H}$ par Résonance Magnétique (3 Tesla) à la Compréhension de la Physiopathologie de la Moelle Osseuse de la Hanche**

Soutenue le 5 Décembre 2012, devant le jury composé de :

Pr **Catherine Cyteval**

Professeur des Universités, Praticien hospitalier  
**Rapporteur**

Pr **Jean-Luc Drapé**

Professeur des Universités, Praticien hospitalier  
**Rapporteur**

Pr **Alain Blum**

Professeur des Universités, Praticien hospitalier

Pr **Guillaume Penel**

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Pr **Anne Cotten**

Professeur des Universités, Praticien hospitalier  
**Directrice de thèse**

## Remerciements

Je remercie:

Le Professeur Anne Cotten, pour m'avoir guidé dans mon travail de thèse, avec mon admiration pour son énergie, sa rigueur et ses grandes compétences.

Les Professeurs Catherine Cyteval et Jean-Luc Drapé, qui m'ont fait l'honneur d'être mes Rapporteurs.

Les Professeurs Alain Blum et Guillaume Penel, qui ont accepté de participer au Jury.

Les Professeurs Pierre Hardouin et Guillaume Penel ainsi que toute l'équipe du laboratoire de recherche PMOI au sein duquel ce travail s'est déroulé.

Julia Salleron et Valérie Deken, de l'unité de Biostatistiques de Lille 2, pour l'analyse statistique.

Aurélien Monnet, qui m'a tout expliqué sur les séquences STEAM & PRESS.

Nicolas Ducere, petit génie du « Word » pour mac....

Tous les "témoins", dans leur « spectres » je vois beaucoup de mes amis....

*Je dédie cette Thèse,*

*A Flore,*

*qui m'a aidé et supporté dans ce travail. Sans toi je n'aurais jamais pu y arriver.*

## Table des matières

<b>1. INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>1</b>
1.1. RATIONNEL DE L'ETUDE.....	1
1.2. LA MOELLE OSSEUSE JAUNE EST-ELLE UN ORGANE SPECIFIQUE ?.....	2
1.3. LIENS POTENTIELS ENTRE CERTAINES PATHOLOGIES ET LA MOELLE OSSEUSE JAUNE.....	10
1.4. EXPLORATION DE LA MOELLE OSSEUSE JAUNE.....	14
1.5. OBJECTIFS DE LA RECHERCHE.....	18
<b>2. MISE AU POINT DE LA TECHNIQUE DE SPECTROSCOPIE <sup>1</sup>H PAR IRM 3 TESLA ET EVALUATION DE LA REPRODUCTIBILITE DES DONNEES SPECTROSCOPIQUES.....</b>	<b>20</b>
2.1. ETAT DE LA QUESTION.....	20
2.2. MISE AU POINT DE LA TECHNIQUE IRM ET SPECTROSCOPIQUE.....	21
<b>3. REPRODUCTIBILITE DE LA SPECTROSCOPIE <sup>1</sup>H PAR IRM 3 T A LA HANCHE.....</b>	<b>27</b>
3.1. OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	27
3.2. MATERIELS ET METHODES D'EVALUATION.....	28
3.3. RESULTATS.....	30
3.4. DISCUSSION DES RESULTATS.....	32
3.5. LIMITES DE L'ETUDE.....	34
3.6. SYNTHESE ET CONCLUSIONS.....	34
<b>4. SPECTROSCOPIE <sup>1</sup>H PAR RESONANCE MAGNETIQUE A 3 TESLA DE LA MOELLE OSSEUSE DE LA HANCHE CHEZ UNE POPULATION TEMOIN: CARACTERISTIQUES NORMALES ET EVALUATION DE L'INFLUENCE DE L'AGE ET DU SEXE.....</b>	<b>36</b>
4.1. OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	36
4.2. MATERIELS ET METHODES D'EVALUATION.....	36
4.3. RESULTATS.....	38
4.4. DISCUSSION DES RESULTATS.....	42
4.5. LIMITES DE L'ETUDE.....	44
4.6. SYNTHESE ET CONCLUSIONS.....	44
<b>5. APPORT DE LA SPECTROSCOPIE <sup>1</sup>H PAR RESONANCE MAGNETIQUE 3 TESLA A L'EVALUATION DE LA PATHOLOGIE DE LA MOELLE OSSEUSE DE LA HANCHE.....</b>	<b>46</b>

5.1. ETAT DE LA QUESTION.....	46
5.2. OSTEONECROSE DE LA TETE FEMORALE .....	47
5.3. ANOREXIE MENTALE.....	50
<b>CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>53</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>54</b>
<b>RESUME.....</b>	<b>74</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>75</b>

# Abréviations

<b>3 T</b>	3 Tesla
<b>CG</b>	Contenu Graisseux
<b>DXA</b>	Absorptiométrie Biphotonique aux Rayons X
<b>ICS</b>	Index de Conversion Spectroscopique
<b>IDEAL</b>	Iterative Decomposition with Echo Asymmetry and Least square
<b>IMC</b>	Index de Masse Corporelle
<b>IRM</b>	Imagerie par Résonance Magnétique
<b>IRMS</b>	Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire
<b>MO</b>	Moelle Osseuse
<b>MOH</b>	Moelle Osseuse Hématopoïétique
<b>MOJ</b>	Moelle Osseuse Jaune
<b>MSC</b>	Cellules souches progénitrices et mésenchymateuses (précurseurs des ostéoblastes et des adipocytes)
<b>ONTF</b>	Ostéonécrose Aseptique de la Tête Fémorale
<b>TABc</b>	Tissu Adipeux Blanc
<b>TABn</b>	Tissu Adipeux Brun
<b>VDI</b>	Volume d'intérêt

<b>1. INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. RATIONNEL DE L'ETUDE.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. LA MOELLE OSSEUSE JAUNE EST-ELLE UN ORGANE SPECIFIQUE ?.....</b>	<b>2</b>
1.2.1. Données générales concernant la moelle osseuse .....	2
1.2.2. Spécificités anatomiques de la moelle osseuse jaune .....	4
1.2.3. Spécificité du développement de la moelle osseuse jaune .....	5
1.2.4. Spécificité de la fonction de la moelle osseuse jaune.....	6
1.2.5. Spécificité de l'adipocyte de la moelle osseuse jaune .....	8
<b>1.3. LIENS POTENTIELS ENTRE CERTAINES PATHOLOGIES ET LA MOELLE OSSEUSE JAUNE .....</b>	<b>10</b>
- VIEILLISSEMENT .....	10
- OSTEOPOROSE .....	10
- TROUBLES DE L'ALIMENTATION.....	11
- CENOLISME .....	11
- OSTEONECROSE DE LA TETE FEMORALE.....	12
- MALADIE DE LEGG-PERTHES-CALVE (LPC) .....	12
- AUTRES PATHOLOGIES .....	12
<b>1.4. EXPLORATION DE LA MOELLE OSSEUSE JAUNE .....</b>	<b>14</b>
<b>1.5. OBJECTIFS DE LA RECHERCHE .....</b>	<b>18</b>

# 1. Introduction générale

## 1.1. Rationnel de l'étude

Cette thèse a été réalisée au sein du laboratoire d'accueil EA 4490: Physiopathologie des maladies osseuses inflammatoires (PMOI), qui associe des biologistes, des rhumatologues, des chirurgiens orthopédistes, des chirurgiens dentistes et des radiologues.

L'une des thématiques de ce laboratoire de recherche repose sur l'hypothèse que des altérations intra-osseuses, liées à l'adiposité médullaire et à ses répercussions sur l'inflammation, peuvent jouer un rôle important dans la physiopathologie de certaines maladies de la moelle osseuse (MO). Ces altérations locales, actuellement mal connues, correspondent à une modification de la répartition des différents constituants du tissu osseux et impliquent des interactions entre ostéogenèse et adipogenèse.

Mon sujet de thèse a porté sur l'apport de la spectroscopie par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) à 3 Tesla dans l'évaluation de la physiopathologie de la moelle osseuse de la hanche.

Mon travail de thèse étant centré sur l'adiposité médullaire, je présenterai dans l'introduction générale (chapitre 1) les connaissances et incertitudes résiduelles concernant ce tissu. Puis, l'enchaînement des différents chapitres sera le reflet de l'approche méthodologique appliquée au cours de mon travail de recherche. Un premier travail concerne la mise au point de la technique spectroscopique (validation des séquences et paramètres techniques) (chapitre 2). J'ai ensuite testé la reproductibilité de cette technique et évalué s'il existait des différences significatives entre les deux côtés (hanche droite et gauche) chez un même individu (chapitre 3). J'ai ensuite déterminé les valeurs de référence du contenu graisseux du fémur proximal en tenant compte de l'influence de l'âge et du sexe (chapitre 4).

Sur la base de ces données, j'ai enfin pu aborder certaines conditions pathologiques de la moelle osseuse, notamment l'ostéonécrose de la tête fémorale et l'anorexie mentale (chapitre 5).

## 1.2. La moelle osseuse jaune est-elle un organe spécifique ?

Le tissu graisseux est une structure anatomique complexe.

Il peut être divisé en :

- *tissu adipeux blanc*, qui représente la vaste majorité du tissu adipeux. L'apparence blanche de ce tissu résulte du nombre plus faible de mitochondries dans les adipocytes. Les adipocytes blancs accumulent des acides gras et stockent de l'énergie. Deux sous-types majeurs de tissus adipeux blancs ont été identifiés, la graisse sous-cutanée et la graisse viscérale (plus active métaboliquement que la graisse sous-cutanée) (1,2).

- *tissu adipeux brun*. Son rôle le plus important est d'assurer la thermogénèse, en particulier chez les petits mammifères et les nouveaux nés (3).

Le tissu adipeux de la MO, appelé moelle osseuse jaune (MOJ), constitue une catégorie différente de tissu adipeux (1,4). Le rôle fondamental de la MOJ est désormais admis, même s'il reste encore incomplètement élucidé (5-7). Ce tissu ne doit plus être assimilé à un simple « remplissage » du vide présent au sein de l'os spongieux.

Dans les paragraphes suivants, après avoir rappelé certaines données générales sur la moelle osseuse, nous nous concentrerons sur la MO jaune en développant les éléments qui plaident en faveur d'un rôle indépendant de ce tissu par rapport au tissu adipeux blanc ou brun, tout comme le montrent la spécificité de ses caractéristiques anatomiques, de son développement et de ses fonctions particulières. De plus l'adipocyte de la MO semble avoir des caractéristiques métaboliques et fonctionnelles spécifiques.

Cette première partie est indispensable pour comprendre l'intérêt de ma thèse.

### 1.2.1. Données générales concernant la moelle osseuse

La moelle osseuse est l'organe hématopoïétique principal, à l'origine des grandes lignées cellulaires et donc des érythrocytes, des granulocytes, des monocytes, des lymphocytes et des plaquettes (8). Elle se situe en particulier dans la cavité centrale des os longs, entre les mailles de l'os trabéculaire ou spongieux (**fig. 1**).

Elle occupe 85% du volume disponible dans la cavité médullaire du squelette total, les 15% restant sont représentés par l'os spongieux lui-même (9). Macroscopiquement la moelle est rouge ou jaune, cette différence s'explique par sa composition. En effet, elles sont constituées en grande partie par du tissu

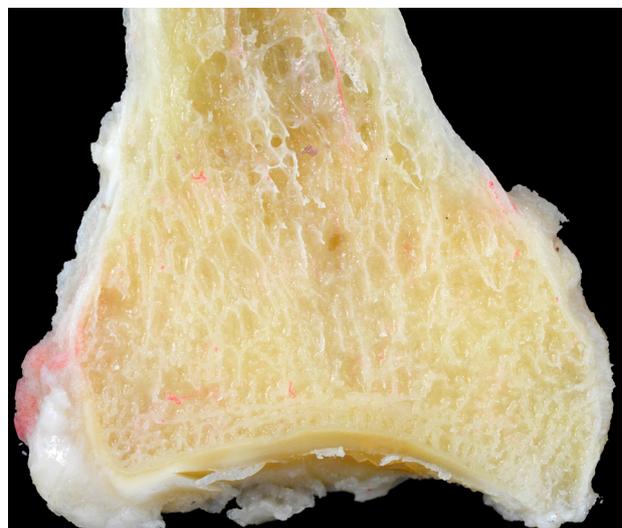


Figure 1 - Mailles de l'os spongieux au niveau de l'épiphyse distale du radius

adipeux hydrophobe, mais en proportions différentes, ainsi la moelle jaune contient 80% de graisse (pour 15% d'eau et 5% de protéines), alors que la moelle rouge est constituée de seulement 40% de graisse (pour 40% d'eau et 20% de protéines) (10,11).

Chez l'adulte, ces deux types de moelle présentent des spécificités de répartition, puisque la moelle jaune siège principalement dans le squelette appendiculaire, tandis que la moelle rouge a un tropisme particulier pour le squelette axial, la racine des membres, les côtes et le sternum (12,13).

Leur vascularisation est également très différente. En effet, dans la moelle rouge il existe un réseau vasculaire abondamment ramifié, appelé sinusoides, qui fait suite aux capillaires. Ce réseau permet un important transfert de cellules et de molécules entre les compartiments intra et extravasculaires de la moelle, grâce à la membrane basale et aux cellules adventitielles de ces sinusoides qui forment une couche discontinue à la périphérie de l'endothélium vasculaire. En revanche, dans la moelle osseuse jaune, le réseau vasculaire est plus lâche et la membrane basale des capillaires est continue (14,15).

A la naissance, quels que soient les os, l'os spongieux contient du tissu hématopoïétique fonctionnellement actif (16). Avec l'âge, le microenvironnement hématopoïétique de la moelle rouge est progressivement remplacé par des adipocytes. Cette « conversion » ou « dégénérescence graisseuse » de la MO rouge en MO jaune est un processus dynamique réversible (17,18).

Au squelette périphérique, le processus débute aux diaphyses et progresse jusqu'aux extrémités proximales et distales des os longs. Il intéresse ensuite les os plats du squelette axial, puis les vertèbres (19-21).

Avec l'âge, l'augmentation de l'adiposité de la MO est en moyenne de 7% tous les dix ans (22-27), avec des différences selon les régions anatomiques : au rachis lombaire, la composante graisseuse dans la MO augmente de 30% chez les enfants âgés de 10 ans à 70% chez les sujets de 60 ans ; dans le calcaneum, elle est de 90% chez les enfants et reste stable (24) ; dans la crête iliaque, elle passe de 15% à 60% entre 20 et 65 ans (28).

Après l'âge de 25 ans, la moelle rouge est principalement retrouvée dans le squelette axial, les côtes, le sternum et les métaphyses fémorales et humérales, avec une augmentation progressive de la proportion en cellules graisseuses (29). L'augmentation totale de la graisse de la MO peut être extrapolée à environ 3-5% du poids du corps. Cependant, il existe des différences interindividuelles importantes, dépendant de facteurs comme l'âge, le sexe ou la masse osseuse (30).

### 1.2.2. Spécificités anatomiques de la moelle osseuse jaune

L'importance de l'adiposité médullaire n'est pas corrélée à la quantité de la graisse viscérale ou sous-cutanée, ce qui suggère son indépendance. L'anorexie mentale en est l'illustration la plus démonstratrice. En effet, alors qu'il existe une maigreur extrême chez ces patients, une augmentation de la graisse de la MO a été observée (31-33). De plus, la quantité de MO jaune n'est corrélée à aucun paramètre anthropométrique comme le ratio tour de taille/tour de hanche (23).

L'aspect des adipocytes de la MO jaune diffère de celui des adipocytes du tissu adipeux blanc ou brun. D'un point de vue macroscopique, le tissu adipeux de la MO est de couleur jaune en raison de la présence relativement importante de mitochondries (supérieure à celle du tissu adipeux blanc). De plus, la taille des adipocytes de la MO jaune dépend principalement de leur contenu en lipides et elle est inférieure à celle des adipocytes du tissu adipeux blanc.

Au niveau de la crête iliaque, la taille moyenne des adipocytes de la MO jaune a été mesurée à 65  $\mu\text{m}$  pour un contenu graisseux de 50% et à 50  $\mu\text{m}$  pour un contenu graisseux de 15% (34). En revanche, le diamètre des adipocytes du tissu adipeux blanc était de 92  $\mu\text{m}$  dans la graisse sous-cutanée et de 82.5  $\mu\text{m}$  dans la graisse viscérale du péritoine (35). Dans le tissu adipeux du lapin, ces mêmes différences ont été retrouvées (adipocytes de la MO jaune de plus petite taille (46  $\mu\text{m}$ ) que ceux de la graisse viscérale périnéale (70  $\mu\text{m}$ )) (36). De plus, dans l'obésité, les adipocytes du tissu adipeux blanc peuvent atteindre jusqu'à 6 à 7 fois leur volume normal, ce qui ne se produit pas pour les adipocytes de la MO jaune. Ainsi, l'augmentation du contenu graisseux de la MO jaune peut s'expliquer principalement par l'augmentation du nombre mais également de la taille des adipocytes (37,38).

D'autres différences entre les adipocytes de la MO et du tissu adipeux blanc ont été rapportées.

Les adipocytes de la MO sont dispersés au sein du tissu hématopoïétique alors que ceux de la graisse sous-cutanée ou péri-viscérale sont organisés en lobules graisseux. De plus, la composition cellulaire de la graisse de la MO est homogène car elle n'est constituée que de cellules adipocytaires matures alors que dans le tissu adipeux blanc, on retrouve des pré-adipocytes et des macrophages. Cependant, il n'est pas encore clairement établi que le tissu adipeux de la moelle est bien constitué d'une population homogène de cellules avec des caractéristiques spécifiques propres, et non d'une population de cellules mixtes entre les adipocytes du tissu adipeux blanc et brun, avec des caractéristiques intermédiaires (4).

### 1.2.3. Spécificité du développement de la moelle osseuse jaune

Il existe deux principaux types de cellules souches dans la MO, les cellules souches hématopoïétiques (HSPCs) et les cellules souches progénitrices et mésenchymateuses (précurseurs des ostéoblastes et des adipocytes) (MSCs) (39,40).

Les HSPCs résident dans un microenvironnement ultra-spécialisé dans les trabécules osseuses appelées niches (41-43). L'hématopoïèse est un processus compartimenté à l'intérieur du tissu hématopoïétique. L'érythropoïèse prend place dans des unités anatomiques spécifiques (îlots érythroblastiques) alors que la granulopoïèse se produit dans des foyers moins bien individualisés et que la mégakaryopoïèse a lieu à proximité de la paroi endothéliale (8).

Le processus d'adipogenèse (30) requiert le recrutement de MSCs, la présence de multiples facteurs de croissance et l'activation de facteurs de transcription de protéines spécifiques (4,39,44-50).

Les facteurs clé de cette transcription de protéines sont le récepteur  $\gamma$  de la prolifération du peroxydase activé (PPAR $\gamma$ ) et C/EBP $\alpha$  (C/EBP $\alpha$  appartient à la famille des facteurs de transcription C/EBP « CCCAT/Enhancer binding Protein ») (51-53).

PPAR $\gamma$  induit C/EBP $\alpha$  (54) qui, à son tour, augmente l'expression de PPAR $\gamma$  (55). L'activation du PPAR $\gamma$  régule positivement la différenciation des adipocytes en se comportant comme un régulateur négatif de la différenciation ostéogénique (30,56-59). En revanche, le RUNX2 est le facteur clé de la transcription ostéogénique. Il exerce un rôle positif de la lignée ostéogénique et une action suppressive sur l'adipogenèse (60,61).

Au sein de la moelle osseuse, la différenciation des MSCs en adipocytes ou en ostéoblastes est régulée de manière compétitive, les mécanismes favorisant la formation d'une cellule inhibent ceux qui induisent l'autre lignée. Cette balance (**fig. 2**) est régulée par de nombreux facteurs :

- *des facteurs hormonaux.* La dexaméthasone induit directement l'expression de PPAR- $\gamma$  par les ostéoblastes humains (62). A l'opposé, les œstrogènes diminuent l'adiposité de la MO (63,64). Ainsi, l'ovariectomie (65), tout comme l'orchydectomie chez les animaux (66), augmente l'adiposité de la MO.
- *des hormones digestives et des facteurs de nutrition.* La leptine, injectée dans l'hypothalamus du rat, diminue la population des adipocytes dans la MO (67). Cette hormone inhibe in vitro l'adipogenèse. Dans les MSCs ostéoporotique, son action est entravée, ce qui pourrait favoriser l'accumulation de lipides dans la MO au cours de cette pathologie (68,69). La ghréline favorise par contre l'adipogenèse de la MO (70). Par ailleurs, la privation en nourriture augmente l'adiposité de la MO chez les rats (71) comme chez les humains (33).

- *le stress oxydatif dû au vieillissement.* Le stress oxydatif correspond à un type d'agression des constituants de la cellule par des radicaux libres, qui sont des espèces réactives oxygénées (ROS, Reactive Oxygen Species en anglais) et des ROS azotées (RONS, n pour nitrogène en anglais). Ce processus augmente avec l'âge de l'individu. Les radicaux libres de l'oxygène augmentent l'adipogenèse (72) et ont un effet négatif sur l'ostéogenèse (73,74). Le PPAR $\gamma$ , qui joue un rôle clé dans la transcription adipogénique, est impliqué dans la protection contre le stress oxydatif (61).
- *les contraintes mécaniques.* La charge mécanique semble augmenter l'expression du facteur de transcription ostéogénique et diminuer celle du facteur de transcription adipogénique (75,76).

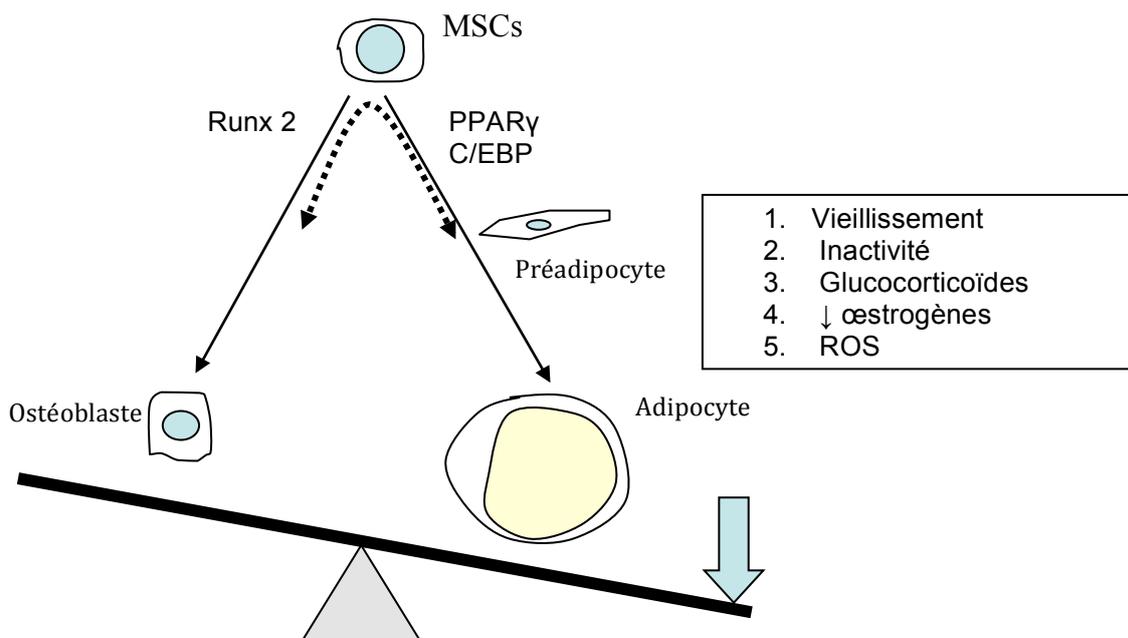


Figure 2 - Mécanismes de régulation de l'adipogenèse

#### 1.2.4. Spécificité de la fonction de la moelle osseuse jaune

Les particularités décrites jusqu'à maintenant suggèrent que la MO adipeuse et ses adipocytes possèdent un rôle spécifique. De plus, l'absence de corrélation entre la quantité de l'adiposité de la MO et le poids d'un individu, son index de masse corporelle ou la quantité totale de la graisse de son corps, mesurée par absorptiométrie biphotonique aux rayons X (DPX), est considérée comme un fort argument témoignant du fait que le tissu adipeux médullaire est un compartiment graisseux indépendant (77).

Dans ce paragraphe nous évaluerons plusieurs conditions au cours desquelles la MO jaune exerce des fonctions spécifiques et qui diffèrent de celles du tissu adipeux blanc ou brun.

### Interactions entre MO adipeuse, hématopoïèse et immunité systémique

Dans la MO, les adipocytes sont dans un microenvironnement distinct contenant des liquides biologiques et des facteurs solubles qui sont produits localement, au voisinage des cellules hématopoïétiques (77-80). Ce microenvironnement médullaire est bien équilibré, ce qui est crucial pour l'hématopoïèse normale (79). Ainsi, la MO grasseuse exerce une action positive sur l'hématopoïèse en produisant des cytokines et l'énergie nécessaire pour le développement des cellules hématopoïétiques (81,82). Cependant, il est maintenant démontré que les adipocytes peuvent également contribuer de façon négative à l'hématopoïèse (82-84).

La lymphopoïèse a lieu au sein du microenvironnement que représente la MO des mammifères adultes (85). Les adipocytes de la MO supportent la différenciation myéloïde et lymphoïde complète des cellules CD34+, qui sont des cellules progénitrices de la lignée lymphoïde et myéloïde exprimant la glycoprotéine transmembranaire CD34 (86). La proximité des adipocytes et des cellules lymphopoïétiques au sein de la MO est en faveur d'un rôle possible des adipocytes dans la fonction immunitaire (1,87).

### Interaction entre MO jaune et masse osseuse

De nombreuses données sont en faveur d'un rôle négatif de la MO adipeuse sur la masse osseuse. Une augmentation de l'adiposité de la MO est retrouvée dans l'ostéoporose et dans l'ostéopénie (88). Chez des patients diabétiques traités par rosiglitazone, il a été décrit une ostéopénie liée à une augmentation de l'activité de la PPAR- $\gamma$  (88). De plus, il a été démontré que la diminution de l'activité de la PPAR- $\gamma$  favorisait l'augmentation de la masse osseuse (57).

Ainsi, au cours des principales causes de perte osseuse (vieillesse, ostéoporose, glucocorticoïdes, immobilisation), l'excès d'adiposité de la MO semble être corrélé avec l'ostéopénie. Cependant, le rôle exact des adipocytes médullaires dans la physiologie osseuse n'est pas clair puisque chez certains modèles de rats souffrant d'un manque d'adipocytes, ceux-ci sembleraient cependant posséder une masse osseuse normale (89). On signalera également que les adipocytes augmentent la différenciation des ostéoclastes (90).

Les interactions entre la MO grasseuse et l'os ne sont donc pas complètement élucidées, mais l'augmentation de l'adiposité médullaire et l'ostéopénie sont généralement associées.

### Fonctions endocrines et métaboliques de la MO jaune

Certaines adipokines, en particulier la leptine et l'adiponectine, sont produites dans la MO jaune mais en petites quantités en comparaison avec le tissu adipeux blanc (4). Les adipokines semblent participer à la régulation du microenvironnement de la MO et une implication positive directe de l'adiponectine dans la formation de l'os a été démontrée (91).

### Rôle de la MO jaune dans la nutrition locale

L'adiposité de la MO semble constituer une source d'énergie en raison de sa capacité de sécrétion d'acides gras et d'adipokines (81,94). Cependant, cette libération d'acides gras est moins importante dans le tissu adipeux médullaire que dans le tissu adipeux de l'épiploon.

Ceci suggère une implication du tissu adipeux de la MO dans le métabolisme oxydatif et dans la nutrition locale (en particulier des membranes des érythrocytes), plutôt que dans le ravitaillement en énergie global (93). De plus, l'adiposité médullaire semble participer au métabolisme lipidique en épurant et en stockant les triglycérides circulants, procurant ainsi un réservoir d'énergie localisé pour les situations d'urgence comme la consolidation d'une fracture osseuse (4,81).

#### Rôle de la MO jaune dans la nutrition générale

Concernant l'apport d'énergie pour l'organisme, l'adiposité de la MO se comporte différemment par rapport au tissu adipeux blanc. Dans le diabète de type 1, l'anorexie mentale et la privation en calories, l'adiposité de la MO est augmentée de façon marquée en dépit d'une réduction en masse graisseuse totale (32,33,63,94-96). A l'opposé, lors d'une consommation élevée de graisses alimentaires ou dans l'obésité, il y a peu d'augmentation de l'adiposité médullaire (97).

#### Thermogenèse et MO jaune

L'activité de thermogenèse de la MO et sa réponse à de faibles températures ont été décrites par Gimble et al. (98). Ainsi, la distribution de la graisse dans les régions trabéculaires distales comme au calcaneum, os naturellement exposé aux faibles températures, pourrait être corrélée à son rôle dans l'activité thermogénique (81,82).

### **1.2.5. Spécificité de l'adipocyte de la moelle osseuse jaune**

L'adipocyte de la moelle osseuse jaune (MOJ) ressemble plus à celui du tissu adipeux blanc qu'à celui du tissu adipeux brun. Cependant certaines différences peuvent être retrouvées concernant sa fonction.

- Les adipocytes de la MOJ sont dans une phase plus précoce de différenciation par rapport aux adipocytes du tissu adipeux blanc. En effet, les adipocytes de la MOJ expriment massivement un groupe de gènes typiques des phases précoces de la différenciation adipocytaire (comme CEBP/β, KLF4 and EGR1&2, INHBA and S6K1), alors que ces gènes sont moins exprimés par les adipocytes de la graisse de l'épididyme (99). De même, les adipocytes du tissu adipeux blanc entourant l'épididyme expriment des protéines spécifiques de l'adipocyte mature à un niveau significativement supérieur à celui des adipocytes de la MOJ (100).
- Les adipocytes de la MOJ pourraient participer à la dissipation de l'énergie. L'expression de gènes intervenant dans la dissipation de l'énergie (comme β3AR and UCP1) est typique des cellules adipeuses brunes et a été retrouvé dans des cellules de la MOJ, alors qu'elles sont absentes de celles du tissu adipeux blanc (4).

- Les adipocytes de la MOJ sont peu efficaces dans la production d'énergie, en particulier avec l'âge. Cette production d'énergie à partir des acides gras se produit dans les mitochondries. Elle est typiquement assurée par les cellules adipeuses du tissu blanc. L'expression de certains gènes, associés à une réduction de la fonction mitochondriale comme le TNF $\alpha$ , le p53, le BCL2L11 ou l'IL-1 $\beta$ , a été retrouvée de manière significativement plus importante dans les adipocytes de la MOJ que dans ceux de la graisse blanche de l'épididyme (100). De plus, une réduction de l'expression de protéines participant à l'oxydation des acides gras et à la réponse thermogénique à la stimulation adrénérgique, suggère qu'avec le vieillissement, le phénotype des adipocytes de la moelle jaune se modifie pour devenir encore moins efficace dans la production d'énergie (4).
- La synthèse des acides gras est moins importante dans les adipocytes de la MOJ que dans les adipocytes du tissu adipeux blanc. La chromatographie à gaz et l'incorporation de palmitate isotopique indiquent que l'accumulation des acides gras est une fonction secondaire des adipocytes de la MOJ (36). Les adipocytes de la MOJ jaune sont capables de relâcher des acides gras libres après stimulation par les catécholamines, mais en quantités nettement inférieures par rapport aux adipocytes du tissu adipeux blanc (93). De plus, l'expression de gènes participant à la synthèse et à l'oxydation des acides gras était inférieure dans les adipocytes de la MOJ comparativement aux adipocytes de l'épididyme. En revanche, la composition des acides gras n'est pas différente entre les adipocytes de la MOJ et ceux du tissu adipeux blanc. Selon les études de Griffith et al. (101), le tissu adipeux de la MOJ est composé de 29% d'acides gras saturés, 51% d'acides gras mono insaturés et 20% d'acides gras polyinsaturés. Il existe 22 acides gras différents identifiés dans la MOJ. Les acides gras les plus abondants sont l'acide oléique [C18:1 (n-9)], l'acide palmitique [C16:0] et l'acide linoléique [C18:2 (n-6)]. Aucune corrélation n'a été retrouvée entre l'âge et la composition des acides gras de la MOJ.
- Les adipocytes de la MOJ de modèles animaux traités par du rosiglitazone, présentent une nette augmentation de l'expression de la leptine et de l'adiponectine, ce qui suggère que la graisse de la MO possède une activité endocrine similaire à celle du tissu adipeux blanc (4). Cependant, cette sécrétion paraît moins importante que la sécrétion par le tissu adipeux blanc. En effet, les études de Laharrague et al (102) ont montrées que la leptine est exprimée dans l'adipocyte de la MOJ à un niveau inférieur à celui des adipocytes de l'épididyme (100).

### 1.3. Liens potentiels entre certaines pathologies et la moelle osseuse jaune

On sait depuis de nombreuses années que la réduction du volume osseux dans l'ostéopénie et l'ostéoporose liées à l'âge est associée à une augmentation de l'adiposité médullaire (2,23,28). Cependant, des études récentes suggèrent que cette augmentation n'est pas un simple mécanisme de compensation mais que la MO jaune joue un rôle actif dans la réduction de la masse osseuse (2,25,95,103).

De plus, le rôle de la MO jaune ne semble pas se limiter à des interactions avec le volume osseux. En effet, plusieurs études plaident en faveur de son rôle dans un panel beaucoup plus vaste de pathologies (30,32,83,104-107).

Au cours de ce paragraphe nous allons donc rapporter les principales conditions pathologiques et physiopathologiques au cours desquelles la MO jaune pourrait intervenir.

#### - Vieillesse

L'adiposité de la MO augmente avec l'âge (2,23,28,103). Lors du vieillissement normal, l'augmentation de l'adiposité de la moelle et l'ostéopénie sont associées (25,95,108,109). Les cellules souches progénitrices et mésenchymateuses, précurseurs des ostéoblastes et des adipocytes (MSCs) se différencient préférentiellement en adipocytes, avec une augmentation de l'expression des gènes de la PPAR $\gamma$ 2 et une diminution de l'expression du gène Runx2 (110-112). Cette tendance des cellules MSCs à se différencier en adipocytes est plutôt spécifique, étant donné que les adipocytes médullaires présentent un phénotype plus pro-adipogénique et anti-ostéoblastogénique que les adipocytes sous cutanés lors du vieillissement (113).

#### - Ostéoporose

L'ostéoporose est associée à une augmentation de la MO jaune (qui est plus marquée encore que dans l'ostéopénie) (23,28,29,98,103,105,114-117).

Plusieurs éléments soulignent le rôle de l'adipocyte médullaire dans la pathogénie de cette affection. Les adipocytes obtenus à partir de cellules progénitrices mésenchymateuses (MSCs) de sujets ostéoporotiques présentent un potentiel adipogénique augmenté par rapport à des cellules contrôles (68,69,118-122).

Certains facteurs de risque génétiques et hormonaux de l'ostéoporose sont liés à l'adiposité médullaire. Le gène LRP5 contrôle la différenciation des MSCs en ostéoblastes ou en adipocytes. Des mutations de ce gène favorisent la différenciation adipocytaire et pourraient intervenir dans la pathogénie de l'ostéoporose. De plus, les sujets ayant une masse osseuse élevée présentent une différenciation marquée des MSCs vers la filière ostéoblastique et une inhibition des cellules mésenchymateuses proadipocytaires (123).

Une diminution de l'œstradiol endogène au cours de la ménopause est également associée à une augmentation du ratio adipocyte/ostéoblaste et de la MO jaune (23,124-126). Les femmes ménopausées traitées par estrogènes présentent un nombre nettement inférieur

d'adipocytes que celles non traitées. (63). Chez les souris, une augmentation de la MO jaune a été observée après orchidectomie (66).

Plusieurs causes d'ostéoporose secondaires sont associées à une augmentation de la MO jaune (127). En particulier, il a été démontré que les glucocorticoïdes augmentaient l'adipogénèse (128). Cependant des études réalisées in vivo, à l'aide d'une tomodensitométrie quantitative, n'ont pas mis en évidence de différence entre la graisse intravertébrale de sept patients avec un syndrome de Cushing par rapport à des volontaires sains (129).

Il est intéressant de noter que certains médicaments utilisés dans le traitement de l'ostéoporose ont comme principale cible l'adipogénèse. Les bisphosphonates sont classiquement considérés comme des médicaments anti résorption osseuse. Ils favorisent une différenciation ostéoblastique des cellules MSCs en inhibant in vitro la différenciation adipocytaire (130,131). La parathormone, utilisée dans le traitement de l'ostéoporose post ménopausique, favorise l'augmentation de la densité osseuse, tout en réduisant l'adipogénèse et en augmentant la formation de l'os, ceci avec peu d'effets sur la réduction de la résorption osseuse (132).

La vitamine D inhibe in vitro la différenciation adipogénique des cellules MSCs et réduit la MOJ in vivo (133,134).

Chez les patients présentant une ostéoporose par immobilisation, des lobules graisseux sous-chondraux ont été visualisés en IRM (135,136), suggérant l'implication potentielle du tissu adipeux dans la pathogénie de cette affection.

- Troubles de l'alimentation

Il existe une corrélation positive entre l'adiposité de la MO et la graisse viscérale, et ceci indépendamment de valeurs de densité osseuse. Ainsi, les femmes avec une quantité importante de graisse viscérale ont une MO plus adipeuse (33).

L'ostéoporose est fréquente dans l'anorexie mentale avec comme conséquence une augmentation du risque fracturaire (96,137-140). Le contenu graisseux de la MO est augmenté, ce qui contraste avec l'extrême maigreur des patients. De plus, la majoration de ce contenu graisseux est disproportionnée par rapport à la sévérité de l'ostéopénie (31, 32,129). Ces données issues d'études IRM (33) suggèrent une conversion prématurée de la moelle rouge en moelle jaune chez ces adolescents. Des données similaires ont été observées dans des modèles animaux (71, 141,142).

- Enolisme

Une augmentation de l'adiposité médullaire a également été observée chez des sujets alcooliques et dans des modèles de rongeurs avec ingestion chronique d'alcool (143). Dans ce dernier cas, la culture de MO montrait une adipogénèse augmentée et une ostéoblastogénèse diminuée (144-147). La résistance squelettique à l'hormone de croissance en rapport avec l'abus d'alcool semble constituer un mécanisme important dans la réduction de la formation osseuse et dans l'augmentation de l'adiposité de la moelle osseuse (146,148).

- Ostéonécrose de la tête fémorale

L'ostéonécrose aseptique de la tête fémorale (ONTF) est une pathologie relativement fréquente, souvent associée à l'exogénose chronique ou à une corticothérapie, mais sa pathogénie reste incertaine (149). Une hypothèse récente est l'hypertrophie des adipocytes, ce qui entraînerait la compression des capillaires intra-osseux. Plusieurs éléments vont dans ce sens :

- un traitement par glucocorticoïdes produit une importante augmentation de l'adiposité médullaire (150) ;
- dans l'ONTF induite par les stéroïdes, des études autoptiques ont objectivé une augmentation significative de la taille des adipocytes de la MO à un stade précoce (151) ;
- une étude IRM de patients sous stéroïdes a mis en évidence une augmentation plus marquée de l'adiposité médullaire chez ceux développant une ONTF (152) ;
- l'alcool peut induire une adipogénèse dans le stroma de la MO (153-155) ;
- les accidents de décompression peuvent endommager les adipocytes médullaires, favorisant le relargage d'acides gras et de substances vasoactives, qui peuvent déclencher une coagulation intravasculaire disséminée (156).

Les interactions entre l'os et le tissu adipeux médullaire au cours de l'ONTF ont fait l'objet d'un article réalisé au sein du laboratoire de recherche PMOI actuellement en cours de publication (157).

- Maladie de Legg-Perthes-Calve (LPC)

La maladie de LPC est une pathologie proche de l'ONTF, survenant sur un squelette en croissance. Ses causes restent largement inconnues (158). Dans une étude réalisée sur des cadavres, une zone pâle de la tête fémorale, attribuée à un contingent important de cellules graisseuses, était objectivée (159). Une étude histopathologique d'échantillons chirurgicaux de 22 cas révélait une nécrose graisseuse au niveau de la tête fémorale (160). Cependant, contrairement à l'ONTF, ces données ne sont pas encore suffisantes pour supporter l'hypothèse de l'augmentation de la graisse de la MO dans le mécanisme de la maladie de LPC.

- Autres pathologies

On citera par ailleurs:

- *le diabète*. Chez l'homme, quel que soit le type de diabète, on observe une augmentation de l'adiposité de la MO (161). Cependant chez les souris, celle-ci est corrélée avec une masse osseuse faible dans le diabète de type 1 (94), mais pas dans le diabète de type 2 (162). Dans une étude réalisée sur un modèle murin d'hyper-insulinémie, il existait une masse osseuse élevée associée à une majoration du contenu graisseux (163). L'augmentation de la masse osseuse était due à un blocage du remodelage osseux, responsable d'une réduction de la « qualité » de l'os et d'une augmentation du risque fracturaire. D'autre part, l'augmentation du contenu graisseux était due au fait que l'hyper-insulinémie favorise la transcription de la PPAR- $\gamma$  et donc la différenciation adipocytaire.

Des patients diabétiques de type 2, traitées par thiazolidinediones (TZD), étaient exposés à un risque accru de fractures pathologiques. Il est intéressant de noter que les TZD sont des agonistes de la PPAR- $\gamma$ , qui une fois activée, favorise la filière adipogénique et inhibe l'ostéoblastogenèse. Malgré un contrôle efficace de la glycémie (162,164,165), les TZD favorisent l'augmentation de l'adiposité médullaire et réduisent la formation de l'os (56,111).

- *la scoliose*. Une diminution de la masse osseuse est observée dans la scoliose, avec des remplacements focaux de MO hématopoïétique plus fréquents que dans la MO de sujets normaux (166). Les MSCs des patients scoliotiques ont une capacité de différenciation ostéogénique diminuée en comparaison au groupe contrôle, alors que leur potentiel de différenciation adipogénique est similaire (167).

- *l'anémie aplasique*. Dans cette pathologie, il a été rapporté une augmentation de la composante grasseuse de la MO ainsi que du nombre et de la taille des adipocytes par rapport à d'autres maladies chroniques prolifératives (34). L'augmentation du nombre d'adipocytes au cours de cette affection suggère que l'adipogenèse inhibe l'hématopoïèse (83). Cependant, d'autres études remettent en cause le rôle de l'adiposité médullaire en expliquant son augmentation par l'effet iatrogène de la chimiothérapie et de la radiothérapie (168).

Nous avons donc jusqu'à présent évalué les arguments qui sont en faveur d'un rôle spécifique de la MO jaune.

Nous avons ainsi considéré un large panel d'affections au cours desquelles la MOJ pourrait jouer un rôle important dans leur pathogénie. Ces aspects ont fait l'objet d'un article de révision réalisé récemment au sein du laboratoire de recherche PMOI, dont Pierre Hardouin est l'auteur principal (169).

Dans la majeure partie de ces pathologies, qu'il s'agisse de maladies systémiques (ostéoporose, troubles du comportement alimentaire) ou locorégionales, l'atteinte de la hanche est fréquente. Ce lien entre altérations intra-osseuses, adiposité médullaire et localisation de la pathologie à la hanche, m'a amené à choisir cette région anatomique pour mon sujet de thèse.

Dans le paragraphe suivant, nous allons évaluer les différentes techniques permettant une quantification de la moelle osseuse, dont fait partie la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire, que nous détaillerons plus particulièrement.

## 1.4. Exploration de la moelle osseuse jaune

Au cours de ce paragraphe, nous effectuerons un rappel des différentes techniques permettant d'évaluer la MO jaune. Certaines d'entre elles ne sont pas des techniques d'imagerie mais elles sont utilisées dans la routine clinique ou dans des études spécialisées. Ainsi :

- **L'histopathologie** porte sur l'évaluation de frottis ou de carottes biopsiques de MO, généralement obtenues à partir du sternum ou de l'os iliaque. Les informations portent sur la cellularité, sur les altérations du stroma ou du réseau vasculaire et sur la présence d'une inflammation ou d'une nécrose. En fait, l'analyse essentielle porte sur les érythrocytes et les granulocytes (170,171) et seule une faible attention est habituellement portée aux cellules graisseuses.
- **L'histomorphométrie** est une méthode qualitative évaluant la microarchitecture et l'organisation des lamelles osseuses en microscopie. Certaines études histomorphométriques réalisées à partir de biopsies de la crête iliaque ont démontré une corrélation positive entre l'adiposité médullaire et l'âge des sujets et retrouvaient une augmentation de la graisse de la MO chez les patients atteints d'ostéoporose avec un faible volume trabéculaire osseux, ceci quel que soit leur sexe (23, 28, 116). D'autres études ont permis de quantifier les adipocytes dans la MO (nombre, pourcentage du volume adipocytaire par rapport au volume du tissu, diamètre total des adipocytes) (34,172). L'utilisation de méthodes stéréologiques basées sur au moins deux paramètres, comme le diamètre moyen des adipocytes et le nombre de cellules par  $\text{mm}^3$  de MO, est indispensable lorsque l'on veut calculer le diamètre réel des adipocytes (34,173). Takaku et al (174) ont récemment décrit la distribution cellulaire de la MO au niveau de la crête iliaque chez l'homme en utilisant, pour la première fois, un microscope confocal à balayage laser qui permet la visualisation en trois dimensions de différentes cellules de la MO.
- **La radiographie.** Bien que la composition en graisse de la moelle osseuse ne puisse pas être évaluée avec cette technique, le contenu graisseux de la MO interfère avec de nombreuses techniques basées sur les rayons X. La graisse médullaire induit un bruit qui peut influencer l'analyse de la texture et de la microarchitecture trabéculaire sur les radiographies. Ceci est particulièrement vrai pour les patients atteints d'ostéoporose (175).
- **La tomodensitométrie.** Sa place est également très limitée dans l'étude de la MO.
- **L'absorptiomètre biphotonique aux rayons X (DXA)** quantifie la densité minérale osseuse par la mesure de l'atténuation du faisceau de rayons X. Cette technique est largement utilisée chez les patients ostéoporotiques mais elle n'est pas informative sur le contenu de la MO en elle-même. Blake et al (101) ont démontré que la DXA ne prend pas en compte l'adiposité médullaire dans l'évaluation du risque fracturaire des vertèbres des

sujets ostéoporotiques. Cependant, on sait que les valeurs obtenues par la DXA sont influencées par la présence de la composante grasseuse de la MO (176).

- **La tomодensitométrie quantitative à double énergie** permet une évaluation de la taille et de la géométrie de l'os, une évaluation tridimensionnelle de celui-ci et une distinction entre os cortical et os trabéculaire (ce qui n'est pas possible avec la DXA). En effet, la perte osseuse trabéculaire pourrait être un meilleur indicateur de l'ostéopénie que la perte osseuse globale (177). Cependant, cette technique n'est pas recommandée car elle expose le patient à des degrés de radiations bien plus importants que la DXA (178). De plus, tout comme la DXA, cette technique ne permet pas une estimation de la MO jaune, mais ses résultats sont affectés par l'adiposité médullaire (179).
- **La scintigraphie osseuse** aux diphosphonates marqués au technétium 99m peut montrer l'activité ostéoblastique. Cette technique peut donc potentiellement être utile pour l'évaluation du renouvellement osseux et de l'infiltration de la moelle dans de nombreuses pathologies (180), mais sa spécificité et sa résolution spatiale sont plus faibles que celles de l'IRM (181).
- **L'imagerie par résonance magnétique** permet une évaluation non invasive de l'adiposité médullaire grâce à sa capacité à différencier, avec une sensibilité élevée, la moelle jaune de la moelle rouge (182). Cette imagerie accorde peu d'importance à l'étude du réseau cortico-spongieux trabéculaire mais elle fournit des informations originales sur le contenu non minéralisé de la cavité médullaire en reflétant la balance entre les composants gras et non gras de la MO (183).  
Cependant, cette technique ne permet pas de quantifier les différentes composantes de la MO.

Le signal de la moelle jaune, riche en lipides est élevé sur les images spin-écho pondérées en T1, il est intermédiaire à élevé sur les images spin-écho pondérées en T2 et T2 rapide (184) et faible sur les séquences avec suppression du signal de la graisse (185). En écho de gradient, son signal est influencé par l'importance du réseau trabéculaire (186). La MO jaune ne se rehausse pas de façon significative après injection de gadolinium (187).

L'intensité du signal de la moelle rouge, intermédiaire sur les images spin écho T1 ou T2, est généralement plus élevée que celle des muscles et plus faible que celle de la moelle jaune (188,189). Après suppression du signal de la graisse, son signal est intermédiaire à élevé, et donc supérieur à celui de la moelle jaune. Le contraste entre le signal des deux types de moelles est moins marqué sur les images pondérées en T2 qu'en T1 ou en STIR. Après injection intraveineuse de Gadolinium, le rehaussement de l'intensité du signal de la moelle rouge d'un sujet adulte est très discret en T1, bien que quantifiable (190,191).

Plusieurs techniques permettent d'analyser et de quantifier la MO jaune :

- **La séquence IDEAL** (IDEAL: *Iterative Decomposition with Echo Asymmetry and Least Squares*), obtenue à partir de l'algorithme utilisé dans la méthode Dixon (192), permet entre autre de séparer et de quantifier le signal de l'eau et le signal de la graisse. Elle peut être réalisée en prenant en considération les multiples

résonnances des lipides, et donc une plus large fraction du signal graisseux total. Pichardo et al (193) ont rapporté une faible concordance entre l'histologie et la technique IDEAL multi lipides (mesure chimique de la fraction graisseuse peu fiable) alors que la technique IDEAL simple lipide, basée sur la quantification du groupe méthylène seul, apparaît plus précise (193).

- **La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (SRMN).** L'utilisation de la SRMN est devenue une étape cruciale en routine clinique, en complément des séquences IRM conventionnelles, pour l'étude des tumeurs cérébrales ou prostatiques. Son introduction dans l'étude de la MO de la hanche est plus récente et sa place n'a pas encore été clairement définie (194).

La SRMN repose sur un principe fondamental : chaque proton possède un environnement électronique propre qui lui confère une fréquence de résonance propre. Chaque molécule résonnant à une fréquence distincte des autres est identifiée grâce à son déplacement chimique par rapport à une molécule de référence. L'unité de mesure est la partie par million (ppm) (195,196) et les valeurs ainsi obtenues correspondent à des rapports entre deux fréquences (Hz), aboutissant donc à un nombre sans dimension placé sur une échelle décroissante.

Ce déplacement chimique est constant d'un imageur à l'autre, quel que soit le champ magnétique et les caractéristiques techniques des séquences utilisées. Par contre, la résolution spectrale, qui correspond à la capacité à discriminer deux métabolites voisins, est directement liée à de nombreux facteurs comme l'intensité ou l'homogénéité du champ magnétique (196).

La spectroscopie est l'une des applications IRM qui profite le plus de la technologie à très haut champ magnétique (3 T et plus). Par rapport à un champ 1,5 T, le signal attendu est plus important, ce qui permet de réduire la durée d'acquisition ou la taille du voxel et d'obtenir ainsi une meilleure séparation des pics, liée à l'augmentation du déplacement chimique. L'IRM 3 T permet d'obtenir une résolution spatiale élevée, ce qui améliore la sensibilité des études spectroscopiques avec des temps d'acquisition relativement limités. De plus, l'utilisation d'une toute nouvelle génération d'antennes améliore l'homogénéité du champ, pré requis fondamental pour l'obtention de spectres de bonne qualité.

Les rapports métaboliques sont comparables à ceux observés en 1,5 T, ce qui permet une interprétation simple des examens en routine clinique. Cette technique permet la détection *in vivo* et *in vitro* de métabolites actifs autres que l'eau. Elle s'obtient à partir d'un appareil utilisant la même chaîne de radiofréquence et les mêmes antennes qu'une machine d'IRM classique. L'information recueillie est de type biochimique, couplée par la suite à l'image anatomique IRM correspondante. L'objectif de cet examen est la mise en évidence de tous les protons contenus dans les molécules au sein d'un volume d'échantillonnage.

Il existe deux types de séquences utilisées en spectroscopie, choisies selon le volume de la lésion à explorer et les données recherchées :

- *La spectroscopie multivoxel* (ou imagerie métabolique ou encore imagerie du déplacement chimique) consiste à obtenir l'information spectroscopique de

l'ensemble des voxels sur une ou plusieurs coupes. L'intérêt est que le volume global d'acquisition est beaucoup plus important, pouvant dépasser 100 cm<sup>3</sup>, que l'on peut segmenter en sous-volumes, au prix cependant d'un temps d'acquisition plus long (5 à 10 minutes), d'un rapport signal/bruit moins favorable et d'une quantification plus aléatoire des métabolites (197). Cette technique non invasive est basée sur la méthode décrite par Dixon (192), dans laquelle le signal IRM est séparé en deux signaux distincts, celui de la graisse et celui de l'eau. Le signal de la graisse peut alors être quantifié et exprimé en pourcentage représentant le contenu graisseux. Cette technique a été largement appliquée dans le domaine de la recherche, avec notamment la quantification du remplacement médullaire dans la maladie de Gaucher (198). En revanche, sa principale limite est l'allongement de la durée d'acquisition et une stabilité inférieure.

- *La spectroscopie monovoxel* permet de recueillir l'information métabolique d'un voxel unique, d'un volume compris entre 1 et 10 cm<sup>3</sup>. Le temps d'acquisition est faible et le rapport signal/bruit est plus favorable, permettant une quantification plus fiable des différents métabolites (197). Cette séquence doit être acquise avec deux temps d'écho (l'un court de 35 ms, l'autre long de 135 à 144 ms), afin d'échantillonner l'ensemble des métabolites.

Pour la réalisation de ce travail de recherche, nous avons préféré la spectroscopie monovoxel. Cette technique permet une analyse détaillée des différents pics de graisse contenus dans la moelle du volume d'intérêt, dans un temps d'acquisition plus court qu'avec une séquence multivoxel. La spectroscopie monovoxel est ainsi plus stable et de plus, mieux adaptée à l'étude des structures anatomiques dans lesquelles le signal peut ne pas être homogène, comme le fémur proximal.

Le choix de cette technique a également été influencé par un projet d'étude en parallèle, de spectroscopie Raman de la tête fémorale au sein du laboratoire de recherche PMOI. Ces approches sont complémentaires car contrairement à la spectro-IRM, la spectroscopie Raman permet l'analyse de la composante minérale de l'os, mais pas de celle de la MO. Une étude concernant la mise au point de la spectroscopie Raman dans l'évaluation des patients porteurs d'une ONTF a été réalisée dans le laboratoire PMOI et vient d'être publiée (199).

## 1.5. Objectifs de la recherche

Le but de ce travail de recherche a été d'établir le rôle de la spectroscopie  $^1\text{H}$  par IRM dans l'évaluation quantitative de la moelle osseuse de la hanche.

Mon travail s'est articulé autour de trois axes, donnant lieu au développement des 3 parties de cette thèse.

**Le premier axe de recherche** a porté sur la mise au point de la technique spectroscopique à la hanche et sur l'évaluation de la reproductibilité de cette technique avec une machine IRM à 3 Tesla.

Au début de ce travail (novembre 2009), une nouvelle machine IRM 3 Tesla venait d'être installée dans les locaux de radiologie de l'hôpital Roger Salengro, au Centre Hospitalier Régional de Lille.

Il a donc fallu élaborer un travail préliminaire pour mettre au point les séquences spectroscopiques, afin qu'elles soient assez stables pour pouvoir démarrer une étude scientifique. Les aspects techniques les plus intéressants issus de ce travail préparatoire sont discutés dans le chapitre suivant.

Afin de tester la stabilité des séquences spectroscopiques et de valider nos choix techniques, nous avons décidé d'évaluer la reproductibilité des données spectroscopiques, prérequis indispensable pour aborder les conditions pathologiques affectant la MO. Ceci est d'autant plus vrai dans une région anatomique complexe comme le fémur proximal, où la distribution de la moelle rouge et jaune peut être hétérogène en fonction de l'âge et de la zone anatomique, ce qui peut affecter les résultats spectroscopiques.

Néanmoins, cette étude était originale, car les publications antérieures portaient sur une technologie d'IRM plus ancienne, et elle a fait l'objet d'une publication dans le journal JMRI.

**Le deuxième axe de recherche** a été d'établir des valeurs spectroscopiques quantitatives fiables du contenu graisseux de la moelle osseuse normale à la hanche, car il nous a semblé nécessaire de disposer de valeurs normales de référence, qui prenaient en compte la variabilité de la distribution de la MO selon l'âge et le sexe, avant de pouvoir aborder les conditions pathologiques affectant la MO du fémur proximal.

Au cours de ce travail, nous avons évalué ainsi l'influence de l'âge et du sexe sur la conversion de la moelle osseuse.

Ce travail était original, car à notre connaissance cela n'avait pas encore été réalisé dans cette région anatomique en spectroscopie, et il a fait l'objet d'un article scientifique soumis actuellement au journal JMRI.

**Le troisième axe de ce travail** cherchera à authentifier des éventuels spectres anormaux de la moelle osseuse de la hanche chez des patients présentant une ONTF ou souffrants d'anorexie mentale. A l'heure actuelle, le recrutement de patients porteurs d'une ONTF est presque terminé et nous disposons de quelques résultats préliminaires.

Quant au recrutement des patients atteints d'anorexie mentale, il est actuellement en cours.

<b><u>2. MISE AU POINT DE LA TECHNIQUE DE SPECTROSCOPIE <sup>1</sup>H PAR IRM 3 TESLA ET EVALUATION DE LA REPRODUCTIBILITE DES DONNEES SPECTROSCOPIQUES .....</u></b>	<b><u>20</u></b>
2.1. ETAT DE LA QUESTION.....	20
2.2. MISE AU POINT DE LA TECHNIQUE IRM ET SPECTROSCOPIQUE.....	21
2.2.1. TECHNIQUE IRM .....	21
2.2.2. TECHNIQUE SPECTROSCOPIQUE.....	22
- Choix de la taille du voxel .....	22
- Choix de pics examinés et calcul du contenu graisseux .....	23
- “Shim” local.....	24
- Choix de la séquence de localisation du signal.....	25

## **2. Mise au point de la technique de spectroscopie $^1\text{H}$ par IRM 3 Tesla et évaluation de la reproductibilité des données spectroscopiques**

### **2.1. Etat de la question**

Aucune étude de reproductibilité de la spectroscopie du proton par résonance magnétique à 3 Tesla à la hanche n'a été rapportée, malgré la plus grande disponibilité de ce type de machines dans la pratique clinique quotidienne.

Une seule étude a porté sur la reproductibilité de la spectro-IRM à la hanche, mais celle-ci est ancienne et porte sur une technologie à 1.5 Tesla. De plus, ces auteurs ont utilisé une séquence de localisation de type PRESS, alors que dans mon travail nous nous sommes servi de la séquence STEAM, considérée comme plus stable. Dans ce travail, Griffith et al. (200) retrouvaient une bonne reproductibilité des données spectroscopiques au niveau de la tête, du col fémoral et de la diaphyse proximale, sans évaluer l'acétabulum ni le grand trochanter.

L'obtention de résultats spectroscopiques reproductibles à la hanche constitue un défi en raison de la proximité anatomique de zones possédant une nette différence en contenu de moelle rouge ou jaune. Cependant, l'étude de Griffith et al (200) était réalisée sur une population avec une moyenne d'âge de 72 ans, ce qui impliquait la présence d'une moelle osseuse principalement grasseuse, alors que mon étude a été réalisée sur une population de 26 ans en moyenne, avec par conséquent une plus grande variabilité de la composition de la moelle, rendant plus délicate l'évaluation de la reproductibilité.

Un équipement à 3 T est censé apporter une nette amélioration du rapport signal/bruit, avec une amélioration de la résolution spatiale. Un tel progrès a un impact majeur sur la technique spectroscopique, en effet il permet ainsi de saisir un voxel de plus petite taille, tout en gardant un temps d'acquisition raisonnablement limité.

Cependant, l'un des aspects négatifs reconnu des équipements à très haut champ magnétique est l'augmentation de la susceptibilité magnétique, ce qui peut perturber les résultats spectroscopiques, spécialement au niveau de l'os où il existe une disposition anatomique différente des travées de l'os spongieux et de l'os cortical. Une bonne reproductibilité des valeurs spectroscopiques n'était donc pas certaine et devait être vérifiée.

De plus, aucune étude n'a clairement établi s'il existe ou non une différence entre les valeurs spectroscopiques obtenues aux deux hanches chez un même sujet. Cet aspect est intéressant car en l'absence de différence significative, on pourrait considérer que les valeurs obtenues d'un côté sont équivalentes aux valeurs controlatérales, ce qui permettrait de réaliser une acquisition unilatérale avec, comme avantage majeur, un gain en temps d'acquisition.

## 2.2. Mise au point de la technique IRM et spectroscopique

### 2.2.1. Technique IRM

Notre protocole comprenait des séquences turbo spin écho pondérées en T1 dans les trois plans de l'espace avec comme caractéristiques : TR/TE = 600/16 ms, épaisseur de coupe = 3 mm, turbo factor = 4, gap = 8mm, FOV = 370 x 384, matrix = 412 x 426.

La durée de chaque séquence était de 1 minute et 50 secondes. Nous nous basions sur les coupes axiales pour obtenir ensuite un plan frontal oblique selon l'axe du col fémoral. Sur ce plan frontal oblique, les différents volumes d'intérêt étaient placés dans les zones anatomiques sélectionnées. Le positionnement correct de chaque volume d'intérêt était enfin contrôlé sur le plan axial et sagittal (**fig. 3**).

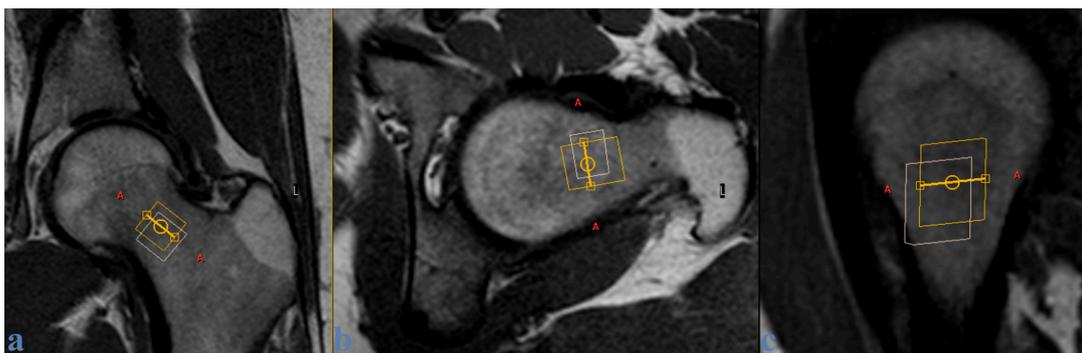


Figure 3 - Positionnement des Volumes d'intérêt dans le plan coronal (a), dans le plan axial (b) et sagittal (c).

Ce protocole nous permettait d'être sûr de ne positionner aucune partie du volume du voxel à cheval sur une zone anatomiquement proche mais au contenu très différent en terme de composition de la moelle osseuse (ceci était particulièrement vrai pour le grand trochanter) ou dans les tissus mous (comme pour la diaphyse proximale) ou dans l'espace articulaire (comme pour l'acétabulum).

De plus, le fait d'obtenir un plan frontal oblique selon l'axe du col fémoral permettait d'identifier un plan coronal de référence, facilement comparable chez le même sujet, lorsque le deuxième examen était réalisé pour tester la reproductibilité de la technique. Cet aspect permettait ainsi de s'affranchir d'éventuelles différences de positionnement des volumes d'intérêt entre les deux examens, ce qui aurait pu survenir à cause d'une variation du degré de rotation de la tête fémorale dans la cavité acétabulaire. Il est vrai que ce problème pouvait être résolu en réalisant tous les examens avec le pied du patient en rotation interne (ou externe), maintenu à l'aide d'un sac de sable, mais cette position s'avérait inconfortable lors des tests préliminaires à l'étude et l'on obtenait plus d'artéfacts dus aux mouvements.

De plus, l'utilisation de ce plan frontal oblique de référence nous paraissait également utile en raison de travaux scientifiques multidisciplinaires actuellement en cours au sein du laboratoire de recherche PMOI, faisant intervenir à la fois des chirurgiens orthopédistes, des biologistes et des radiologues. Ces études prévoient une comparaison entre les données

spectroscopiques IRM et les données provenant d'autres techniques invasives comme la spectroscopie Raman et l'analyse biologique de fluides médullaires réalisés sur des prélèvements biopsiques qui sont obtenus après prélèvement de la tête fémorale de patients porteurs d'une ONTF. Or, ces prélèvements sont sélectionnés après avoir coupé le fémur proximal en deux parties identiques selon l'axe passant par le col fémoral, qui est donc le même que celui retenu dans notre étude spectroscopique IRM.

### 2.2.2. Technique spectroscopique

#### - *Choix de la taille du voxel*

Nous avons utilisé un volume d'intérêt (VDI) cubique de  $12.5 \times 12.5 \times 12.5 \text{ mm}^3$ , suffisamment grand pour recueillir une quantité de signal permettant d'obtenir des spectres de bonne qualité. Chaque acquisition du signal avec un tel VDI durait 2 minutes et 50 secondes, ce qui était suffisamment court pour réduire le risque d'artéfacts liés aux mouvements.

Nous avons choisi d'utiliser un voxel de taille identique pour les cinq zones anatomiques (acétabulum, tête et col fémoraux, grand trochanter et diaphyse) du fémur proximal que nous souhaitons examiner (**fig. 4**), malgré le fait que dans certaines zones anatomiques comme la diaphyse proximale, une forme rectangulaire aurait pu s'adapter plus facilement à la conformation anatomique.

Ce choix a été fait afin que des tailles inégales des volumes d'intérêt n'agissent pas sur le temps d'acquisition, ce qui aurait pu engendrer des différences dans l'analyse spectroscopique.

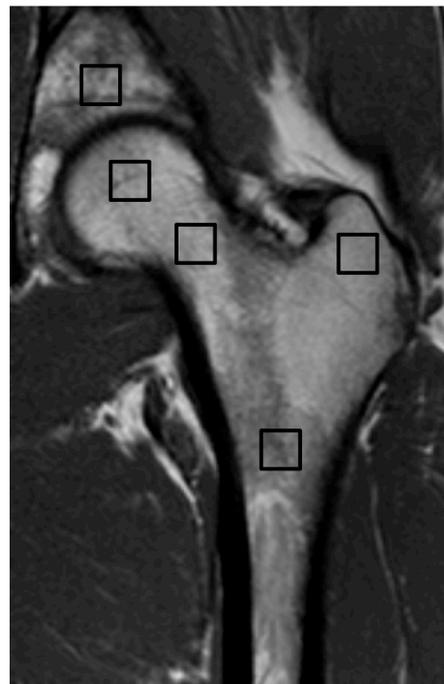


Figure 4 - La localisation des volumes d'intérêt (carrés noir, de haut en bas: acétabulum, tête fémorale, col fémoral, grand trochanter et diaphyse) est montrée sur une image frontale oblique pondérée en T1 (600/16).

- Choix de pics examinés et calcul du contenu graisseux

Les pics d'investigation et leur déplacement chimique théorique correspondant étaient comme suit : (méthyl)  $\text{CH}_3$  (0.9 ppm), (méthylène)  $\text{CH}_2$  (1.3 ppm), (méthylène)  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$  (1.6 ppm), (méthylène)  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$  (2.0 ppm), (méthylène)  $\text{CH}_2\text{COO}$  (2.2 ppm), (méthylène)  $\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}$  (2.7 ppm), (eau)  $\text{H}_2\text{O}$  (4.7 ppm), (oléfinique double liaison)  $\text{CH}=\text{CH}$  (5.25 ppm) (**fig. 5**).

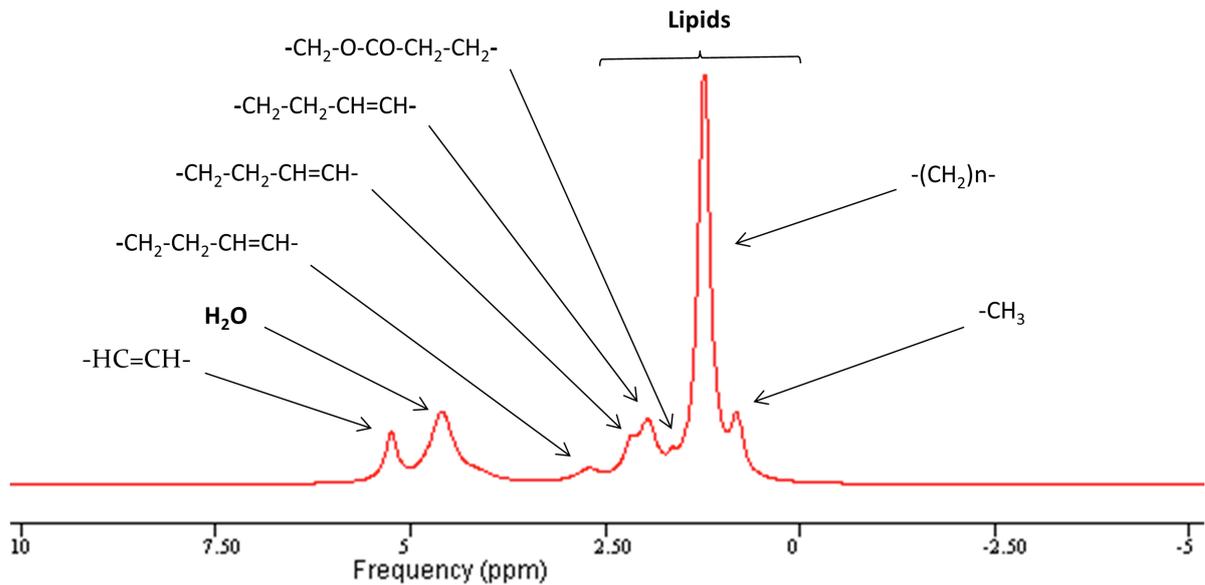


Figure 5 - Exemple de spectres acquis au niveau de la diaphyse proximale chez un sujet âgé de 53 ans. Notez la bonne dispersion spectrale obtenue, qui permet de bien distinguer les pics d'intérêt.

Du fait de l'utilisation d'un équipement à 3 T, nous avons bénéficié d'une plus large dispersion spectrale, permettant de mettre en évidence des pics qui n'étaient pas détectables avec une IRM à 1.5 Tesla (24).

Le (méthyl)  $\text{CH}_3$  (0.9 ppm) n'a pas été utilisé pour calculer les valeurs du contenu graisseux, mais sa quantification a permis de mieux définir le pic de (méthylène)  $\text{CH}_2$  (1.3 ppm), rendant sa quantification plus précise. Nous avons expérimenté un autre bénéfice potentiel de la dispersion spectrale, du fait que le pic du glycérol (4.2 ppm), qui est partiellement superposée au pic d'eau (4.7 ppm), avait une bonne résolution, ce qui permettait une quantification plus précise du pic d'eau.

Le contenu graisseux (CG) était obtenu en pourcentage du signal graisseux sur le signal total (graisse + eau) selon la formule suivante :  $\text{contenu graisseux} = \frac{\text{CH}_2}{(\text{CH}_2 + \text{Eau})} * 100$  (200,201).

- “Shim” local

Bien qu’actuellement la spectroscopie soit une technique globalement très bien maîtrisée, sa mise en œuvre *in vivo* reste difficile.

L’un des principaux obstacles résulte de la difficulté d’obtenir un champ magnétique homogène et donc un spectre de bonne qualité. En effet, lorsqu’un champ magnétique est inhomogène, les raies sont plus larges au détriment de leurs intensités qui elles diminuent, car l’aire de chaque raie est proportionnelle à la quantité de protons, ce qui entraîne une altération du rapport signal/bruit. Ce phénomène conduit à la superposition des raies ayant un déplacement chimique proche.

De plus, l’introduction d’un sujet vivant au sein de l’aimant entraîne de fortes interférences qui sont dues aux nombreuses interfaces entre les tissus et qui créent une inhomogénéité supplémentaire du champ magnétique.

Afin d’améliorer ces inhomogénéités du champ magnétique statique, il existe une série de bobines (bobines de « shim ») réparties à l’intérieur de l’aimant dont on peut régler les courants afin de créer différentes formes de champs.

L’objectif du « shim » local est donc d’optimiser le champ magnétique sur le volume d’intérêt (VDI) sélectionné. Ainsi, un bon « shim » permet d’obtenir des pics plus étroits avec une meilleure résolution du spectre et un meilleur rapport signal/bruit.

Nous avons réalisé le “ shim local” sur le pic de CH<sub>2</sub> le plus haut. Des ajustements manuels de fréquence ont permis d’améliorer la qualité spectrale pour atteindre une moyenne de FWHM < 50 Hz.

- Choix de la séquence de localisation du signal

La spectroscopie in vivo requière l'utilisation d'une technique de localisation du signal. Il en existe différents types en spectroscopie localisée et les plus courantes en pratique en spectroscopie du proton sont les techniques PRESS et STEAM.

Nous avons utilisé la séquence STEAM qui est intéressante pour des utilisations à temps d'écho très courts, accessibles en 3 Tesla. Ce type de séquence permet de diminuer les temps d'écho (à 20 ms) de manière plus importante que dans la séquence PRESS pour un même type d'impulsions, rendant possible l'évaluation des métabolites à T2 courts. Comme cela a été signalé par Hamilton et al (202), la séquence STEAM semble plus adaptée à l'évaluation de la quantification du contenu grasseux car la séquence PRESS sous-estime les valeurs T2 des acides gras, elle surestime le contenu grasseux et elle fournit une estimation de la composante grasseuse moins fiable par rapport à la séquence STEAM. En effet, la séquence STEAM semble plus linéaire que la séquence PRESS, cette dernière pouvant être influencée par une impulsion de refocalisation (*refocusing pulse*) imparfait.

<b>3. REPRODUCTIBILITE DE LA SPECTROSCOPIE <sup>1</sup>H PAR IRM 3 T A LA HANCHE .....</b>	<b>27</b>
<b>3.1. OBJECTIFS DE L'ETUDE .....</b>	<b>27</b>
<b>3.2. MATERIELS ET METHODES D'EVALUATION .....</b>	<b>28</b>
- Population .....	28
- Acquisition par Résonance Magnétique et par <sup>1</sup> H Spectroscopie .....	28
- Analyse spectroscopique .....	28
- Analyse statistique.....	29
<b>3.3. RESULTATS .....</b>	<b>30</b>
<b>3.4. DISCUSSION DES RESULTATS.....</b>	<b>32</b>
<b>3.5. LIMITES DE L'ETUDE.....</b>	<b>34</b>
<b>3.6. SYNTHESE ET CONCLUSIONS.....</b>	<b>34</b>

## 3. Reproductibilité de la spectroscopie $^1\text{H}$ par IRM 3 T à la hanche

### 3.1. Objectifs de l'étude

La moelle osseuse est à la fois constituée de composants hématopoïétiques (moelle rouge) et adipeux (moelle jaune), la proportion de chacun d'entre eux dépendant principalement du type d'os et de l'âge de l'individu. L'imagerie par résonance magnétique est un puissant outil pour le diagnostic des pathologies de la moelle osseuse, permettant une estimation qualitative des variations de l'intensité du signal. Cependant, un nombre relativement limité d'études a rapporté des mesures quantitatives de la moelle osseuse qui évaluent la composition de celle-ci à partir du signal de la graisse et de l'eau (24).

La spectroscopie  $^1\text{H}$  peut obtenir le signal de la graisse et de l'eau de la moelle osseuse à partir d'un petit voxel de manière non invasive et a donc été proposée dans des études cliniques de routine de la moelle osseuse (25). La plupart de ces études spectroscopiques se sont focalisées sur le rachis (27,203). Seules quelques études ont été réalisées à la hanche avec une machine à 1.5 Tesla et ont rapporté la possibilité de prédire ou de détecter une nécrose aseptique de la tête fémorale sur la base de la quantification du contenu graisseux de la moelle (204,205). Bien que certaines études aient déjà caractérisé la composition de la graisse sous cutanée et de la moelle osseuse tibiale par spectroscopie IRM à 7 T (206), seules quelques études spectroscopiques de la moelle osseuse de la hanche à 3 T existent et le bénéfice potentiel apporté par cette technique n'a pas encore été complètement évalué. En conséquence, il est d'une importance majeure de déterminer d'abord la reproductibilité de la technique, en particulier au niveau de la hanche, là où la distribution de la moelle osseuse rouge et jaune varie considérablement selon l'âge, le sexe et le site anatomique (207). De plus, l'analyse spectroscopique de la moelle osseuse de la hanche ayant été reportée de manière unilatérale uniquement, nous souhaitons évaluer si les valeurs spectroscopiques MR de la hanche gauche et droite diffèrent statistiquement chez un même individu.

Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer la reproductibilité de la spectroscopie IRM 3 Tesla de la hanche sur 5 sites anatomiques différents et de vérifier s'il existe une différence statistiquement significative en comparant les valeurs du contenu graisseux du côté droit et gauche.

## 3.2. Matériels et Méthodes d'évaluation

### - Population

Trente trois volontaires asymptomatiques (20 hommes et 13 femmes, âgés de 22 à 55 ans, médiane 26 ans) ont été inclus dans cette étude. Ils étaient asymptomatiques, n'avaient aucun antécédent de pathologie générale ou à la hanche et ne recevaient aucun médicament ayant pu altérer leur moelle osseuse. Chacun d'entre eux a bénéficié d'une spectroscopie  $^1\text{H}$  par IRM unilatérale de la hanche (18 à droite et 15 à gauche). Entre une à quatre semaines plus tard, il leur a été demandé de répéter l'examen spectroscopique de la même hanche afin d'évaluer la reproductibilité de la technique. Quinze autres volontaires (10 hommes et 5 femmes, âgés de 20 à 55 ans, médiane d'âge 27 ans) ont bénéficié d'une spectroscopie bilatérale de la hanche afin de comparer les valeurs du contenu graisseux obtenues à droite avec celles obtenues à gauche.

### - Acquisition par Résonance Magnétique et par $^1\text{H}$ Spectroscopie

Les examens d'IRM ont été réalisés sur une IRM 3-T corps entier (Archiva 3 Tesla, Philips Medical System, Best, The Netherlands), utilisant une antenne cardiaque 32 canaux pour visualiser de manière adéquate la partie proximale de la diaphyse fémorale et l'acétabulum. Les séquences en pondération spin écho T1 ont été réalisées en coupes axiales, frontales et sagittales avec les paramètres suivants : TR/TE = 600/16 ms, épaisseur de coupe = 3 mm, facteur turbo = 4, gap = 8mm, FOV = 370x384, matrice = 412x426, temps d'acquisition = 1 minute et 32 seconds. Ces séquences ont été obtenues dans le but de positionner de manière optimale des volumes d'intérêts (VDI) au niveau de la tête fémorale, du col fémoral, du grand trochanter, de la diaphyse fémorale proximale et de l'acétabulum.

La spectroscopie du proton par IRM a été réalisée en utilisant une technique de spectroscopie monovoxel : taille du voxel :  $12.5 \times 12.5 \times 12.5 \text{ mm}^3$ . Chaque canal a permis l'acquisition d'un spectre unique. Tous les spectres ont été combinés automatiquement. Les procédures de correction du champ magnétique local et les ajustements manuels de fréquence ont permis d'améliorer la qualité spectrale pour atteindre une moyenne de la largeur à mi-hauteur (FWHM) inférieure à 50 Hz. La correction a été utilisée sur le pic de graisse le plus élevé. La fréquence a été ajustée manuellement sur le pic d'eau en cas de nécessité. Les spectres ont été acquis sans suppression de l'eau, avec des séquences STEAM (*Stimulated Echo Acquisition Mode*). Les séquences STEAM (moyenne FWHM < 50 Hz, TR/TE 5000/20, NSA 32, temps de mélange de 16 ms) ont été acquises avec une bande spectrale de 2500 Hz et une longueur de 2048 points.

### - Analyse spectroscopique

Les spectres ont été analysés dans le domaine temporel avec le logiciel JMRUI basé sur un algorithme AMARES (208). Les prétraitements ont inclus une calibration suivant le pic le plus important de  $\text{CH}_2$  (1.3 ppm) et un ajustement manuel pour une phase de zéro. Huit résonances ont été incluses dans l'algorithme AMARES. Les pics de fréquences ont été ajustés pour ne pas dépasser 0.1 ppm suivant leurs déplacements chimiques théoriques.

Les pics recherchés et leurs déplacements chimiques théoriques correspondants ont été rappelés précédemment.

Le contenu graisseux (CG) était obtenu en pourcentage du signal graisseux sur le signal total (graisse + eau) selon la formule suivante : contenu graisseux =  $CH_2 / (CH_2 + Eau) * 100$  (200,201). Un index de conversion spectroscopique (ICS) a été calculé comme le rapport entre la valeur du contenu graisseux du col fémoral et la valeur du contenu graisseux du grand trochanter.

- Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel SAS (SAS Institute, Cary, NC 25513; version 9.2). Les variables continues ont été exprimées en moyennes et déviations standard ou en médianes et ranges interquartile. Les valeurs qualitatives ont été exprimées en fréquences et pourcentages. La reproductibilité et la fiabilité test-retest ont été évaluées par le coefficient de corrélation intra-classe en utilisant la méthode de Fleiss (209).

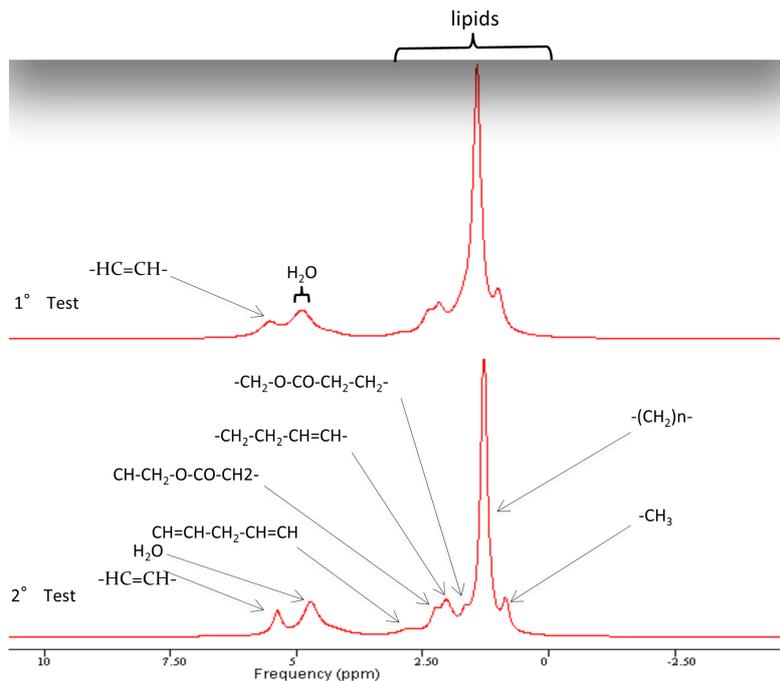
Dans le but d'ajuster ces coefficients de corrélation intra-classe à l'âge, un modèle linéaire mixte a été réalisé. Les effets fixes étaient l'âge, l'effet aléatoire était le sujet. Une valeur plus grande que 0.8 était considérée comme une bonne corrélation. Les différences entre le côté droit et gauche étaient testées par un test de Wilcoxon. Une valeur de  $p < 0.05$  était considérée comme statistiquement significative.

### 3.3. Résultats

L'analyse spectroscopique de la hanche a été possible sur chaque site anatomique considéré et des valeurs spectroscopiques qui couplaient les deux examens ont été obtenues avec succès chez tous les sujets. Le temps d'acquisition spectroscopique pour chaque site anatomique était de 2 minutes et 50 secondes. La durée moyenne de l'ensemble des acquisitions était d'environ 35 minutes. La durée nécessaire du post traitement pour obtenir les spectres de la tête fémorale, du col fémoral, du grand trochanter, de la diaphyse proximale et de l'acétabulum était d'environ 15 minutes.

Les résultats concernant la reproductibilité de la spectroscopie sont détaillés dans le **tableau 1**. La reproductibilité de la spectroscopie  $^1\text{H}$  par IRM était élevée sur chaque site anatomique considéré, allant de 0.90 à 0.98 (**fig. 6**).

La reproductibilité la plus faible était retrouvée au niveau de la tête fémorale et du grand trochanter (0.90). Le coefficient de corrélation intra-classe ajusté pour l'âge allait de 0.81 à 0.99. En analysant la population des quinze sujets qui avaient bénéficié de l'analyse spectroscopique bilatérale de la hanche, les valeurs obtenues du côté droit ne montraient pas de différence statistiquement significative avec les valeurs obtenues du côté gauche (valeur de  $p > 0.16$ ), et ceci pour chaque site anatomique examiné. Les valeurs médianes des différences entre les côtés droits et gauches sont décrites dans le **tableau 2**.



**Figure 6 - Exemple de 2 spectres acquis au niveau de la diaphyse proximale chez le même patient (homme âgé de 53 ans), montrant une bonne reproductibilité. La valeur du contenu graisseux de la moelle au premier examen était de 81.9%, la même mesure était de 82.3% deux semaines plus tard.**

**Tableau 1. Reproductibilité des valeurs du contenu graisseux obtenues dans cinq sites anatomiques différents du fémur proximal.**

Sites anatomiques	Moyenne des valeurs du contenu graisseux (déviatoin standard)		Coefficient de corrélation intra-classe	Coefficient de corrélation intra-classe ajusté à l'âge
	1° test	2° test		
Tête fémorale	90.07 (4.98)	90.11 (5.14)	0.90	0.97
Grand trochanter	93.93 (4.93)	94.30 (4.34)	0.90	0.89
Col fémoral	80.47 (14.14)	80.77 (14.25)	0.98	0.81
Acétabulum	63.46 (14.68)	63.46 (14.52)	0.98	0.99
Diaphyse	74.79 (11.17)	73.64 (11.90)	0.96	0.99

**Tableau 2. Valeurs du contenu graisseux: Différences entre les côtés droits et gauches, présentées en valeurs médianes avec ranges interquartiles (Q1: premier quartile, Q3: troisième quartile). Une valeur de  $p < 0.05$  était considérée comme statistiquement significative.**

Sites anatomiques	Médiane de la différence	Médiane de la différence		p
		Q1	Q3	
Tête fémorale	-0.68	-3.1	3.6	0.85
Grand trochanter	-0.18	-1.2	2	0.48
Col fémoral	-1.9	-3.5	4.4	0.98
Acétabulum	2.3	-2.5	7.2	0.16
Diaphyse	1.7	-2.4	5.8	0.23

### 3.4. Discussion des résultats

Peu d'études ont examiné le rôle de la spectro-IRM dans l'évaluation des désordres de la moelle osseuse focalisés à la hanche. Griffith et al (210) ont évalué les valeurs du contenu graisseux sur différents sites anatomiques de la hanche afin d'étudier l'ostéopénie chez les femmes âgées. Bredella et al (33) ont rapporté une augmentation des valeurs du contenu graisseux dans les épiphyses fémorales proximales chez les sujets souffrant d'anorexie mentale.

Bluemke et al (151) ont observé que l'index de perfusion de la tête fémorale est inversement lié au contenu graisseux chez les sujets sains et que les valeurs de perfusion sont plus élevées chez les patients atteints de lupus érythémateux systémique. Hou et al (205) ont démontré le rôle potentiel de la spectroscopie  $^1\text{H}$  par IRM afin de prédire le développement de la nécrose aseptique de la hanche chez les patients avec ou sans risques spécifiques.

Cependant, une seule étude a évalué la reproductibilité de la technique pour la mesure des valeurs du contenu graisseux de la moelle osseuse de la hanche en utilisant une machine IRM à 1.5 T, rapportant de bons résultats (200). A notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée avec une machine 3 T, malgré l'augmentation de la disponibilité de celle-ci dans la pratique clinique et de l'intérêt croissant porté à l'évaluation de l'altération des lipides impliquée dans certaines pathologies de la moelle osseuse de la hanche (212).

Les cinq sites anatomiques considérés dans cette étude présentent une composition variable en moelle osseuse rouge et jaune. Etant donné que la moelle osseuse rouge est significativement plus riche en eau que la moelle osseuse jaune, des valeurs de contenu graisseux relativement faibles sont attendues sur les sites anatomiques riches en moelle rouge, comme le col fémoral et l'acétabulum. A l'inverse, des valeurs de contenu graisseux importantes sont attendues sur les sites où la moelle osseuse jaune est plus abondante, comme le grand trochanter.

En raison de la proximité anatomique de sites présentant des compositions variables de moelle osseuse, prouver la reproductibilité des valeurs spectroscopiques du contenu graisseux est un vrai challenge. Néanmoins, nous avons obtenu une excellente reproductibilité avec des valeurs plus élevées que celles rapportées par Griffith et al. (200), en particulier au col fémoral (0.98 versus une valeur précédemment rapportée de 0.83). La reproductibilité des valeurs spectroscopiques du contenu graisseux pour l'acétabulum (0.98) et le grand trochanter (0.90) n'avait jamais été prouvée. Les coefficients de corrélation intra-classe n'ont pas varié de manière significative entre les zones anatomiques où la moelle osseuse rouge est plus représentée comme dans le col fémoral (0.98) et les zones anatomiques où la moelle osseuse rouge est pratiquement non représentée comme dans le grand trochanter (0.90).

Comme rapporté précédemment (20,21,213), la variabilité de la distribution de la moelle rouge et jaune à la hanche tend à disparaître avec l'âge, en faveur d'une nette prédominance de la moelle jaune quel que soit le site anatomique considéré. Ce processus, connu en tant que conversion de la moelle osseuse, apparaît principalement lors des premières décades de la vie pour se terminer autour de la 5<sup>e</sup> décade, avec quelques

différences selon le sexe (216,217). L'influence de l'âge et du sexe dans la spectroscopie de la moelle osseuse de la hanche n'a pas encore été étudiée. Etant donné la médiane d'âge des sujets de notre étude (26 ans, extrêmes : 22-55), cette différence de composition de la moelle osseuse a joué un rôle plus important dans notre étude que dans celle rapportée précédemment par Griffith et al. (200) qui ont étudié une population avec une moyenne d'âge de 72 ans, ce qui implique la présence d'une moelle osseuse principalement grasseuse.

De plus, lorsque nous avons calculé le coefficient de corrélation ajusté par rapport à l'âge, nous avons toujours retrouvé des valeurs très reproductibles sur tous les sites anatomiques considérés, avec une reproductibilité relativement plus faible au col fémoral, suggérant que l'âge joue un rôle sur les modifications de la moelle osseuse, particulièrement sur ce site anatomique.

Dans la littérature la conversion de la moelle osseuse a été calculée en situation normale et pathologique comme le ratio entre la quantité de moelle rouge sur jaune retrouvée dans le col fémoral et dans le grand trochanter, sur la base d'une estimation visuelle réalisée sur des images pondérées en T1 (205,218). Vu que nous avons obtenu d'excellentes valeurs de contenu grasseux reproductibles pour ces sites anatomiques, ce ratio pourrait également être utilisé pour l'évaluation de la conversion de la moelle osseuse avec la spectroscopie.

La reproductibilité plus élevée ayant été retrouvée dans cette étude était probablement due à l'amélioration du ratio signal/bruit de l'équipement 3 Tesla, qui permet une quantification plus précise du contenu grasseux (24). De plus, afin d'augmenter la précision de nos mesures, nous avons utilisé un petit volume d'intérêt avec une taille standardisée pour chaque site anatomique dans le but de conserver une durée acceptable pour chaque séquence spectroscopique.

Des machines à très hauts champs magnétiques permettent une dispersion spectrale plus large, augmentant la résolution du spectre et améliorant l'individualisation de différents pics d'intérêt. Ren et al. (206) ont obtenu une composition détaillée des triglycérides de la graisse sous cutanée avec une spectroscopie IRM à 7 T. Leurs résultats semblent être en grande partie dus à une nette augmentation de la dispersion des spectres en comparaison avec les équipements à 1.5 T ou 3 T, ce qui permet de mettre en évidence les protons adjacents au pic oléfinique double liaison, et donc d'obtenir une estimation précise de la composition des acides gras du tissu adipeux. Liney et al. (24) ont récemment montré des spectres de meilleure qualité obtenus avec une machine à 3 Tesla. Ils pouvaient ainsi étudier les lipides de plus faibles résonances, non visibles avec machine à 1.5 Tesla. Dans notre étude, le pic de lipides insaturés (oléfinique double liaison) était visible à 5.25 ppm., avec une très bonne résolution. Cependant, nous avons également noté, comme Li et al. (219), que la reproductibilité de la quantification du niveau d'insaturation n'était pas statistiquement satisfaisante (données non montrées dans mon étude), confirmant que d'autres études sont nécessaires pour prouver la reproductibilité de la quantification des lipides insaturés *in vivo* avant d'étudier leurs implications cliniques (103).

L'un des inconvénients de l'utilisation de machines IRM à très haut champ magnétique est l'augmentation de l'effet de susceptibilité magnétique due à l'orientation différente des travées osseuses entre l'os cortical et trabéculaire (219). Dans notre expérience, cet aspect semble jouer un rôle mineur au vu de l'excellente reproductibilité obtenue dans la diaphyse

proximale, alors que dans cette région, l'axe transversal étant le plus court, l'effet de susceptibilité magnétique devrait être le plus évident. De plus, nous avons adopté les solutions techniques suivantes qui pourraient également avoir contribué à nos résultats : en ce qui concerne la technique spectroscopique, la localisation du signal a été obtenue avec une séquence STEAM, qui est plus linéaire que la séquence PRESS, cette dernière pouvant être influencée par une impulsion de refocalisation imparfaite. Un autre avantage possible de la séquence STEAM est que, contrairement à la séquence PRESS, le temps de mélange n'a pas d'effet sur le temps de relaxation en T2. De plus, nous pouvons présumer que le temps de mélange était trop court (16 ms) pour avoir une influence sur le temps de relaxation de la moelle osseuse jaune en T1.

Lorsque les valeurs du côté droit pour chaque zone anatomique ont été comparées avec celles du côté gauche, aucune différence statistiquement significative n'a été retrouvée sur les 5 sites anatomiques. Ceci prouve que la distribution de la moelle osseuse rouge et jaune dans la hanche ne diffère pas d'un côté à l'autre chez un même individu.

### 3.5. Limites de l'étude

Nous reconnaissons les limites suivantes de notre étude :

- Premièrement, nos mesures ont été obtenues en utilisant la même machine d'IRM et nous sommes donc incapables d'affirmer si des résultats dotés d'une telle fiabilité auraient pu être obtenus avec une autre machine, que les conditions techniques aient été identiques ou non. Ceci était simplement dû au fait que nous ne disposons que d'un seul équipement 3 T MR dédié à la recherche dans notre structure.
- Deuxièmement, nous n'avons pas exploré l'influence de la variation des paramètres ou des conditions techniques sur nos résultats spectroscopiques ; notre protocole a été le même pour tous les patients.

### 3.6. Synthèse et conclusions

En conclusion, cette étude démontre que la spectroscopie  $^1\text{H}$  par IRM à 3 Tesla permet d'obtenir des valeurs de contenu graisseux hautement reproductibles de la moelle osseuse de la hanche sur chacun des cinq sites anatomiques examinés et qu'aucune différence statistiquement significative du contenu graisseux n'existe entre les deux côtés d'un même sujet.

Sur cette base, la spectroscopie  $^1\text{H}$  par IRM à 3 Tesla peut être utilisée afin d'évaluer les caractéristiques normales et pathologiques de la moelle osseuse de la hanche.

<b><u>4. SPECTROSCOPIE <sup>1</sup>H PAR RESONANCE MAGNETIQUE A 3 TESLA DE LA MOELLE OSSEUSE DE LA HANCHE CHEZ UNE POPULATION TEMOIN: CARACTERISTIQUES NORMALES ET EVALUATION DE L'INFLUENCE DE L'AGE ET DU SEXE</u></b>	<b>36</b>
<b>4.1. OBJECTIFS DE L'ETUDE</b>	<b>36</b>
<b>4.2. MATERIELS ET METHODES D'EVALUATION</b>	<b>36</b>
- Population	36
- Acquisition par Résonance Magnétique et par <sup>1</sup> H Spectroscopie	37
- Analyse spectroscopique	37
- Analyse Statistique	37
<b>4.3. RESULTATS</b>	<b>38</b>
- Population	38
- Résultats spectroscopiques	38
<b>4.4. DISCUSSION DES RESULTATS</b>	<b>42</b>
<b>4.5. LIMITES DE L'ETUDE</b>	<b>44</b>
<b>4.6. SYNTHESE ET CONCLUSIONS</b>	<b>44</b>

## **4. Spectroscopie $^1\text{H}$ par résonance magnétique à 3 Tesla de la moelle osseuse de la hanche chez une population témoin: caractéristiques normales et évaluation de l'influence de l'âge et du sexe**

### **4.1. Objectifs de l'étude**

Bien que l'utilisation de la spectro-IRM dans l'investigation des différentes pathologies de la moelle osseuse au niveau de la hanche ait déjà commencé, aucune étude n'a préétabli les valeurs quantitatives spectroscopiques de référence chez les sujets sains. L'obtention de ces valeurs constitue pourtant une étape préliminaire fondamentale, et l'influence de l'âge et du sexe doit être étudiée. Si plusieurs études IRM ont démontré que la conversion de la moelle osseuse rouge en moelle osseuse jaune augmente avec l'âge, des résultats discordants ont été rapportés concernant l'influence du sexe dans cette conversion à la hanche.

Le but de mon étude était de déterminer des valeurs fiables du contenu graisseux à la hanche au niveau de cinq zones anatomiques différentes et d'évaluer le rôle de l'âge et du sexe de l'individu sur ces valeurs, de manière à pouvoir disposer de données de référence lors de l'évaluation des conditions pathologiques affectant la moelle osseuse à la hanche.

### **4.2. Matériels et Méthodes d'évaluation**

#### - Population

Avec l'objectif d'étudier les modifications de la moelle osseuse selon l'âge et le sexe, nous avons inclus un nombre égal d'hommes et de femmes par tranches d'âge de 10 ans entre 20 et 60 ans. Une population de 80 sujets sains était considérée comme statistiquement significative. Pour chaque volontaire, nous avons relevé l'âge, la taille, le poids et l'indice de masse corporelle ( $\text{IMC} = \text{poids en kilogrammes} / \text{taille en mètre carré (m}^2\text{)}$ ). Comme l'activité physique intense (220) et l'abus d'alcool (153) et de tabac (221) sont reconnus comme des facteurs modifiant la composition de la moelle osseuse, nous avons questionné tous les volontaires sur leur pratique sportive et nous avons systématiquement reporté leur consommation de tabac, exprimée en paquets années (PA : Nombre de paquets de cigarettes par an = (Paquets de cigarettes fumés par jour) x (nombre d'années en tant que fumeur)) et d'alcool consommé par jour, exprimé en nombre de verres d'alcool bu par jour (VJ). Les critères d'exclusions étaient une consommation d'alcool supérieure à 2 verres par jour, un tabagisme estimé à plus de 3 PA et la pratique de sport en compétition. De plus, tous les participants à cette étude étaient des sujets asymptomatiques, n'avaient aucune histoire de pathologie de la hanche ou d'autres maladies et ne prenaient aucun

médicament pouvant altérer leur moelle osseuse. Aucun d'entre eux n'a déclaré être traité pour une ostéopénie ou une ostéoporose.

Etant donné que lors de mon étude précédente (222), les valeurs du contenu graisseux ne différaient pas de manière significative entre les cotés droit et gauche chez un même individu, tous les volontaires ont bénéficié d'une spectroscopie  $^1\text{H}$  IRM unilatérale de la partie proximale du fémur, incluant l'acétabulum, la tête fémorale, le col fémoral, la partie proximale de la diaphyse fémorale et le grand trochanter. De plus, dans chaque groupe d'âge, un nombre égal d'hommes et de femmes avait bénéficié d'une exploration spectroscopique de la hanche droite ou de la hanche gauche.

#### - Acquisition par Résonance Magnétique et par $^1\text{H}$ Spectroscopie

Les examens IRM ont été réalisés sur une IRM 3-T corps entier (Achieva 3 Tesla, Philips Medical System, Best, The Netherlands), utilisant une antenne cardiaque 32 canaux afin de visualiser de manière adéquate le fémur proximal. Le protocole était identique à celui de l'étude précédente: séquences T1 axiales, frontales obliques et sagittales avec les mêmes paramètres. Ces séquences permettaient le bon positionnement des volumes d'intérêts (VDI) au niveau de la tête fémorale, du col fémoral, du grand trochanter, de la diaphyse fémorale proximale et de l'acétabulum. La spectroscopie du proton par IRM a été réalisée en utilisant la technique de spectroscopie monovoxel : taille du voxel :  $12.5 \times 12.5 \times 12.5 \text{ mm}^3$  (**fig. 4 page 22**).

#### - Analyse spectroscopique

Les spectres ont été analysés dans le domaine temporel avec le logiciel JMRUI basé sur un algorithme AMARES (208). Les pics recherchés et leurs déplacements chimiques théoriques correspondants étaient les mêmes que dans l'étude précédente (**fig. 5 page 23**). Le contenu graisseux utilisé était obtenu en pourcentage du signal graisseux sur le signal total (graisse + eau), selon la formule suivante :  $\text{Contenu graisseux} = \frac{\text{CH}_2}{(\text{CH}_2 + \text{Eau})} \times 100$  (200,201). L'index de conversion spectroscopique a été calculé comme le rapport entre les valeurs du contenu graisseux du col fémoral et du contenu graisseux du grand trochanter.

#### - Analyse Statistique

Les variables quantitatives ont été exprimées en moyenne et déviation standard ; les variables qualitatives ont été exprimées en fréquences et pourcentages. L'influence de l'âge et du sexe sur les résultats spectroscopiques a été obtenue par une analyse de covariance avec le test de l'interaction. Les comparaisons post-hoc ont été réalisées avec une correction Bonferroni. Les relations entre l'index de masse corporelle et les résultats spectroscopiques ont été étudiées à l'aide du coefficient de corrélation de Pearson. Les données ont été analysées avec le logiciel SAS version 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC 25513). Le niveau de significativité ( $p$ ) a été fixé à 0.05.

### 4.3. RESULTATS

#### - Population

Quatre vingt sujets sains, âgés de 20 à 60 ans, ont été inclus dans cette étude. Ils ont été divisés en 4 groupes d'âge (20-30, 30-40, 40-50 et 50-60). Chaque groupe d'âge déterminé était composé d'un nombre égal d'hommes et de femmes. Aucune différence statistiquement significative d'âge entre les hommes et les femmes de chaque groupe n'a été décelée. La moyenne ( $\pm$ SD) d'âge était de 39.8 ( $\pm$ 11.7) et la moyenne de l'index de masse corporelle était retrouvée à 23.2 ( $\pm$  3.6).

#### - Résultats spectroscopiques

L'analyse spectroscopique de la hanche a été possible sur chaque site anatomique considéré et chez tous les sujets. Le temps d'acquisition spectroscopique pour chaque site anatomique était de 2 minutes et 50 secondes. La durée moyenne de l'ensemble des acquisitions était d'environ 35 minutes. La durée nécessaire du post traitement pour obtenir les spectres des 5 zones anatomiques était d'environ 15 minutes.

Nous avons obtenu des valeurs de contenu graisseux pour les cinq zones anatomiques considérées et un index de conversion spectroscopique pour chaque groupe d'âge en fonction du sexe. Ces données sont présentées en tenant compte de l'âge et du sexe **tableau 3** ou seulement de l'âge **tableau 4**. Les valeurs du contenu graisseux montraient le gradient suivant : grand trochanter > tête fémorale > col fémoral > diaphyse > acétabulum dans chaque groupe d'âge à la fois chez les hommes et chez les femmes (tableau 3). Aucune interaction n'était retrouvée entre le sexe et l'âge pour chaque site anatomique ( $p < 0.42$ ), ce qui signifie que l'effet du sexe était comparable pour chaque groupe d'âge. Pour chaque site anatomique, les valeurs du contenu graisseux étaient plus faibles chez les femmes que chez les hommes (tableau 3).

L'index de conversion spectroscopique augmentait avec l'âge quel que soit le sexe, avec des valeurs plus faibles chez les femmes pour chaque groupe d'âge par rapport aux hommes (tableau 3). En comparant les valeurs du contenu graisseux entre les différents groupes d'âge (tableau 4), des différences statistiquement significatives étaient retrouvées pour chaque zone anatomique ( $p < 0.004$ ), excepté pour le grand trochanter ( $p = 0.193$ ).

Les valeurs de l'index de conversion spectroscopique variaient avec l'âge de manière statistiquement significative ( $p < 0.001$ ). De plus les valeurs de l'index de conversion spectroscopique et du contenu graisseux augmentaient avec l'âge pour chaque site anatomique considéré. Ceci est particulièrement évident à la tête fémorale entre les sujets du groupe 20-30 versus 30-40 ( $p = 0.006$ ) et à l'acétabulum entre les sujets du groupe 40-50 versus 50-60 ( $p = 0.018$ ), avec une différence statistiquement significative.

**Tableau 3 : Valeurs de l'index de conversion spectroscopique (ICS) et du contenu graisseux (CG) obtenues dans cinq zones anatomiques différentes du fémur proximal chez des hommes et des femmes de différents groupes d'âge.**

Une valeur  $p < 0.05$  était considérée comme statistiquement significative.

	20-30		30-40		40-50		50-60		<i>p</i>
	F	M	F	M	F	M	F	M	
CG % (±DS)									
Grand trochanter	90.94 (4.62)	93.75 (3.74)	92.51 (7.11)	95.03 (2.27)	91.61 (4.32)	95.76 (1.43)	93.57 (5.68)	97.09 (1.7)	0.932
Tête fémorale	82.92 (6.45)	90.35 (4.89)	88.21 (4.05)	93.87 (2.4)	88.25 (5.83)	93.55 (4.33)	90.43 (3.22)	93.59 (1.59)	0.496
Col fémoral	66.88 (7.39)	81.41 (13)	68.96 (6.41)	85.32 (11.21)	72.38 (11.31)	90.97 (5.72)	81.46 (4.18)	92.65 (5.08)	0.581
Diaphyse proximale	61.7 (11.22)	75.96 (11.36)	65.24 (12.79)	74.94 (10.77)	64.87 (11.3)	83.24 (7.67)	76.24 (8.59)	84.55 (9.96)	0.428
Acétabulum	47.96 (8.82)	60.57 (12.86)	49.5 (7.28)	64.28 (8.52)	54.06 (11.47)	73.97 (12.52)	67.32 (9.57)	78.59 (7.05)	0.541
ICS	73.52 (7.01)	86.67 (12.46)	74.88 (8.28)	89.83 (12.1)	78.79 (10.26)	95.04 (6.49)	87.3 (5.99)	95.41 (4.36)	0.486

**Tableau 4 : Valeurs de l'index de conversion spectroscopique (ICS) et du contenu graisseux (CG) calculées dans cinq régions anatomiques différentes du fémur proximal dans une population de 80 sujets sains divisée en quatre groupes d'âge.**

Une valeur  $p < 0.05$  était considérée comme statistiquement significative.

	20-30	30-40	40-50	50-60	<i>p</i>
CG % (±DS)					
Grand trochanter	92.35 (4.34)	93.77 (5.29)	93.68 (3.78)	95.33 (4.46)	0,193
Tête fémorale	86.63 (6.75)	91.04 (4.35)	90.9 (5.69)	92.01 (2.96)	<b>0,001</b>
Col fémoral	74.15 (12.71)	77.14 (12.22)	81.68 (12.93)	87.06 (7.31)	<b>&lt;0.001</b>
Diaphyse proximale	68.83 (13.2)	70.09 (12.54)	74.06 (13.31)	80.39 (10.01)	<b>0,004</b>
Acétabulum	54.27 (12.53)	56.89 (10.82)	64.01 (15.52)	72.96 (10.02)	<b>&lt;0.001</b>
ICS	80.09 (11.93)	82.36 (12.67)	86.92 (11.81)	91.35 (6.58)	<b>&lt;0.001</b>

En comparant les hommes et les femmes sans tenir compte de l'âge (**tableau 5**), nous avons retrouvé que les valeurs du contenu graisseux et de l'index de conversion spectroscopique obtenues chez les hommes étaient significativement supérieures pour chaque zone anatomique ( $p < 0.001$ ) (**fig. 7 et 8**).

Enfin, nous avons évalué la corrélation entre l'index de masse corporelle et les valeurs spectroscopiques du contenu graisseux chez les hommes et les femmes sans tenir compte de leur âge. Parmi les hommes, aucune corrélation statistiquement significative n'était retrouvée entre l'index de masse corporelle et les valeurs du contenu graisseux quel que soit le site anatomique. Au contraire, chez les femmes, une corrélation linéaire significative était mise en évidence entre l'index de conversion spectroscopique et l'index de masse corporelle ( $p = 0.018$ ).

**Tableau 5 : Valeurs du contenu graisseux (CG) calculées dans cinq régions anatomiques du fémur proximal dans une population de 80 sujets sains, divisée en deux groupes selon le sexe.**

Une valeur  $p < 0.05$  était considérée comme statistiquement significative.

	F	M	<i>p</i>
CG % (±DS)			
Grand trochanter	92.16 (5.42)	95.4 (2.66)	<b>0.001</b>
Tête fémorale	87.45 (5.61)	92.84 (3.73)	<b>&lt;0.001</b>
Col fémoral	72.42 (9.36)	87.59 (10.11)	<b>&lt;0.001</b>
Diaphyse proximale	67.01 (12.01)	79.67 (10.57)	<b>&lt;0.001</b>
Acétabulum	54.71 (11.88)	69.35 (12.5)	<b>&lt;0.001</b>
ICS	78.62 (9.45)	91.74 (9.87)	<b>&lt;0.001</b>

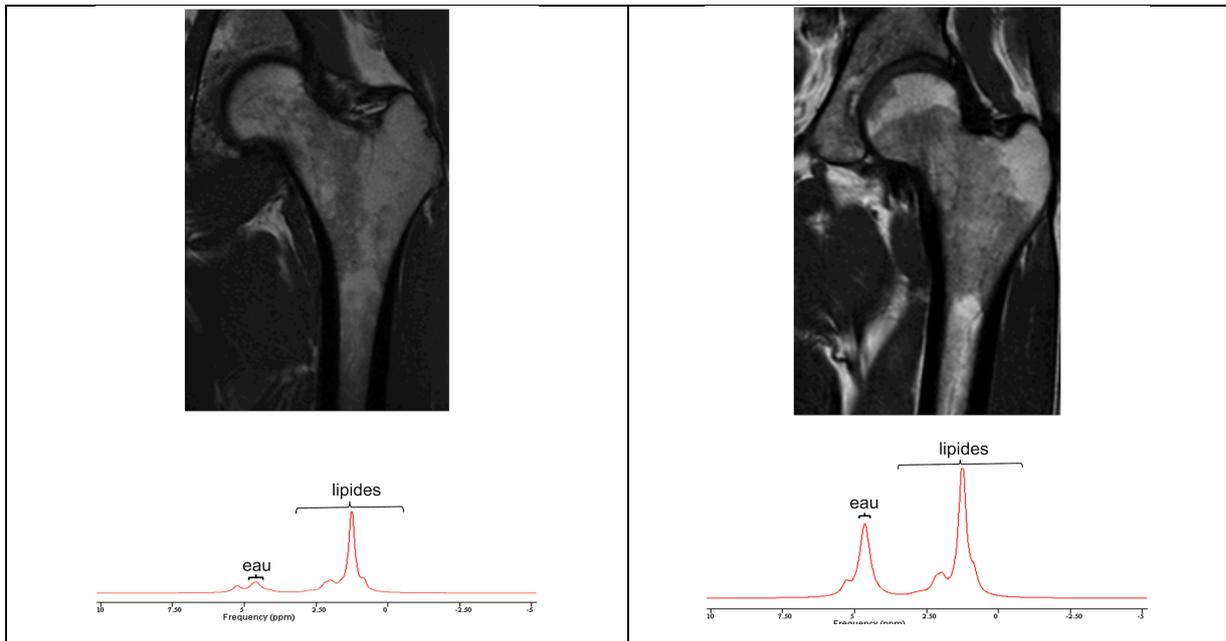


Figure 7

En haut: Image coronale oblique pondérée en T1 (600/16), obtenue chez un homme âgé de 35 ans. En bas : Spectre acquis à partir du col fémoral montrant un faible pic d'eau, en faveur d'une présence limitée de MO rouge. La valeur du CG était calculée à 78.7%.

En haut: Image coronale oblique pondérée en T1 (600/16), obtenue chez une femme de 35 ans. En bas : Spectre du col fémoral mettant en évidence un important pic d'eau, en faveur d'une forte prévalence de MO rouge. La valeur du CG était calculée à 63.3%.

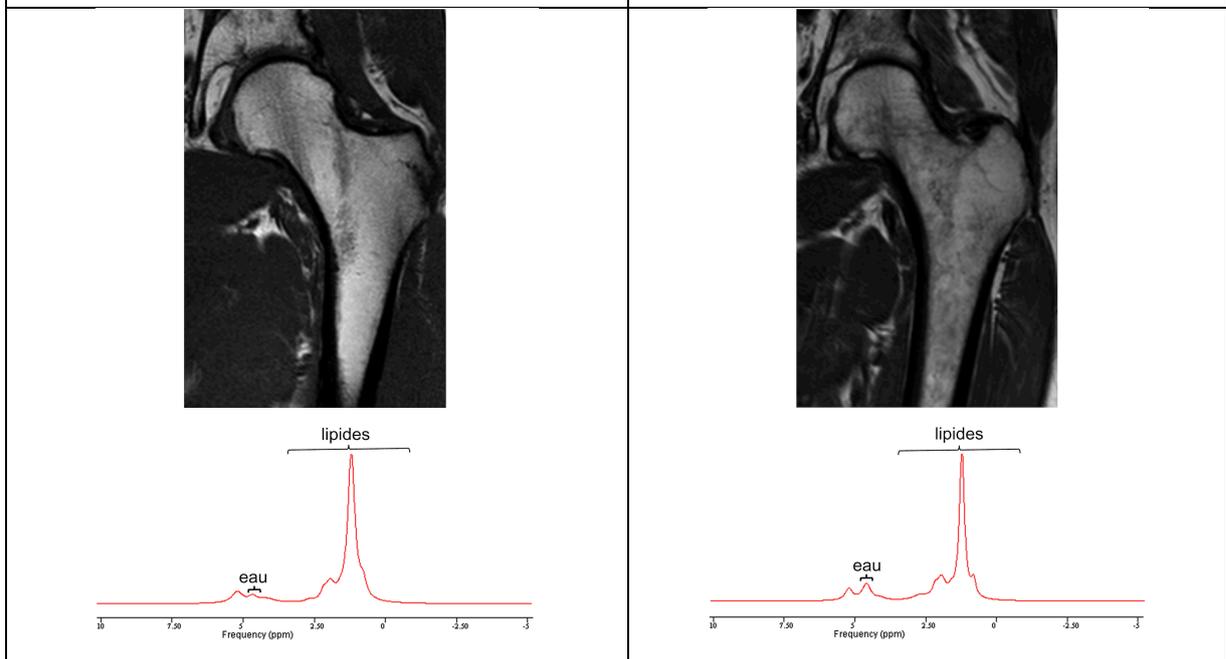


Figure 8

En haut: Image coronale oblique pondérée en T1 (600/16), obtenue chez un homme âgé de 55 ans. En bas : Spectre acquis à partir du col fémoral montrant un faible pic d'eau, en faveur d'un contenu pauvre en MO rouge. La valeur du CG était calculée à 89.1%.

En haut: Image coronale oblique pondérée en T1 (600/16), obtenue chez une femme de 55 ans. En bas : Spectre acquis à partir du col fémoral retrouvant un pic d'eau peu important, en faveur d'un contenu limité de MO rouge. La valeur du CG était calculée à 82.2%.

#### 4.4. Discussion des résultats

Des valeurs spectroscopiques normales de référence du contenu graisseux de cinq zones anatomiques différentes de la hanche ont pu être définies en fonction de l'âge et du sexe. Ces valeurs augmentent tout au long de la vie adulte, montrant dans chaque groupe d'âge le même gradient : grand trochanter > tête fémorale > col fémoral > diaphyse > acétabulum.

Comme l'on s'y attendait, les valeurs du contenu graisseux les plus importantes ont été observées dans le grand trochanter et la tête fémorale, ceci était en effet prévisible étant donné que ces constatations sont déjà évidentes en IRM conventionnelle dans ces 2 régions à partir de l'âge de 3 ans en raison de l'importance de la quantité de MO jaune (21,218). Ces valeurs reflètent la composition cellulaire microscopique de la MO jaune, celle-ci étant constituée de 95% de cellules graisseuses et de 5% de cellules non graisseuses (223). Les valeurs du contenu graisseux du col fémoral arrivaient en troisième position. De manière intéressante les valeurs du contenu graisseux les plus faibles, estimées à 66.88%, ont été observées à ce niveau chez les femmes les plus jeunes, c'est-à-dire âgées de 20 à 30 ans.

Vande Berg et al. (216), dans une étude réalisée en IRM conventionnelle, ont également trouvé que les femmes de cette même catégorie d'âge avaient une prédominance de MO rouge à ce niveau, estimée à 88% de la surface du fémur proximal, sur la base d'une estimation visuelle de l'hypo-intensité en pondération T1.

Ces différences entre résultats spectroscopiques et imagerie conventionnelle pourraient suggérer que dans les régions anatomiques caractérisées visuellement par un signal hypo-intense en T1, la présence de MO jaune pourrait être sous-estimée car le signal T1 plus long de la MO rouge prédomine sur le temps de relaxation T1 court des protons des cellules adipeuses.

Les valeurs du contenu graisseux trouvées dans la diaphyse proximale (allant de 61.71% à 76.24% chez les femmes et de 75.96% à 84.55% chez les hommes) étaient plus faibles que celles du col fémoral dans tous les groupes d'âge. Ces résultats sont en contradiction avec le principe affirmant que la conversion de la moelle osseuse débute dans la diaphyse fémorale et progresse vers la métaphyse (17). Cependant ceci peut s'expliquer, au moins en partie, par le positionnement proximal de nos mesures, dans une région anatomique en continuité avec la région inter-trochantérienne, qui peut montrer la persistance d'une quantité variable de MO rouge au fil des années (216,217).

Même si aucune étude antérieure ne s'est focalisée sur la détermination de valeurs de contenu graisseux dans la diaphyse fémorale proximale, Griffith et al. (224) dans une étude s'attachant à évaluer la reproductibilité des valeurs du contenu graisseux dans une population âgée, ont rapporté une moyenne des valeurs du contenu graisseux de 82.64% pour le fût fémoral, ce qui est relativement plus faible que les valeurs qu'ils avaient retrouvé pour la tête et le col fémoral.

Dans mon étude, les valeurs du contenu graisseux de l'acétabulum étaient les plus faibles, indépendamment de l'âge et du sexe. Elles vont de 54.27% (groupe 20-30) à 72.96% (groupe 50-60), ce qui démontre que la distribution de la moelle osseuse dans l'acétabulum varie grandement avec le temps. De manière intéressante, Griffith et al. [23] ont

récemment montré que chez les personnes âgées, la perfusion la plus importante de la moelle osseuse autour de la hanche était retrouvée dans l'acétabulum, en faveur d'une représentation prédominante de MO rouge.

Certaines études ont évalué la conversion de la moelle osseuse, chez les sujets sains et chez les patients atteints d'une ostéonécrose de la tête fémorale, sur la base d'une estimation visuelle de la distribution de la MO rouge dans le fémur proximal sur des images pondérées en T1. Ces méthodes consistaient à calculer le ratio entre l'intensité du signal de la métaphyse proximale occupée par de la MO rouge et l'intensité du signal du grand trochanter (216, 218,225-227).

Nous avons calculé, pour la première fois, un index de conversion spectroscopique comme étant le ratio entre la valeur du contenu graisseux du col fémoral et la valeur du contenu graisseux du grand trochanter, fournissant un paramètre du degré de conversion de la moelle osseuse du fémur proximal. De manière similaire à l'index de conversion conventionnel (216, 218,228), l'index de conversion spectroscopique augmentait avec l'âge quel que soit le sexe. De plus, nous avons trouvé des valeurs plus faibles pour l'index de conversion spectroscopique chez les femmes que chez les hommes et ceci quel que soit le groupe d'âge.

Ces résultats suggèrent que la conversion de la moelle osseuse est affectée par le sexe et est plus lente chez les femmes que chez les hommes. Ces nouvelles données peuvent donc contribuer à clarifier une controverse. En effet, Vande Berg et al. (216) avaient initialement évoqué que la proportion de MO rouge et de cellules non adipeuses était plus importante chez les femmes que chez les hommes, alors que plus tard, Koo et al. (226), n'avaient pas retrouvé de différence de l'index de conversion de la moelle par rapport au sexe dans leur étude. Cependant, ces deux types d'études étaient basés sur des mesures directes ou indirectes de la MO rouge obtenues par des estimations visuelles sur des images pondérées en T1 (229), alors que l'index de conversion spectroscopique donne une mesure quantitative de la composition de la moelle osseuse. De plus, nos résultats sont supportés par d'autres études spectroscopiques, qui montrent une variation selon le sexe du contenu de la moelle jaune dans d'autres zones anatomiques qu'à la hanche, comme au calcaneum (24) ou au rachis (24,27,34,224,230).

Nous avons également trouvé que la valeur de l'index de conversion spectroscopique était similaire chez les femmes dans les deux premiers groupes d'âge (20-30 et 30-40: 73.52 vs 74.88) et augmentait à partir de 40 ans (78.79 dans le groupe 40-50 et 87.3 dans le groupe 50-60), alors que chez les hommes l'augmentation de l'index de conversion spectroscopique était constante avec le temps. Ces résultats semblent confirmer que chez les hommes, la conversion graisseuse tend à se dérouler de manière linéaire tout au long de la vie (216,224), alors que les estrogènes la ralentissent chez les femmes jusqu'à ce que la ménopause apparaisse (63).

En évaluant la conversion de la moelle osseuse, nous avons montré que la différence des valeurs de l'index de conversion spectroscopique entre les deux sexes tend à augmenter dans les premières décades (13 points de différence dans le groupe 20-30, 15 points dans le groupe 30-40, 17 points dans le groupe 40-50), pour se réduire nettement dans le groupe 50-60 (8 points de différence). Ces éléments doivent bien sûr être confirmés par d'autres études spectroscopiques de la hanche mais ils sont en accord avec une étude récente de

Griffith et al. (224). Ces derniers, en se concentrant sur la spectroscopie  $^1\text{H}$  par IRM du rachis de sujets âgés, ont trouvé que le contenu de la moelle jaune augmente rapidement chez les sujets de sexe féminin entre 55 et 65 ans et que les femmes de plus de 60 ans ont un contenu graisseux de la moelle plus élevé que les hommes.

En comparant chaque groupe d'âge consécutif sans tenir compte du sexe, nous avons trouvé des différences significatives pour chaque zone anatomique ( $p < 0.004$ ), excepté pour le grand trochanter ( $p = 0.19$ ). De plus, les valeurs du contenu graisseux étaient statistiquement différentes au niveau de la tête fémorale en comparant le groupe 20-30 versus 30-40 ( $p = 0.006$ ) et au niveau de l'acétabulum en comparant les groupes 40-50 versus 50-60 ( $p = 0.018$ ). Ceci indique que les valeurs du contenu graisseux du fémur proximal tendent à augmenter avec le temps, avec des différences significatives d'une tranche d'âge à l'autre et que certains sites anatomiques présentent une vitesse différente de conversion de la moelle osseuse.

Enfin, nous avons analysé la relation entre l'index de masse corporelle et l'index de conversion spectroscopique dans les deux sexes, sans considérer les différences d'âge. Aucune corrélation n'a été retrouvée chez les hommes, alors que chez les femmes il existe une corrélation statistiquement significative ( $p = 0.018$ ). Cet aspect pourrait être expliqué par les différents types d'activité promus par certaines hormones (les adipokines) qui sont secrétées dans le tissu adipeux viscéral et dans la MO jaune (231) et qui pourraient être différentes chez les hommes et les femmes, en raison de la répartition anatomique inégale du tissu adipeux selon le sexe (232,233).

#### **4.5. Limites de l'étude**

Nous reconnaissons les limites suivantes de notre étude. Premièrement, le nombre de sujets inclus dans chaque groupe était relativement limité. Deuxièmement, bien qu'aucun participant de cette étude n'ait déclaré être atteint d'ostéopénie ou d'ostéoporose, nous n'avons pas réalisé d'évaluation de leur statut minéral osseux. Enfin, aucun dosage d'estrogène n'a été réalisé chez les femmes.

#### **4.6. Synthèse et Conclusions**

En conclusion, nous avons obtenu des valeurs spectroscopiques de contenu graisseux normales pour différentes régions de la hanche, selon l'âge et le sexe. Ces valeurs pourraient être utiles afin de détecter des variations subtiles de la moelle osseuse, qui pourraient ne pas être visibles en IRM conventionnelle, mais ceci doit maintenant être confirmé. Les valeurs de contenu graisseux montrent le même gradient anatomique dans les deux sexes et pour chaque classe d'âge. La conversion de la moelle osseuse apparaît plus tôt chez les hommes que chez les femmes, avec une différence moins évidente dans le groupe 50-60. Des études supplémentaires semblent être nécessaires afin d'élucider la signification de la corrélation linéaire existant entre l'index de masse corporelle et l'index de conversion spectroscopique chez les femmes.

<b>5. APPORT DE LA SPECTROSCOPIE <sup>1</sup>H PAR RESONANCE MAGNETIQUE 3 TESLA A L'EVALUATION DE LA PATHOLOGIE DE LA MOELLE OSSEUSE DE LA HANCHE.....</b>	<b>46</b>
5.1. ETAT DE LA QUESTION.....	46
5.2. OSTEONECROSE DE LA TETE FEMORALE.....	47
5.2.1. Rôle potentiel des adipocytes de la MO jaune dans la pathogénie de l'ONTF .....	47
5.2.2. Apport de la Spectroscopie par IRM dans l'évaluation de l'ONTF.....	48
5.2.3. Etat d'avancement de mon étude .....	48
5.3. ANOREXIE MENTALE.....	50
5.3.1. Exploration du rapport entre le tissu adipeux et l'os .....	50
5.3.2. Rôle de la Spectroscopie par IRM dans l'évaluation de l'anorexie mentale.....	51
5.3.3. Description et état d'avancement de mon étude .....	52

## **5. APPORT DE LA SPECTROSCOPIE $^1\text{H}$ PAR RESONANCE MAGNETIQUE 3 TESLA A L'EVALUATION DE LA PATHOLOGIE DE LA MOELLE OSSEUSE DE LA HANCHE**

### **5.1. Etat de la question**

Comme nous avons obtenu des valeurs reproductibles du contenu graisseux de la moelle osseuse à la hanche et des valeurs de référence par tranches d'âge et par sexe chez des sujets sains, nous avons voulu utiliser la spectro-IRM à 3 T pour rechercher des modifications quantitatives de ce contenu graisseux dans des conditions pathologiques de la moelle osseuse. Nous nous sommes intéressés à deux d'entre-elles, l'ostéonécrose de la tête fémorale (ONTF) et l'anorexie mentale.

Certaines raisons scientifiques ont déterminé ce choix mais des considérations d'ordre pratique ont également été prises en compte. En effet, ces deux pathologies étant également étudiées par les cliniciens du laboratoire de recherche PMOI (orthopédistes et rhumatologues), on pouvait compter sur un vaste recrutement de patients et sur une connaissance approfondie de ces affections.

Plusieurs études font état d'un dysfonctionnement de la communication entre le tissu adipeux et l'os dans la pathogénie de ces deux affections. Ces altérations seraient responsables d'une modification de la composition de la MO, faisant intervenir en particulier l'adiposité médullaire dans la pathogénie de ces pathologies.

Ainsi, au cours d'une ONTF, une altération du métabolisme lipidique semblerait s'associer à une augmentation de l'adiposité médullaire. Le but de notre étude, qui est encore actuellement en cours, est de rechercher d'éventuelles modifications de cette adiposité, de les quantifier et, dans un deuxième temps, d'essayer de définir un seuil au-delà duquel une population à risque (comme celle sous corticothérapie) est susceptible de développer une ostéonécrose.

Chez les patients souffrant d'anorexie mentale, il existe une nette diminution du tissu adipeux blanc sous-cutané et viscéral avec paradoxalement une augmentation de la moelle osseuse jaune. Des valeurs du contenu graisseux à l'aide de la spectroscopie par IRM ont été publiées, mais ces études portaient sur un nombre limité de sujets.

Dans notre étude actuellement en cours, nous voudrions rechercher s'il existe un lien entre la gravité de l'anorexie (estimée sur la base de la réduction de l'index de masse corporelle) et l'augmentation de l'adiposité médullaire, quantifiée à l'aide de la spectroscopie par IRM, sur une plus vaste population de patients.

## **5.2. Ostéonécrose de la tête fémorale**

L'ONTF est une pathologie relativement commune, très invalidante car elle requiert quasiment invariablement une sanction chirurgicale (pose d'une prothèse de hanche) chez des sujets jeunes, ayant fréquemment moins de 50 ans (234). Plusieurs facteurs de risque ont été identifiés comme l'exogénose, l'administration de glucocorticoïdes, les collagénoses, les pathologies hématologiques infiltratives de la moelle osseuse et les affections métaboliques du tissu adipeux (maladie de Gaucher et hypertriglycéridémie). Cependant, la pathogénie exacte de l'ONTF n'est pas complètement élucidée. Pendant longtemps, il a été supposé qu'une ischémie veineuse ou du réseau artériel distal était à l'origine de la nécrose de la tête fémorale. Cependant, des études récentes ont démontré que l'ischémie est un évènement secondaire à l'altération d'un mécanisme complexe entre l'os et l'adiposité médullaire et ne serait donc pas le *primum movens* (235). Les éléments en faveur du rôle de l'adipocyte de la MO dans la pathogénie de cette affection seront évalués dans le paragraphe suivant.

### **5.2.1. Rôle potentiel des adipocytes de la MO jaune dans la pathogénie de l'ONTF**

Les étiologies les plus sûrement impliqués dans la pathogénie de l'ONTF étant l'abus d'alcool et les glucocorticoïdes (236), la plus grande partie des travaux réalisés *in vitro* ou *in vivo* sur des modèles animaux les reproduisent expérimentalement, ce qui entraîne un impact sur la distribution et le métabolisme des lipides. Cependant, le lien entre ces étiologies, l'adipocyte médullaire et le développement de la nécrose osseuse n'est pas explicite. Des études réalisées sur des cadavres d'animaux avec une ONTF induite par les stéroïdes ont démontré que la taille des adipocytes était augmentée dans les phases précoces de la pathologie (237).

Dans la MO jaune d'animaux ayant ingéré une grande quantité d'éthanol, une accumulation de vésicules riches en triglycérides et une augmentation du nombre d'adipocytes ont été observées (155). De plus, dans le même modèle, une hypertrophie et une hyperplasie des adipocytes était retrouvée dans l'os sous-chondral de la tête fémorale (153). Dans un modèle animal de lapin, l'administration directe d'alcool était responsable d'une augmentation de l'adipogénèse (154). Dans une étude réalisée *in vivo* sur un modèle animal avec une ostéonécrose induite par les stéroïdes, une augmentation de l'adipogénèse associée à une thrombose du réseau artériel distal a été observée (238). Dans cette même étude, il a été démontré que les glucocorticoïdes favorisaient la sécrétion adipocytaire de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1, qui a comme principale fonction l'inhibition du plasminogène et donc de la fibrinolyse (238).

Ces hypothèses suggèrent que l'augmentation de l'adiposité médullaire, induite par les corticoïdes ou l'alcool, favorise l'évènement ischémique responsable de la nécrose et ceci avec une augmentation du nombre et de la taille des adipocytes, en association à une activité hormonale locorégionale.

### **5.2.2. Apport de la Spectroscopie par IRM dans l'évaluation de l'ONTF**

Plusieurs études réalisées en IRM conventionnelle ont démontré une augmentation de l'adiposité médullaire au cours de l'ONTF (218,225). Koo et al. ont rapporté que la conversion de la MO rouge en MO jaune était augmentée chez les patients porteurs d'une ONTF. Cependant, très peu d'études ont quantifié le contenu graisseux au cours d'une ONTF en spectroscopie. Il n'existe que deux articles réalisés avec des IRM à 1.5 T et leurs résultats sont discordants.

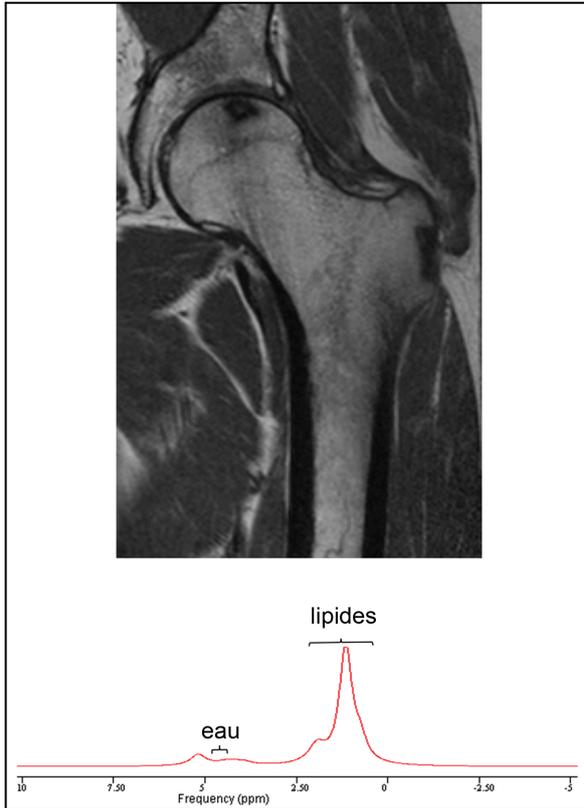
Bluemke et al., en utilisant pour la première fois la spectroscopie par IRM (204), ont rapporté que le contenu graisseux du col et de la tête fémorale ne différait pas entre les patients présentant un lupus érythémateux systémique traité par corticoïdes au long cours et les sujets normaux. Il faut souligner que la population témoin de cette étude ne comprenait que 12 sujets (3 hommes et 9 femmes) d'âges très différents (de 24 à 57 ans) et que les valeurs du contenu graisseux des patients ont été comparées à celles des sujets témoins de manière globale, sans aucune différenciation par rapport à l'âge ni au sexe. Ceci s'explique probablement par le fait que la plupart des études (183,216,217) ayant rapporté des différences dans la distribution de la MO à la hanche en fonction de l'âge et du sexe sont postérieures à l'article de Bluemke.

Ce n'est que onze ans plus tard qu'un autre article sur le même sujet est paru dans la littérature. Dans ce travail, Hou et al. (205) affirmaient que la spectroscopie IRM était à même de détecter des anomalies du contenu graisseux chez des sujets présentant une ONTF. Cependant, ces résultats n'étaient pas comparés à une population témoin. En outre, l'acquisition spectroscopique était réalisée uniquement au niveau de la tête fémorale en région sous-chondrale. Enfin, les auteurs n'avaient pas calculé ces valeurs à l'aide d'un logiciel dédié et ils exprimaient leurs résultats de manière peu reproductible.

### **5.2.3. Etat d'avancement de mon étude**

Depuis l'étude de Hou et al., aucun travail n'a été publié sur la quantification spectroscopique de l'adiposité médullaire au cours d'une ONTF, malgré le fait que le débat sur la possibilité de réaliser un diagnostic précoce de cette affection ne soit pas clos (239). Le but de mon travail est de confirmer qu'il existe une augmentation de l'adiposité médullaire chez les patients porteurs d'une ONTF, de manière comparative par rapport aux valeurs des sujets sains de la même tranche d'âge et de même sexe. De plus, nous comptons quantifier le contenu graisseux et l'exprimer en pourcentage du rapport graisse/eau de manière à obtenir des résultats facilement exploitables pour d'autres études. En particulier, nous envisageons de poursuivre cette étude sur une population de sujets asymptomatiques, traitée par corticoïdes au long cours, afin de rechercher une augmentation de l'adiposité médullaire avec une valeur seuil du contenu graisseux au-delà de laquelle l'apparition de signes IRM classiques d'ostéonécrose serait imminente.

A l'heure actuelle, le recrutement des patients porteurs d'une ONTF est presque terminé. Nous avons réalisé une étude spectroscopique sur 25 patients alors que notre population totale comptera 35 malades.



**Figure 9 - En haut: Image coronal oblique pondérée en T1 (600/16) obtenue chez un homme de 28 ans éthylique chronique et porteur d'une ONTF. En bas : spectre acquis à partir du col fémoral retrouvant un pic d'eau peu important, en faveur d'une prépondérance de la MOJ. La valeur du CG était calculée à 89.2%.**

Nous disposons des résultats spectroscopiques de 15 patients (14 hommes et 1 femme) dont 9 patients avec une ONTF bilatérale et 6 avec une ONTF unilatérale.

Un premier élément, apparaissant comme assez constant dans ces données préliminaires, est la nette réduction de l'adiposité médullaire de la tête fémorale, là où prédominent les phénomènes nécrotiques et inflammatoires, responsables d'une augmentation du pic de l'eau. Il est donc difficile de comprendre les résultats de Hou et al. , qui avaient retrouvé une augmentation de l'adiposité médullaire dans cette même région anatomique.

Le deuxième aspect résultant de ces résultats préliminaires est encourageant, car il semblerait que chez certains patients, une augmentation de l'adiposité médullaire soit retrouvée dans le col fémoral, mais nous ne pouvons pas l'affirmer avec certitude en l'absence de validation par des tests statistiques et du fait du nombre encore limité des observations. Néanmoins, une telle augmentation du contenu graisseux du

col fémoral ne semblerait pas exister chez d'autres patients. Au cours d'une première analyse, il apparaît que l'augmentation du contenu graisseux survienne chez les patients avec une ostéonécrose moins sévère (**fig. 9**). Il est donc nécessaire de classer les résultats par rapport au stade de l'ostéonécrose selon la classification de Ficat (240).

En effet, il est possible qu'une augmentation de l'adiposité médullaire ne soit détectable qu'aux stades précoces de la maladie (stade de Ficat I et II), avant que l'impaction de la tête fémorale ne détermine des remaniements inflammatoires trop marqués, pouvant perturber l'évaluation spectroscopique de l'adiposité médullaire. Ce type d'analyse de résultats en fonction du stade de l'ostéonécrose selon la classification de Ficat ne sera possible que lorsque nous disposerons de l'ensemble des données de l'étude.

### **5.3. Anorexie mentale**

L'anorexie mentale est un trouble du comportement alimentaire qui associe une peur pathologique de la prise de poids associée à une dysmorphophobie, c'est à dire une vision anormale de l'image de soi. Une importante perte de poids, un refus à conserver un poids normal et une aménorrhée sont constamment présents.

Le tissu osseux est considérablement affecté au cours de cette pathologie avec une réduction significative de la densité osseuse, mesurée à l'aide de l'absorptiométrie biphotonique aux rayons X (DXA), au niveau du col fémoral et du rachis (241).

Les mécanismes à la base de l'ostéopénie associée à l'anorexie mentale sont multiples (facteurs hormonaux, endocrines et nutritionnels) et non complètement élucidés. Le manque d'estrogènes joue sûrement un rôle crucial dans l'ostéopénie mais il n'est pas le seul mécanisme. En effet, pour un âge donné, l'ostéopénie est plus marquée chez les femmes anorexiques que chez les femmes ayant un index de masse corporel normal (entre 18 et 25) mais avec une aménorrhée d'origine hypothalamique (242). Plusieurs études ont démontré que de jeunes femmes anorexiques présentaient une réduction du tissu adipeux viscéral et sous-cutané avec une augmentation de l'adiposité médullaire (32,33). Ces éléments suggèrent que des modifications du métabolisme du tissu adipeux sont impliquées dans l'atteinte osseuse de ces patients.

#### **5.3.1. Exploration du rapport entre le tissu adipeux et l'os**

Les mécanismes intervenant entre le tissu adipeux et l'os peuvent être évalués cliniquement en mesurant le poids et en calculant l'index de masse corporelle du sujet anorexique. Plusieurs études ont démontré que ces paramètres sont sévèrement diminués chez les sujets atteints d'anorexie mentale par rapport aux sujets contrôles. Legroux et al. (137) ont prouvé que le poids est significativement corrélé à la densité osseuse évaluée par DXA et que la perte de poids contribue de manière significative à l'ostéopénie des sujets anorexiques. Cependant, ces évaluations cliniques ont comme limite le fait que le poids ne reflète pas uniquement le contenu adipeux, mais également la masse maigre.

L'IRM permet d'évaluer de manière précise les modifications de la moelle osseuse de l'anorexie mentale. Ecklund et al. (31) ont prouvé que les adolescentes anorexiques présentaient une conversion prématurée de la moelle rouge en moelle jaune au squelette périphérique. Cependant, dans deux autres études réalisées chez des patients atteints d'une anorexie très sévère avec une réduction marquée de l'index de masse corporelle (moyenne estimée à 13.8 Kg/m<sup>2</sup> et 14.5 Kg/m<sup>2</sup> respectivement pour chaque étude), Vande Berg et al. (243) et Geiser et al. (244) retrouvaient une augmentation de la composante liquidienne au sein de la MO, due à une atrophie séreuse.

### **5.3.2. Rôle de la Spectroscopie par IRM dans l'évaluation de l'anorexie mentale**

La spectroscopie par IRM a déjà été utilisée pour évaluer les modifications de la moelle osseuse chez les sujets anorexiques. Bredella et al. (33) ont mesuré le contenu graisseux du col fémoral et de L4 chez dix sujets anorexiques appariés à 10 sujets sains de la même tranche d'âge. Les patients bénéficiaient également d'une évaluation du statut osseux par DXA. Leurs sujets anorexiques avaient des valeurs du contenu graisseux à la hanche et au rachis plus élevées que les sujets sains. De plus, il existait une corrélation inverse entre l'adiposité médullaire et le tissu adipeux sous cutanée. Cette corrélation inverse existait également entre le contenu graisseux du fémur et de L4 et les valeurs de densité osseuse. Cependant, aucune corrélation entre la sévérité de la maladie et les valeurs du contenu graisseux n'a été explorée.

### 5.3.3. Description et état d'avancement de mon étude

L'objectif principal de mon étude est de vérifier s'il existe une corrélation significative entre le contenu graisseux du col fémoral et le degré de sévérité de la pathologie, évalué sur la base des paramètres cliniques et notamment sur l'index de masse corporelle. Trente trois patientes anorexiques seront recrutées. Les valeurs obtenues seront comparées à celles de la population témoin de mon étude précédente.

Sur la base de l'expérience clinique, il est probable qu'environ 15 patientes sur les 33 pourront améliorer leur tableau clinique en terme de reprise de poids dans un 1 an. Ces patientes seront alors convoquées pour un nouvel examen afin d'évaluer s'il existe une corrélation entre l'augmentation de l'index de masse corporelle et l'adiposité médullaire.

Les séquences spectroscopiques seront réalisées non seulement au col fémoral mais également systématiquement au grand trochanter afin de calculer l'index de conversion spectroscopique (ratio entre le contenu graisseux du col fémoral et celui du grand trochanter). Nous évaluerons également l'acetabulum et la diaphyse proximale afin d'essayer de déterminer s'il existe une corrélation entre la sévérité de la pathologie et la cartographie de l'atteinte. Enfin, nous allons réaliser une acquisition spectroscopique dans la graisse sous-cutanée de la racine de la cuisse pour vérifier s'il existe également des modifications de ce compartiment graisseux.

Au moment de la rédaction de cette thèse, seulement 5 patientes ont bénéficié d'une étude spectroscopique du fémur proximal. Comme nous nous y attendions, nous retrouvons une augmentation de l'adiposité médullaire au col fémoral (**fig. 10**), mais nous ne disposons pas d'assez d'observations à l'heure actuelle pour extrapoler ces résultats préliminaires.



Figure 10 - En haut: Image coronale oblique pondérée en T1 (600/16) d'une femme de 24 ans anorexique (index de masse corporelle de 17.1). En bas: spectre du col fémoral présentant un pic d'eau minime, en faveur d'une réduction de la MO rouge et d'une augmentation anormale du contenu graisseux. La valeur du CG était calculée à 92,8%.

# CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PERSPECTIVES

Au cours de ce travail de thèse, j'ai démontré que la spectro-IRM à 3 T permet une quantification reproductible du contenu graisseux de la moelle osseuse à la hanche et qu'il n'existe pas de différence significative entre les valeurs de l'adiposité médullaire du côté droit et gauche chez un même individu. J'ai pu obtenir des valeurs de référence spectroscopiques du contenu graisseux du fémur proximal en évaluant l'influence de certaines caractéristiques physiologiques, comme l'âge et le sexe, sur la conversion graisseuse de la moelle osseuse.

Sur la base des résultats de ces deux premiers travaux j'ai pu débiter deux autres études portant sur deux affections pathologiques de la moelle osseuse de la hanche, à savoir l'ostéonécrose de la tête fémorale et l'anorexie mentale.

Si les objectifs de ces deux travaux actuellement en cours sont atteints, la spectro-IRM à 3 T pourrait être plus largement utilisée dans la pratique clinique pour l'évaluation pronostique et le suivi de ces pathologies.

# BIBLIOGRAPHIE

1. Casteilla L, Dani C. Adipose tissue-derived cells: from physiology to regenerative medicine. *Diabetes Metab.* 2006;32:393-401.
2. Rosen CJ, Bouxsein ML. (2006). Mechanisms of disease: is osteoporosis the obesity of bone? *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2006;2:35-43.
3. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:911-919.
4. Krings A, Rahman S, Huang S, et al. Bone marrow fat has brown adipose tissue characteristics, which are attenuated with aging and diabetes. *Bone.* 2012;50:546-552.
5. Gimble JM. The function of adipocytes in the bone marrow stroma. *New Biol.* 1990;2:304-312.
6. Tavassoli M. Marrow adipose cells. Ultrastructural and histochemical characterization. *Arch Pathol.* 1974;98:189-192.
7. Payne MW, Uthoff HK, Trudel G. Anemia of immobility: caused by adipocyte accumulation in bone marrow. *Med Hypotheses.* 2007;69:778-786.
8. Travlos GS. Histopathology of bone marrow. *Toxicol Pathol.* 2006;34:566-598.
9. Politis C, Karamerou A, Block M. Pathophysiologic aspects of the bone/marrow/fat relationship. *Lab Management.* 1983;21:40-55.
10. Snyder WS, Cook MJ, Nasset ES, et al. International Commission on radiological protection. Report of the task group on reference man. Pergamon Press édit.,1975.
11. Hartsock RJ, Smith EB, Petty CS. Normal variations with aging of the amount of hematopoietic tissue in bone marrow from the anterior iliac crest. *Am J Clin Pathol.* 1965;43:326-331.
12. Piney A. The anatomy of the bone marrow: with special reference to the distribution of the red marrow. *Brit Med J.* 1922;28:792-795.
13. Neumann E. Das Gesetz der Verbreitung des gelben und roten Markes in den Extremitätenknochen. *Centralblatt für die Medicinischen Wissenschaften.* 1882;18:321-323.

14. Weiss L. The structure of bone marrow functional interrelationships of vascular and hematopoietic compartments in experimental hemolytic anemia: an electron microscopic study. *J Morph.* 1965;117:467-538.
15. De Bruyn PPH, Breen PC, Thomas TB. The microcirculation of the bone marrow. *Anat Rec.* 1970;168:55-68.
16. Blebea JS, Houseni M, Torigian DA, et al. Structural and functional imaging of normal bone marrow and evaluation of its age-related changes. *Semin Nucl Med.* 2007;37:185-194.
17. Gurevitch O, Slavin S, Feldman AG. Conversion of red bone marrow into yellow - Cause and mechanisms. *Med Hypotheses.* 2007;69:531-536.
18. Gurevitch O, Slavin S, Resnick I, et al. Mesenchymal progenitor cells in red and yellow bone marrow. *Folia Biol.* 2009;55:27-34.
19. Hwang S, Panicek DM. Magnetic resonance imaging of bone marrow in oncology, Part 1. *Skeletal Radiol.* 2007;36:913-920.
20. Dawson KL, Moore SG, Rowland JM. Age-related marrow changes in the pelvis: MR and anatomic findings. *Radiology.* 1992;183:47-51.
21. Moore SG, Dawson KL. Red and yellow marrow in the femur: age-related changes in appearance at MR imaging. *Radiology.* 1990;175:219-223.
22. De Bisschop E, Luypaert R, Louis O, et al. Fat fraction of lumbar bone marrow using in vivo proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Bone.* 1993;14:133-136.
23. Justesen J, Stenderup K, Ebbesen EN, et al. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis. *Biogerontology.* 2001;2:165-171.
24. Liney GP, Bernard CP, Manton DJ, et al. Age, gender, and skeletal variation in bone marrow composition: a preliminary study at 3.0 Tesla. *J Magn Reson Imaging.* 2007;26:787-793.
25. Griffith JF, Yeung DK, Antonio GE, et al. Vertebral bone mineral density, marrow perfusion, and fat content in healthy men and men with osteoporosis: dynamic contrast-enhanced MR imaging and MR spectroscopy. *Radiology.* 2005;236:945-951.
26. Griffith JF, Yeung DK, Antonio GE, et al. Vertebral marrow fat content and diffusion and perfusion indexes in women with varying bone density: MR evaluation. *Radiology.* 2006;241:831-838.

27. Kugel H, Jung C, Schulte O, et al. Age- and sex-specific differences in the <sup>1</sup>H-spectrum of vertebral bone marrow. *J Magn Reson Imaging*. 2001;13:263-268.
28. Meunier P, Aaron J, Edouard C, et al. Osteoporosis and the replacement of cell populations of the marrow by adipose tissue. A quantitative study of 84 iliac bone biopsies. *Clin Orthop Relat Res*. 1971;80:147-154.
29. Sheu Y, Cauley JA. The role of bone marrow and visceral fat on bone metabolism. *Curr Osteoporos Rep*. 2011;9:67-75.
30. Rosen CJ, Ackert-Bicknell C, Rodriguez JP, et al. Marrow fat and the bone microenvironment: developmental, functional, and pathological implications. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2009;19:109-124.
31. Ecklund K, Vajapeyam S, Feldman HA, et al. Bone marrow changes in adolescent girls with anorexia nervosa. *J Bone Miner Res*. 2010;25:298-304.
32. Abella E, Feliu E, Granada I, et al. Bone marrow changes in anorexia nervosa are correlated with the amount of weight loss and not with other clinical findings. *Am J Clin Pathol*. 2002;118:582-588.
33. Bredella MA, Fazeli PK, Miller KK, et al. Increased bone marrow fat in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:2129-2136.
34. Rozman C, Reverter JC, Feliu E, et al. Variations of fat tissue fraction in abnormal human bone marrow depend both on size and number of adipocytes: a stereologic study. *Blood*. 1990;76:892-895.
35. Bambace C, Telesca M, Zoico E, et al. Adiponectin gene expression and adipocyte diameter: a comparison between epicardial and subcutaneous adipose tissue in men. *Cardiovasc Pathol*. 2011;20:153-156.
36. Trubowitz S, Bathija A. Cell size and plamitate-1-14c turnover of rabbit marrow fat. *Blood*. 1977;49:599-605.
37. Rozman C, Feliu E, Berga L, et al. Age-related variations of fat tissue fraction in normal human bone marrow depend both on size and number of adipocytes: a stereological study. *Exp Hematol*. 1989;17:34-37.
38. Shah AP, Patton PW, Rajon DA, et al. Adipocyte spatial distributions in bone marrow: implications for skeletal dosimetry models. *J Nucl Med*. 2003;44:774-783.
39. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, et al. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells*. 2001;19:180-192.

40. Yoshiko Y, Oizumi K, Hasegawa T, et al. A subset of osteoblasts expressing high endogenous levels of PPARgamma switches fate to adipocytes in the rat calvaria cell culture model. *PLoS One*. 2010;26:5
41. Han J, Koh YJ, Moon HR, et al. Adipose tissue is an extramedullary reservoir for functional hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*. 2010;115:957-964.
42. Zhang J, Niu C, Ye L, et al. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature*. 2003;425:836-841.
43. Wilson A, Trumpp A. Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:93-106.
44. Duque G. Bone and fat connection in aging bone. *Curr Opin Rheumatol*. 2008;20:429-434.
45. Wren TA, Chung SA, Dorey FJ, et al. Bone marrow fat is inversely related to cortical bone in young and old subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:782-786.
46. Seale P, Bjork B, Yang W, et al. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature*. 2008;454:961-967.
47. Tang W, Zeve D, Suh JM, et al. White fat progenitor cells reside in the adipose vasculature. *Science*. 2008;322:583-586.
48. Calo E, Quintero-Estades JA, Danielian PS, et al. Rb regulates fate choice and lineage commitment in vivo. *Nature*. 2010;466:1110-1114.
49. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999;284:143-147.
50. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 2002;418:41-49.
51. Lin FT, Lane MD. CCAAT/enhancer binding protein alpha is sufficient to initiate the 3T3-L1 adipocyte differentiation program. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91:8757-8761.
52. Wu Z, Rosen ED, Brun R, et al. Cross-regulation of C/EBP alpha and PPAR gamma controls the transcriptional pathway of adipogenesis and insulin sensitivity. *Mol Cell*. 1999;3:151-158.

53. Yeh WC, Li TK, Bierer BE, et al. Identification and characterization of an immunophilin expressed during the clonal expansion phase of adipocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92:11081-11085.
54. Hamm JK, Park BH, Farmer SR. A role for C/EBPbeta in regulating peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity during adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J Biol Chem*. 2001;276:18464-18471.
55. Burgess-Beusse BL, Timchenko NA, Darlington GJ. CCAAT/enhancer binding protein alpha (C/EBPalpha) is an important mediator of mouse C/EBPbeta protein isoform production. *Hepatology*. 1999;29:597-601.
56. Gimble JM, Robinson CE, Wu X, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation by thiazolidinediones induces adipogenesis in bone marrow stromal cells. *Mol Pharmacol*. 1996;50:1087-1094.
57. Akune T, Ohba S, Kamekura S, et al. PPARgamma insufficiency enhances osteogenesis through osteoblast formation from bone marrow progenitors. *J Clin Invest*. 2004;113:846-855.
58. Lecka-Czernik B, Moerman EJ, Grant DF, et al. Divergent effects of selective peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 ligands on adipocyte versus osteoblast differentiation. *Endocrinology*. 2002;143:2376-2384.
59. Ackert-Bicknell CL, Shockley KR, Horton LG, et al. Strain-specific effects of rosiglitazone on bone mass, body composition, and serum insulin-like growth factor-I. *Endocrinology*. 2009;150:1330-1340.
60. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, et al. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell*. 1997;89:747-754.
61. Bruedigam C, Eijken M, Koedam M, et al. A new concept underlying stem cell lineage skewing that explains the detrimental effects of thiazolidinediones on bone. *Stem Cells*. 2010;28:916-927.
62. Bruedigam C, Koedam M, Chiba H, et al. Evidence for multiple peroxisome proliferator-activated receptor gamma transcripts in bone: fine-tuning by hormonal regulation and mRNA stability. *FEBS Lett*. 2008;582:1618-1624.
63. Syed FA, Oursler MJ, Hefferanm TE, et al. Effects of estrogen therapy on bone marrow adipocytes in postmenopausal osteoporotic women. *Osteoporos Int*. 2008;19:1323-1330.

64. Elbaz A, Rivas D, Duque G. Effect of estrogens on bone marrow adipogenesis and Sirt1 in aging C57BL/6J mice. *Biogerontology*. 2009;10:747-755.
65. Lei Z, Xiaoying Z, Xingguo L. Ovariectomy-associated changes in bone mineral density and bone marrow haematopoiesis in rats. *Int J Exp Pathol*. 2009;90:512-519.
66. Reim NS, Breig B, Stahr K, et al. Cortical bone loss in androgen-deficient aged male rats is mainly caused by increased endocortical bone remodeling. *J Bone Miner Res*. 2008;23:694-704.
67. Hamrick MW, Della Fera MA, Choi YH, et al. Injections of leptin into rat ventromedial hypothalamus increase adipocyte apoptosis in peripheral fat and in bone marrow. *Cell Tissue Res*. 2007;327:133-141.
68. Rodriguez JP, Astudillo P, Rios S, et al. Adipogenesis and osteoporosis. *Rev Med Chil*. 2009;137:827-836.
69. Astudillo P, Rios S, Pastenes L, et al. Increased adipogenesis of osteoporotic human-mesenchymal stem cells (MSCs) characterizes by impaired leptin action. *J Cell Biochem*. 2008;103:1054-1065.
70. Thompson NM, Gill DA, Davies R, et al. Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly in vivo by a mechanism independent of the type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology*. 2004;145:234-242.
71. Devlin MJ, Cloutier AM, Thomas NA, et al. Caloric restriction leads to high marrow adiposity and low bone mass in growing mice. *J Bone Miner Res*. 2010;25:2078-2088.
72. Aguiari P, Leo S, Zavan B, et al. High glucose induces adipogenic differentiation of muscle-derived stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:1226-1231.
73. Zhong ZM, Bai L, Chen JT. Advanced oxidation protein products inhibit proliferation and differentiation of rat osteoblast-like cells via NF-kappaB pathway. *Cell Physiol Biochem*. 2009;24:105-114.
74. Lee DH, Lim BS, Lee YK, et al. Effects of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) on alkaline phosphatase activity and matrix mineralization of odontoblast and osteoblast cell lines. *Cell Biol Toxicol*. 2006;22:39-46.
75. David V, Martin A, Lafage-Proust MH, et al. Mechanical loading down-regulates peroxisome proliferator-activated receptor gamma in bone marrow stromal cells and favors osteoblastogenesis at the expense of adipogenesis. *Endocrinology*. 2007;148:2553-2562.

76. Sen B, Xie Z, Case N, et al. Mechanical strain inhibits adipogenesis in mesenchymal stem cells by stimulating a durable beta-catenin signal. *Endocrinology*. 2008;149:6065-6075.
77. Di Iorgi N, Rosol M, Mittelman SD, et al. Reciprocal relation between marrow adiposity and the amount of bone in the axial and appendicular skeleton of young adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:2281-2286.
78. Zipori D. The stem state: mesenchymal plasticity as a paradigm. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2006;1:95-102.
79. Minguell JJ, Erices A, Conget P. Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med*. 2001;226:507-520.
80. Pino AM, Rios S, Astudillo P, et al. Concentration of adipogenic and proinflammatory cytokines in the bone marrow supernatant fluid of osteoporotic women. *J Bone Miner Res*. 2010;25:492-498.
81. Gimble JM, Zvonic S, Floyd ZE, et al. Playing with bone and fat. *J Cell Biochem*. 2006;98:251-266.
82. Lecka-Czernik B. Marrow fat metabolism is linked to the systemic energy metabolism. *Bone*. 2012;50:534-539.
83. Naveiras O, Nardi V, Wenzel PL, et al. Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment. *Nature*. 2009;460:259-263.
84. Omatsu Y, Sugiyama T, Kohara H, et al. The essential functions of adipogenic progenitors as the hematopoietic stem and progenitor cell niche. *Immunity*. 2010;33:387-399.
85. Allen TD, Dexter TM. *Exp Hematol*. The essential cells of the hemopoietic microenvironment. 1984;12:517-521.
86. Corre J, Planat-Benard V, Corberand JX, et al. Human bone marrow adipocytes support complete myeloid and lymphoid differentiation from human CD34 cells. *Br J Haematol*. 2004;127:344-347.
87. Charrière G, Cousin B, Arnaud E, et al. Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J Biol Chem*. 2003;278:9850-9855.
88. Rzonca SO, Suva LJ, Gaddy D, et al. Bone is a target for the antidiabetic compound rosiglitazone. *Endocrinology*. 2004;145:401-406.

89. Justesen J, Mosekilde L, Holmes M, et al. Mice deficient in 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 lack bone marrow adipocytes, but maintain normal bone formation. *Endocrinology*. 2004;145:1916-1925.
90. Kelly KA, Tanaka S, Baron R, et al. Murine bone marrow stromally derived BMS2 adipocytes support differentiation and function of osteoclast-like cells in vitro. *Endocrinology*. 1998;139:2092-2101.
91. Jiang X, Song D, Ye B, et al. Effect of intermittent administration of adiponectin on bone regeneration following mandibular osteodistraction in rabbits. *J Orthop Res*. 2011;29:1081-1085.
92. Nuttall ME, Gimble JM. Controlling the balance between osteoblastogenesis and adipogenesis and the consequent therapeutic implications. *Curr Opin Pharmacol*. 2004;4:290-294.
93. Tran MA, Dang TL, Berlan M. Effects of catecholamines on free fatty acid release from bone marrow adipose tissue. *J Lipid Res*. 1981;22:1271-1276.
94. Botolin S, Faugere MC, Malluche H, et al. Increased bone adiposity and peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma2 expression in type I diabetic mice. *Endocrinology*. 2005;146:3622-3631.
95. Shen W, Chen J, Punyanitya M, et al. MRI-measured bone marrow adipose tissue is inversely related to DXA-measured bone mineral in Caucasian women. *Osteoporos Int*. 2007;18:641-647.
96. Misra M, Klibanski A. Anorexia nervosa and osteoporosis. *Rev Endocr Metab Disord*. 2006;7:91-99.
97. Motyl KJ, Rosen CJ. Temperatures rising: brown fat and bone. *Discov Med*. 2011;11:179-185.
98. Gimble JM, Nuttall ME. Bone and fat: old questions, new insights. *Endocrine*. 2004;23:183-188.
99. Birsoy K, Chen Z, Friedman J. Transcriptional regulation of adipogenesis by KLF4. *Cell Metab*. 2008;7:339-347.
100. Liu LF, Shen WJ, Ueno M, et al. Characterization of age-related gene expression profiling in bone marrow and epididymal adipocytes. *BMC Genomics*. 2011;5;12:212.

101. Blake GM, Griffith JF, Yeung DK, et al. Effect of increasing vertebral marrow fat content on BMD measurement, T-Score status and fracture risk prediction by DXA. *Bone*. 2009;44:495-501.
102. Laharrague P, Larrouy D, Fontanilles AM, et al. High expression of leptin by human bone marrow adipocytes in primary culture. *Faseb J*. 1998;12:747-752.
103. Yeung DK, Griffith JF, Antonio GE, et al. Osteoporosis is associated with increased marrow fat content and decreased marrow fat unsaturation: a proton MR spectroscopy study. *J Magn Reson Imaging*. 2005;22:279-285.
104. Savopoulos C, Dokos C, Kaiafa G, et al. Adipogenesis and osteoblastogenesis: trans-differentiation in the pathophysiology of bone disorders. *Hippokratia*. 2011;15:18-21.
105. Minaire P, Edouard C, Arlot M, et al. Marrow changes in paraplegic patients. *Calcif Tissue Int*. 1984;36:338-340.
106. Pengde K, Fuxing P, Bin S, et al. Lovastatin inhibits adipogenesis and prevents osteonecrosis in steroid-treated rabbits. *Joint Bone Spine*. 2008;75:696-701.
107. Huang JS, Mulkern RV, Grinspoon S. Reduced intravertebral bone marrow fat in HIV-infected men. *Aids*. 2002;16:1265-1269.
108. Wehrli FW, Hopkins JA, Hwang SN, et al. Cross-sectional study of osteopenia with quantitative MR imaging and bone densitometry. *Radiology*. 2000;217:527-538.
109. Griffith JF, Yeung DK, Tsang PH, et al. Compromised bone marrow perfusion in osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 2008;23:1068-1075.
110. Moerman EJ, Teng K, Lipschitz DA, et al. Aging activates adipogenic and suppresses osteogenic programs in mesenchymal marrow stroma/stem cells: the role of PPAR-gamma2 transcription factor and TGF-beta/BMP signaling pathways. *Aging Cell*. 2004;3:379-389.
111. Lazarenko OP, Rzonca SO, Hogue WR, et al. Rosiglitazone induces decreases in bone mass and strength that are reminiscent of aged bone. *Endocrinology*. 2007;148:2669-2680.
112. Lecka-Czernik B, Suva LJ. Resolving the Two "Bony" Faces of PPAR-gamma. *PPAR Res*. 2006;2006:27489.
113. Gasparrini M, Rivas D, Elbaz A, et al. Differential expression of cytokines in subcutaneous and marrow fat of aging C57BL/6J mice. *Exp Gerontol*. 2009;44:613-618.

114. Burkhardt R, Kettner G, Bohm W, et al. Changes in trabecular bone, hematopoiesis and bone marrow vessels in aplastic anemia, primary osteoporosis, and old age: a comparative histomorphometric study. *Bone*. 1987;8:157-164.
115. Demmler K, Otte P, Bartl R, et al. Osteopenia, marrow atrophy and capillary circulation. Comparative studies of the human iliac crest and 1st lumbar vertebra. *Z Orthop Ihre Grenzgeb*. 1983;121:223-227.
116. Verma S, Rajaratnam JH, Denton J, et al. Adipocytic proportion of bone marrow is inversely related to bone formation in osteoporosis. *J Clin Pathol*. 2002;55:693-698.
117. Pei L, Tontonoz P. Fat's loss is bone's gain. *J Clin Invest*. 2004;113:805-806.
118. Rodriguez JP, Astudillo P, Rios S, et al. Involvement of adipogenic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) in osteoporosis. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2008;3:208-218.
119. Hess R, Pino AM, Rios S, et al. High affinity leptin receptors are present in human mesenchymal stem cells (MSCs) derived from control and osteoporotic donors. *J Cell Biochem*. 2005;94:50-57.
120. Bianco P, Robey P. Diseases of bone and the stromal cell lineage. *J Bone Miner Res*. 1999;14:336-341.
121. Rodriguez JP, Montecinos L, Rios S, et al. Mesenchymal stem cells from osteoporotic patients produce a type I collagen-deficient extracellular matrix favoring adipogenic differentiation. *J Cell Biochem*. 2000;79:557-565.
122. Sekiya I, Larson BL, Vuoristo JT, et al. Adipogenic differentiation of human adult stem cells from bone marrow stroma (MSCs). *J Bone Miner Res*. 2004;19:256-264.
123. Qiu W, Andersen TE, Bollerslev J, et al. Patients with high bone mass phenotype exhibit enhanced osteoblast differentiation and inhibition of adipogenesis of human mesenchymal stem cells. *J Bone Miner Res*. 2007;22:1720-1731.
124. Pino AM, Rodriguez JM, Rios S, et al. Aromatase activity of human mesenchymal stem cells is stimulated by early differentiation, vitamin D and leptin. *J Endocrinol*. 2006;191:715-725.
125. Heim M, Frank O, Kampmann G, et al. The phytoestrogen genistein enhances osteogenesis and represses adipogenic differentiation of human primary bone marrow stromal cells. *Endocrinology*. 2004;145:848-859.

126. Heine PA, Taylor JA, Iwamoto GA, et al. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:12729-12734.
127. Bredella MA. Perspective: the bone-fat connection. *Skeletal Radiol*. 2010;39:729-731.
128. Ito S, Suzuki N, Kato S, et al. Glucocorticoids induce the differentiation of a mesenchymal progenitor cell line, ROB-C26 into adipocytes and osteoblasts, but fail to induce terminal osteoblast differentiation. *Bone*. 2007;40:84-92.
129. Mayo-Smith W, Rosenthal DI, Goodsitt MM, et al. Intravertebral fat measurement with quantitative CT in patients with Cushing disease and anorexia nervosa. *Radiology*. 1989;170:835-838.
130. Duque G, Rivas D. Alendronate has an anabolic effect on bone through the differentiation of mesenchymal stem cells. *J Bone Miner Res*. 2007;22:1603-1611.
131. Fu L, Tang T, Miao Y, et al. Stimulation of osteogenic differentiation and inhibition of adipogenic differentiation in bone marrow stromal cells by alendronate via ERK and JNK activation. *Bone*. 2008;43:40-47.
132. Kulkarni NH, Wei T, Kumar A, et al. Changes in osteoblast, chondrocyte, and adipocyte lineages mediate the bone anabolic actions of PTH and small molecule GSK-3 inhibitor. *J Cell Biochem*. 2007;102:1504-1518.
133. Wood RJ. Vitamin D and adipogenesis: new molecular insights. *Nutr Rev*. 2008;66:40-46.
134. Duque G, Macoritto M, Kremer R. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> inhibits bone marrow adipogenesis in senescence accelerated mice (SAM-P/6) by decreasing the expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 (PPARgamma2). *Exp Gerontol*. 2004;39:333-338.
135. de Abreu MR, Wessely M, Chung CB, et al. Bone marrow MR imaging findings in disuse osteoporosis. *Skeletal Radiol*. 2011;40:571-575.
136. McCarthy EF. The pathology of transient regional osteoporosis. *Iowa Orthop J*. 1998;18:35-42.
137. Legroux-Gerot I, Vignau J, D'Herbomez M, et al. Evaluation of bone loss and its mechanisms in anorexia nervosa. *Calcif Tissue Int*. 2007;81:174-182.

138. Mehler PS, Cleary BS, Gaudiani JL. Osteoporosis in anorexia nervosa. *Eat Disord.* 2011;19:194-202.
139. Winston AP, Alwazeer AE, Bankart MJ. Screening for osteoporosis in anorexia nervosa: prevalence and predictors of reduced bone mineral density. *Int J Eat Disord.* 2008;41:284-287.
140. Silber TJ. Osteoporosis in anorexia nervosa. *N Engl J Med.* 1985;312:990-991.
141. Rosen CJ, Ackert-Bicknell CL, Adamo ML, et al. Congenic mice with low serum IGF-I have increased body fat, reduced bone mineral density, and an altered osteoblast differentiation program. *Bone.* 2004;35:1046-1058.
142. Ackert-Bicknell CL, Demissie S, Marin de Evsikova C, et al. PPAR $\gamma$  by dietary fat interaction influences bone mass in mice and humans. *J Bone Miner Res.* 2008;23:1398-1408.
143. Cheung RC, Gray C, Boyde A, et al. Effects of ethanol on bone cells in vitro resulting in increased resorption. *Bone.* 1995;16:143-147.
144. Suh KT, Kim SW, Roh HL, et al. Decreased osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells in alcohol-induced osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res.* 2005;431:220-225.
145. Wezeman FH, Gong Z. Adipogenic effect of alcohol on human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Alcohol Clin Exp Res.* 2004;28:1091-1101.
146. Maddalozzo GF, Turner RT, Edwards CH, et al. Alcohol alters whole body composition, inhibits bone formation, and increases bone marrow adiposity in rats. *Osteoporos Int.* 2009;20:1529-1538.
147. Ronis MJ, Mercer K, Chen JR. Effects of nutrition and alcohol consumption on bone loss. *Curr Osteoporos Rep.* 2011;9:53-59.
148. Turner RT, Rosen CJ, Iwaniec UT. Effects of alcohol on skeletal response to growth hormone in hypophysectomized rats. *Bone.* 2010;46:806-812.
149. Mankin HJ. Nontraumatic necrosis of bone (osteonecrosis). *N Engl J Med.* 1992;326:1473-1479.
150. Miyanishi K, Yamamoto T, Irisa T, et al. Bone marrow fat cell enlargement and a rise in intraosseous pressure in steroid-treated rabbits with osteonecrosis. *Bone.* 2002;30:185-190.

151. Kitajima M, Shigematsu M, Ogawa K, et al. Effects of glucocorticoid on adipocyte size in human bone marrow. *Med Mol Morphol.* 2007;40:150-156.
152. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, et al. Fat conversion of femoral marrow in glucocorticoid-treated patients: a cross-sectional and longitudinal study with magnetic resonance imaging. *Arthritis Rheum.* 1999;42:1405-1411.
153. Wang Y, Li Y, Mao K, et al. Alcohol-induced adipogenesis in bone and marrow: a possible mechanism for osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res.* 2003;410:213-224.
154. Ikemura S, Yamamoto T, Motomura G, et al. Lipid metabolism abnormalities in alcohol-treated rabbits: a morphometric and haematologic study comparing high and low alcohol doses. *Int J Exp Pathol.* 2011;92:290-295.
155. Cui Q, Wang Y, Saleh KJ, et al. Alcohol-induced adipogenesis in a cloned bone-marrow stem cell. *J Bone Joint Surg Am* 88 Suppl. 2006;3:148-154.
156. Jones JP Jr, Ramirez S, Doty SB. The pathophysiologic role of fat in dysbaric osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res.* 1993;296:256-264.
157. Penel G, Pansini V, Falgayrac G, et al. Bone and marrow fat interactions in osteonecrosis of the femoral head. *Osteoporosis International.* 2012 Soumis.
158. Kim HK, Herring JA. Pathophysiology, classifications, and natural history of perthes disease. *Orthop Clin North Am.* 2011;42:285-295.
159. Jensen OM, Lauritzen J. Legg-Calve-Perthes' disease. Morphological studies in two cases examined at necropsy. *J Bone Joint Surg Br.* 1976;58:332-338.
160. Eckerwall G, Hochbergs P, Simesen K, et al. Metaphyseal histology and magnetic resonance imaging in Legg-Calve-Perthes disease. *J Pediatr Orthop.* 1997;17:659-662.
161. Lecka-Czernik B. Bone loss in diabetes: use of antidiabetic thiazolidinediones and secondary osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep.* 2010;8:178-184.
162. de Paula FJ, Horowitz MC, Rosen CJ. Novel insights into the relationship between diabetes and osteoporosis. *Diabetes Metab Res Rev.* 2010;26:622-630.
163. Huang S, Kaw M, Harris MT, et al. Decreased osteoclastogenesis and high bone mass in mice with impaired insulin clearance due to liver-specific inactivation to CEACAM1. *Bone.* 2010;46:1138-1145.
164. Cao JJ. Effects of obesity on bone metabolism. *J Orthop Surg Res.* 2011;6:30.

165. Kyle KA, Willett TL, Baggio LL, et al. Differential effects of PPAR- $\gamma$  activation versus chemical or genetic reduction of DPP-4 activity on bone quality in mice. *Endocrinology*. 2011;152:457-467.
166. Fruhwald F, Fruhwald S, Hajek PC, et al. Focal fatty deposits in spinal bone marrow--MR findings. *MRI of focal fatty deposits. Rofo*. 1988;148:75-78.
167. Park WW, Suh KT, Kim JI, et al. Decreased osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and reduced bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis. *Eur Spine J*. 2009;18:1920-1926.
168. Rosen CJ, Klibanski A. Bone, fat, and body composition: evolving concepts in the pathogenesis of osteoporosis. *Am J Med*. 2009;122:409-414.
169. Hardouin P, Biver E, Pansini V, et al. Are marrow adipocytes involved in pathology ? *Osteoporosis international*. 2012 soumis.
170. Donohue DM, Reiff RH, Hanson ML, et al. Quantitative measurement of the erythrocytic and granulocytic cells of the marrow and blood. *J Clin Invest*. 1958;37:1571-1576.
171. Dresch C, Faille A, Poirier O, et al. The cellular composition of the granulocyte series in the normal human bone marrow according to the volume of the sample. *J Clin Pathol*. 1974;27:106-108.
172. Rivas D, Li W, Akter R, et al. Accelerated features of age-related bone loss in *zmpste24* metalloproteinase-deficient mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009;64:1015-1024.
173. Reverter JC, Feliu E, Climent C, et al. Stereological study of human bone marrow adipocytes. A comparison of four methods for estimating size distributions. *Pathol Res Pract*. 1993;189:1215-1220.
174. Takaku T, Malide D, Chen J, et al. Hematopoiesis in 3 dimensions: human and murine bone marrow architecture visualized by confocal microscopy. *Bone*. 2010;116:41-55.
175. Chappard D, Josselin N, Rougé-Maillart C, et al. Bone microarchitecture in males with corticosteroid-induced osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2007;18:487-494.
176. Tothill P, Avenell A. Errors in dual-energy X-ray absorptiometry of the lumbar spine owing to fat distribution and soft tissue thickness during weight change. *Br J Radiol*. 1994;67:71-75.

177. Goodsitt MM, Rosenthal DI. Quantitative computed tomography scanning for measurement of bone and bone marrow fat content. A comparison of single and dual energy techniques using a solid synthetic phantom. *Invest Radiol.* 1987;22:799-810.
178. Johnston CC Jr, Slemenda CW, Melton LJ 3<sup>rd</sup>. Clinical use of bone densitometry. *N Engl J Med.* 1991;324:1105-1109.
179. Kuiper JW, van Kuijk C, Grashuis JL, et al. Accuracy and the influence of marrow fat on quantitative CT and dual-energy X-ray absorptiometry measurements of the femoral neck in vitro. *Osteoporos Int.* 1996;6:25-30.
180. Mariani G, Molea N, La Civita L, et al. Scintigraphic findings on 99mTc-MDP, 99mTc-sestamibi and 99mTc-HMPAO. *Eur J Nucl Med.* 1996;23:466-470.
181. Rosenthal DI, Barton NW, McKusick KA, et al. Quantitative imaging of Gaucher disease. *Radiology.* 1992;185:841-845.
182. Vogler JB 3<sup>rd</sup>, Murphy WA. Bone marrow imaging. *Radiology.* 1988;168:679-693.
183. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, et al. Magnetic resonance imaging of the normal bone marrow. *Skeletal Radiol.* 1998;27:471-483.
184. Constable RT, Smith RC, Gore JC. Signal-to-noise and contrast in fast spin echo (FSE) and inversion recovery FSE imaging. *J Comput Assist Tomogr.* 1992;16:41-47.
185. Mirowitz SA. Fast scanning and fat-suppression MR imaging of musculoskeletal disorders. *AJR.* 1993;161:1147-1157.
186. Sebag GH, Moore SG. Effect of trabecular bone on the appearance of marrow in gradient-echo imaging of the appendicular skeleton. *Radiology.* 1990;174:855-859.
187. Blum A, Roch D, Loeuille D, et al. Bone marrow edema: definition, diagnostic value and prognostic value. *J Radiol.* 2009;90:1789-1811.
188. Levine CD, Schweitzer ME, Ehrlich SM. Pelvic marrow in adults. *Skeletal Radiol.* 1994;23:343-347.
189. Deutsch AL, Mink JH, Rosenfelt FP, et al. Incidental detection of hematopoietic hyperplasia on routine knee MR imaging. *AJR.* 1989;152:333-336.
190. Saifuddin A, Bann K, Ridgway JP, et al. Bone marrow blood supply in gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging. *Skeletal Radiol.* 1994;23:455-457.

191. Breger RK, Williams AL, Daniels DL, et al. Contrast enhancement in spinal MR imaging. *AJR*. 1989;153:387-391.
192. Dixon WT. Simple proton spectroscopic imaging. *Radiology*. 1984;153:189-194.
193. Pichardo JC, Milner RJ, Bolch WE. MRI measurement of bone marrow cellularity for radiation dosimetry. *J Nucl Med*. 2011;52:1482-1489.
194. Machann J, Stefan N, Schick F. (1)H MR spectroscopy of skeletal muscle, liver and bone marrow. *Eur J radiol*. 2008;67:275-284.
195. Govindaraju V, Young K, Maudsley AA. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed*. 2000;13:129-153.
196. Ross B, Bluml S. Magnetic resonance spectroscopy of the human brain. *Anat Rec*. 2001;265:54-84.
197. Isobe T, Matsumura A, Anno I, et al. Quantification of cerebral metabolites in glioma patients with proton MR spectroscopy using T2 relaxation time correction. *Magn Reson Imaging*. 2002;20:343-349.
198. Maas M, Hollak CE, Akkerman EM, et al. Quantification of skeletal involvement in adults with type I Gaucher's disease: fat fraction measured by Dixon quantitative chemical shift imaging as a valid parameter. *AJR Am J Roentgenol*. 2002;179:961-965
199. Falgayrac G, Cortet B, Devos O, et al. Comparison of two-dimensional fast raman imaging versus point-by-point acquisition mode for human bone characterization. *Anal Chem*. 2012 in press.
200. Griffith JF, Yeung DK, Chow SK, et al. Reproducibility of MR perfusion and (1)H spectroscopy of bone marrow. *J Magn Reson Imaging*. 2009;29:1438-1442.
201. Yeung DK, Lam SL, Griffith JF, et al. Analysis of bone marrow fatty acid composition using high-resolution proton NMR. *Spectroscopy Chem Phys Lipids*. 2008;151:103-109.
202. Hamilton G, Middleton MS, Bydder M, et al. Effect of PRESS and STEAM sequences on magnetic resonance spectroscopic liver fat quantification. *J Magn Reson Imaging*. 2009;30:145-152.
203. Schellinger D, Lin CS, Hatipoglu HG, et al. Potential value of vertebral proton MR spectroscopy in determining bone weakness. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2001;22:1620-1627.

204. Bluemke DA, Petri M, Zerhouni EA. Femoral head perfusion and composition: MR imaging and spectroscopic evaluation of patients with systemic lupus erythematosus and at risk for avascular necrosis. *Radiology*. 1995;197:433–438.
205. Hou CH, Shih TT, Liu CY, et al. Proton MR spectroscopy of the femoral head evaluation of patients at risk for avascular necrosis. *J Magn Reson Imaging* 2006;24:409–417.
206. Ren J, Dimitrov I, Sherry AD, et al. Composition of adipose tissue and marrow fat in humans by <sup>1</sup>H NMR at 7 Tesla. *J. Lipid Res*. 2008;49:2055–2062.
207. Dooms GC, Fisher MR, Hricak H, et al. Bone marrow imaging: magnetic resonance studies related to age and sex. *Radiology*. 1985;155:429–432.
208. Naressi A, Couturier C, Devos JM, et al. Java-based graphical user interface for the MRUI quantitation package. *MAGMA*. 2001;12:141–152.
209. Fleiss JL. *The design and analysis of clinical experiments*. New York, NY: Wiley 1986.
210. Griffith JF, Yeung DK, Leung JC, et al. Prediction of bone loss in elderly female subjects by MR perfusion imaging and spectroscopy. *Eur Radiol*. 2011;21:1160–1169.
211. Bredella MA, Fazelli PK, Miller KK, et al. Increased bone marrow fat content in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:2129–2136.
212. Kitajima M, Shigematsu M, Ogawa K, et al. Effects of glucocorticoid on adipocyte size in human bone marrow. *Med Morphol*. 2007;40:150–156.
213. Ricci C, Cova M, Kang YS, et al. Normal age-related patterns of cellular and fatty bone marrow distribution in the axial skeleton: MR imaging study. *Radiology*. 1990;177:83–88.
214. Moore SG, Dawson KL. Red and yellow marrow in the femur: age-related changes in appearance at MR imaging. *Radiology*. 1990;175:219–223.
215. Dawson KL, Moore SG, Rowland JM. Age-related marrow changes in the pelvis: MR and anatomic findings. *Radiology*. 1992;183:47–51.
216. Vande Berg B, Lecouvet F, Moysan P, et al. MR assessment of red marrow distribution and composition in the proximal femur: correlation with clinical and laboratory parameters. *Skeletal Radiol*. 1997;26:589–596.

217. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, et al. Magnetic resonance imaging of normal bone marrow. *Eur Radiol*. 1998;8:1327–1334.
218. Mitchell DG, Rao VM, Dalinka M, et al. Hematopoietic and fatty bone marrow distribution in the normal and ischemic hip: new observations with 1.5-T MR imaging. *Radiology*. 1986;161:199–202.
219. Li X, Kuo D, Schafer AL, et al. Quantification of vertebral bone marrow fat content using 3 Tesla MR spectroscopy: reproducibility, vertebral variation, and applications in osteoporosis. *J Magn Reson Imaging*. 2011;33:974–979.
220. Shellock FG, Morris E, Deutsch AL, et al. Hematopoietic bone marrow hyperplasia: high prevalence on MR images of the knee in asymptomatic marathon runners. *AJR Am J Roentgenol*. 1992;158:335-338.
221. Poulton TB, Murphy WD, Duerk JL, et al. Bone marrow reconversion in adults who are smokers: MR Imaging findings. *AJR Am J Roentgenol*. 1993;161:1217-1221.
222. Pansini VM, Monnet A, Salleron J, et al. Reproducibility of (1) H MR spectroscopy of hip bone marrow at 3 Tesla. *J Magn Reson Imaging*. 2012; in press. doi: 10.1002/jmri.23783.
223. Hartsock RJ, Smith EB, Petty CS. Normal variations with aging of the amount of hematopoietic tissue in bone marrow from the anterior iliac crest. A study made from 177 cases of sudden death examined by necropsy. *Am J Clin Pathol*. 1965;43:326-331.
224. Griffith JF, Yeung DK, Ma HT, et al. Bone Marrow Fat Content in the Elderly: A Reversal of Sex Difference Seen in younger subjects. *J Magn Reson Imaging*. 2012;36:225-230.
225. Koo KH, Dussault RG, Kaplan PA, et al. Fatty marrow conversion of the proximal femoral metaphysis in osteonecrotic hips. *Clin Orthop Relat Res*. 1999;361:159-167.
226. Koo KH, Dussault R, Kaplan P, et al. Age-related marrow conversion in the proximal metaphysis of the femur: evaluation with T1-weighted MR imaging. *Radiology*. 1998;206:745-748.
227. Vande Berg BC, Gilon R, Malghem J, et al. Correlation between baseline femoral neck marrow status and the development of femoral head osteonecrosis in corticosteroid-treated patients: a longitudinal study by MR imaging. *Eur J Radiol*. 2006;58:444-449.
228. Zawin JK, Jaramillo D. Conversion of bone marrow in the humerus, sternum, and clavicle: changes with age on MR images. *Radiology*. 1993;188:159-164.

229. Vande Berg BC, Lecouvet FE, Malghem J. Sex-related difference in marrow conversion in the proximal femur: does it exist? *Radiology*. 1998;209:587-588.
230. Schellinger D, Lin CS, Fertikh D, et al. Normal lumbar vertebrae: anatomic, age and sex variance in subjects at proton MR spectroscopy –initial experience. *Radiology*. 2000;215:910-916.
231. Biver E, Salliot C, Combescure C, et al. Influence of adipokines and ghrelin on bone mineral density and fracture risk: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:2703-2713.
232. Toth MJ, Tchernof A, Sites CK, et al. Menopause-related changes in body fat distribution. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;904:502-506.
233. Blouin K, Boivin A, Tchernof A. Androgens and body fat distribution. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2008;108:272-280.
234. Kabata T, Maeda T, Tanaka K, et al. Hemi-resurfacing versus total resurfacing for osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Surg*. 2011;19:177-180.
235. Tan G, Kang PD, Pei FX. Glucocorticoids affect the metabolism of bone marrow stromal cells and lead to osteonecrosis of the femoral head: a review. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125:134-139.
236. Levasseur R. Mechanisms of osteonecrosis. *Joint Bone Spine*. 2008;75:639-642.
237. Motomura G, Yamamoto T, Miyanishi K, et al. Bone marrow fat-cell enlargement in early steroid-induced osteonecrosis—a histomorphometric study of autopsy cases. *Pathol Res Pract*. 2005;200:807-811.
238. Sakamoto K, Osaki M, Hozumi A, et al. Simvastatin suppresses dexamethasone-induced secretion of plasminogen activator inhibitor-1 in human bone marrow adipocytes. *BMC Musculoskelet Disord*. 2011;12:82.
239. Lee GC, Steinberg ME. Are we evaluating osteonecrosis adequately ? *Int Orthop*. 2012 [Epub ahead of print].
240. Ficat RP. Idiopathic bone necrosis of the femoral head. Early diagnosis and treatment. *J Bone Joint Surg Br*. 1985;67:3-9.
241. Grinspoon S, Thomas E, Pitts S, et al. Prevalence and predictive factors for regional osteoporosis in women with anorexia nervosa. *Ann Intern Med*. 2000;133:790-794.

242. Cortet B, Chauveau C, Vignau J, et al. Relationship between bone and fat in anorexia nervosa. *Osteoporosis International*. 2012 soumis.
243. Vande Berg B, Malghem J, Devuyst O, et al. Anorexia nervosa: correlation between MR appearance of bone marrow and severity of disease. *Radiology*. 1994;193:859–864.
244. Geiser F, Murtz P, Lutterbey G, et al. Magnetic resonance spectroscopic and relaxo- metric determination of bone marrow changes in anorexia nervosa. *Psycho-som Med*. 2001;63:631–637.

# RÉSUMÉ

Des altérations intra-osseuses liées à l'adiposité médullaire et à ses répercussions sur l'inflammation peuvent jouer un rôle important dans la physiopathologie de certaines maladies de la moelle osseuse (MO). Ces altérations locales, actuellement mal connues, correspondent à une modification de la répartition des différents constituants du tissu osseux et impliquent des interactions entre ostéogenèse et adipogenèse. Des études récentes ont démontré que la MO jaune constitue un tissu adipeux spécifique, différent des tissus adipeux blanc ou brun. Ces études suggèrent qu'elle pourrait avoir un rôle dans la pathogénie d'un grand nombre de pathologies de la moelle osseuse, notamment à la hanche.

La spectroscopie par IRM présente l'intérêt d'évaluer, de façon quantitative et non invasive, le contenu graisseux au sein de la MO jaune, en complément des informations diagnostiques obtenues avec séquences IRM conventionnelles. Grâce aux IRM 3 T, une amélioration de la qualité spectrale avec des temps d'acquisition adaptés à la pratique clinique peut être espérée. Or, cette technique n'a quasiment pas été évaluée à la hanche et aucune évaluation de la reproductibilité ni aucunes valeurs normales n'ont été étudiées, validées et publiées à ce jour.

Le but de ce travail de recherche a donc été d'établir le rôle de la spectroscopie  $^1\text{H}$  par IRM 3 T dans l'évaluation quantitative de la moelle osseuse de la hanche.

Notre travail s'est articulé autour de trois axes, donnant lieu au développement des 3 parties de cette thèse.

**La première étude** a porté sur la mise au point de la technique spectroscopique à la hanche et sur l'évaluation de la reproductibilité de cette technique avec une machine IRM 3 Tesla, puisque cela n'avait pas été étudié.

J'ai démontré que la spectroscopie  $^1\text{H}$  par IRM à 3 Tesla est une technique fiable, permettant l'obtention de valeurs de contenu graisseux hautement reproductibles au sein de la moelle osseuse de la hanche et qu'aucune différence statistiquement significative du contenu graisseux n'existait entre les deux hanches. Ce travail a été accepté pour publication.

Sur cette base, nous avons établi, **au cours de la 2<sup>ème</sup> étude**, des valeurs de normalité du contenu graisseux du fémur proximal chez des sujets sains en tenant en compte de l'âge et du sexe de l'individu, étape indispensable pour disposer de données de référence lors de l'évaluation des conditions pathologiques affectant la moelle osseuse à la hanche. Ce travail est actuellement soumis à publication.

**La 3<sup>ème</sup> étude**, en cours, porte sur la recherche et l'identification potentielle de spectres anormaux de la moelle osseuse de la hanche chez des patients présentant une ONTF ou souffrant d'anorexie mentale. A l'heure actuelle, le recrutement de patients porteurs d'une ONTF est presque terminé et nous disposons de quelques résultats préliminaires. Quant au recrutement des patients atteints d'anorexie mentale, il est actuellement en cours.

**Mots Clés** : Spectroscopie  $^1\text{H}$  par résonance magnétique, Résonance magnétique à 3 Tesla, Adiposité médullaire, Contenu graisseux, Moelle osseuse hanche

## SUMMARY

Some bone alterations seem to be linked to medullary adiposity that could play a major role in the physiopathology of several disorders involving bone marrow. Although the mechanisms intervening between osteogenesis and adipogenesis are not completely understood, they could be responsible for modifications of bone marrow composition.

Some recent studies have demonstrated that yellow bone marrow represents a specific fat tissue, different from white or brown adipose tissues.

Moreover these studies suggested that yellow bone marrow could have a significant role in the pathogenesis of several bone marrow diseases, especially involving the hip.

MRI spectroscopy permits a quantitative non-invasive evaluation of the fat content of bone marrow, completing the diagnostic findings obtained with traditional IRM examination. 3 T MRI enables an improvement of spectra quality with relatively short acquisition time and it is adequate to clinical practice.

The value of this technique has been poorly evaluated at the hip and no reproducibility studies or no normal values have been determined or published so far.

The goal of the present research was to assess the role of  $^1\text{H}$  MR spectroscopy in the quantitative evaluation of hip bone marrow.

This aim of this research project was threefold.

**The first axis of research** was oriented to set the spectroscopic technique and to evaluate its reproducibility in the evaluation of hip bone marrow using a 3 T magnet. To the best of our knowledge this had not been assessed earlier.

We demonstrated that  $^1\text{H}$  3 T MRI spectroscopy is a reliable technique that permits to obtain highly reproducible fat content values of the hip bone marrow. Moreover we proved that no statistical significant difference existed when comparing left and right fat content values in the same individual. The results of this work have been accepted for publication.

On this basis we obtained, within the **second axis of this research project**, normal hip fat content values in healthy subjects taking into account the age and the gender. This study enables to dispose of normal reference values in order to assess pathological conditions of hip bone marrow.

**The third axis of this project** is on going. It concerns the research and the identification of possible abnormal spectra of hip bone marrow in patients affected from femoral head osteonecrosis or anorexia nervosa. At this time point, the recruitment of patients with osteonecrosis is almost over and we dispose of some preliminary results. The recruitment of patients affected from anorexia nervosa is currently in course.

**Keywords :**  $^1\text{H}$  Magnetic resonance spectroscopy, 3 Tesla magnetic resonance, Bone marrow adiposity, Fat content, Hip bone marrow

