



HAL
open science

Quantification in vivo de l'adiposité médullaire chez l'Homme par imagerie par résonance magnétique

Sammy Badr

► **To cite this version:**

Sammy Badr. Quantification in vivo de l'adiposité médullaire chez l'Homme par imagerie par résonance magnétique. Médecine humaine et pathologie. Université de Lille, 2019. Français. NNT : 2019LILUS058 . tel-03347998

HAL Id: tel-03347998

<https://theses.hal.science/tel-03347998>

Submitted on 17 Sep 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LILLE

THÈSE DE DOCTORAT

École Doctorale Biologie Santé

**Quantification *in vivo* de l'adiposité
médullaire chez l'Homme par imagerie
par résonance magnétique**

Sammy BADR

Dirigée par

Madame le Professeur Anne COTTEN

Monsieur le Professeur Jean-François BUDZIK

Jury

- | | |
|---|-------------|
| — Madame le Professeur Valérie Bousson
<i>Université Paris-7 Denis-Diderot</i> | PRÉSIDENTE |
| — Monsieur le Professeur Bruno Vande Berg
<i>Université Catholique de Louvain</i> | RAPPORTEUR |
| — Monsieur le Professeur Antoine Feydy
<i>Université de Paris-Descartes</i> | RAPPORTEUR |
| — Monsieur le Professeur Bernard Cortet
<i>Université de Lille</i> | EXAMINATEUR |

Soutenue le lundi 25 Novembre 2019

« Je connais mes limites. C'est pourquoi je vais au-delà. »

Serge Gainsbourg

Remerciements

À mes rapporteurs,

Messieurs les **Professeurs Bruno Vande Berg** et **Antoine Feydy**, qui me font un grand honneur de juger mon travail. Je vous prie de trouver ici le témoignage de ma gratitude et de mon profond respect.

À mes examinateurs,

Madame le **Professeur Valérie Bousson**, qui a accepté de participer à mon jury de thèse. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Monsieur le **Professeur Bernard Cortet**, qui me fait un grand honneur en acceptant de faire partie de mon jury de thèse. Je vous remercie pour tous les encouragements et toutes les discussions enrichissantes que vous m'avez apportés. Soyez assuré de mon profond respect.

À mes directeurs de thèse,

Madame le **Professeur Anne Cotten**, pour m'avoir accueilli dans votre service et fait confiance durant ces quatre dernières années. Je suis fier d'avoir été et d'être encore votre élève. Je vous suis très reconnaissant pour votre bienveillance, votre disponibilité et votre rigueur. Soyez assuré de mon admiration et de mon profond respect.

Monsieur le **Professeur Jean-François Budzik**, pour m'avoir épaulé et supporté pour toutes mes questions existentielles. J'admire ton efficacité, ta rigueur et ton pragmatisme, tout en sachant laisser de la place à une joie de vivre débordante. Cela a été un réel plaisir de discuter et travailler avec toi. Merci encore mille fois pour ce temps consacré et ce soutien primordial.

À mon laboratoire,

À Messieurs les **Professeurs Guillaume Penel et Christophe Chauveau**, et à toute l'équipe du laboratoire de Physiopathologie des Maladies Osseuses Inflammatoires. Je vous serai toujours reconnaissant pour cet accueil, votre gentillesse et votre appui, sur ce travail qui peut pourtant paraître bien occulte en dehors du monde de l'imagerie.

À mon comité de suivi individuel de thèse,

À Messieurs les **Professeurs Philippe Puech et Pedro Teixeira**, pour m'avoir apporté des idées intéressantes au décours de ce suivi individuel. J'ai toujours beaucoup appris avec vous. J'admire votre façon de travailler, avec un bel équilibre entre rigueur scientifique, précision et humour.

Aux rhumatologues,

À Monsieur le **Professeur Julien Paccou** et la **Docteur Isabelle Legroux**, pour votre écoute et vos conseils. J'ai toujours eu un réel plaisir à travailler avec vous.

*Au-delà des frontières, to **Dimitris Karampinos** and **Stefan Ruschke**,*

Thank you very much for your advice and support. I have really appreciated all the discussions we had, either about MRI or the differences and similarities of the german and french lifestyles. But always around a good beer!

À mes Maîtres,

*Et plus particulièrement, à Messieurs les **Professeurs Xavier Demondion** et **Jean-Pierre Pruvo**, Madame le **Professeur Nathalie Boutry** et Monsieur le **Docteur Patrick Chastanet**,*

Vous m'avez enseigné et continuez toujours à m'apprendre tant de connaissances, mais vous avez surtout réussi à me faire aimer notre métier, à l'assurer de manière consciencieuse, en étant toujours au service du patient.

À mes collègues,

À tous les seniors, chefs de clinique, assistants et internes, pour avoir assuré la prise en charge des patients lors de mes réflexions en tant qu'ermite. Merci mille fois Loïc, Kévin, Najat, Thibaut, Benoît, Sébastien, Maxime, Hugo, Jérémy, Martin, Ali, Marc-Aurèle et Stéphane !

Aux manipulateurs et à toute l'équipe du service de radiologie et imagerie musculo-squelettique,

Sans vous, rien n'aurait pu être réalisé. Vous avez été essentiels pour l'organisation des rendez-vous et le bon déroulement des acquisitions IRM.

À mes amis,

À Antonin, Anne-Sophie, Clémence, Mazen, Rares, Juliette, Benjamin, Paul, Alex', Émilie,

Vous m'avez soutenu plus que vous ne l'imaginez. Que ce soit durant le post-internat, autour d'un café ou autour d'un (un seul ?) verre, vous avez toujours su me réconforter et me faire rire lorsque je doutais. Malgré la distance pour certains, sachez que vous comptez énormément pour moi.

À Angélique,

Nos chemins se sont croisés, saupoudrés d'une pincée de folie. Je n'ai pas été d'une compagnie des plus faciles dans cette dernière ligne droite, mais tu as réussi à m'apporter le bol d'air dont j'avais besoin. Tu resteras à jamais dans mon cœur.

À Joseph et Alexandre, Léa, Marie, Mathilde, Séb', Rudolph, Noura, Carrel, Marlène,

Revenir au karaté a été l'un des meilleurs choix que j'ai pu faire dans ma vie. Que ce soit la simple reprise d'un sport, la réappropriation de valeurs qui me sont chères, ou la rencontre avec des amis uniques, je ne compte plus les bienfaits que vous avez réussi à m'apporter. Hasard ou destin, une chose est certaine, c'est que nos chemins de vie ne cesseront de se côtoyer.

À Marie, Mathilde, Alexandra,

Parce qu'il n'y a pas que le karaté dans la vie ! Vous avez une écoute incroyable et le subtile mélange de franc-parler, de folie et de naturel saura toujours me faire rire et sourire. Vous comptez énormément pour moi.

À Morgane, Aurélien, Édouard, Maëva, Marine, Camille, Clément,

Au début, je pensais que la Nouvelle-Calédonie m'avait beaucoup changé. Je me trompais. C'est avoir vécu avec des chefs aussi formidables que vous que j'ai appris beaucoup sur moi. La vie en métropole est différente et les distances plus grandes entre nous, mais on a toujours su garder cette connexion intemporelle.

**À Guillaume, Antoine, Simon, Vincent, Laura, Mariem, Mathilde, Gré-
gory et Céline,**

On se croise tous les jours ou presque. On travaille ensemble et on partage les mêmes inquiétudes —universitaires ou cliniques— mais on sait aussi s'échapper autour d'un barbecue ou à une terrasse! Merci pour tous ces moments passés ensemble, et hâte de vous retrouver pour de nouvelles échappées!

Au Caf& et à tout le LUC Karaté,

Parce qu'il n'y a pas suffisamment de place sur cette page, et que je préfère occuper le tatami ou me lancer dans un tournoi amical de fléchettes avec vous tous, merci pour tous ces moments passés ensemble!

À tous les amis que je n'ai pas mentionnés,

Je ne vous oublie pas pour autant. Mes pensées sont perdues dans l'écriture, mais la place que vous avez dans mon cœur est indélébile.

Et plus qu'évidemment,

À mes Parents, Thomas et Raphaël,

À ma famille,

Vous avez toujours cru en moi et avez su m'encourager pour avancer dans ma vie. Chacune de nos retrouvailles se fait à l'autre bout du monde, avec des aventures toujours des plus improbables. Vous me manquez tous les jours. Je vous aime.

RÉSUMÉ

L'adiposité médullaire (AdMéd) est un tissu largement sous-estimé, remplissant pourtant un rôle dans l'homéostasie osseuse et la résistance mécanique de l'os. À ce jour, seule l'imagerie par résonance magnétique (IRM) a la capacité d'explorer de manière satisfaisante ce tissu *in vivo* et de façon non-invasive. Cette thèse a pour objectif triple d'*éclaircir* ces modalités, d'*illustrer* l'intérêt d'une telle quantification et enfin, de *favoriser* son évaluation quantitative en routine.

Le premier axe de ce travail est basé sur la *revue* de deux séquences fondamentales pour l'exploration de l'AdMéd : la spectroscopie protonique monovoxel par IRM et l'imagerie eau-graisse par déplacement chimique. L'utilisation de ces techniques est cependant limitée par les propriétés magnétiques différentielles entre molécules d'eau et lipides, les multiples interfaces entre os trabéculaire et os spongieux, affectant la précision des mesures. Ce travail a fait l'objet d'une collaboration avec le groupe de travail méthodologique de l'*International Bone Marrow Adiposity Society*.

Pour *illustrer* le deuxième axe, une pathologie affectant différents secteurs graisseux de l'organisme a été choisie : l'anorexie mentale. La déplétion drastique des tissus adipeux périphériques contraste avec une expansion de l'AdMéd. À travers une étude cas-témoins, les caractéristiques spectrales à la hanche de patientes ayant un indice de masse corporelle abaissé ($< 17.5 \text{ kg/m}^2$) ou normal ont pu être comparées à des volontaires. Alors qu'aucune différence de profil lipidique n'a été retrouvée entre ces sous-groupes, le col fémoral s'est distingué par une fraction graisseuse médullaire significativement plus élevée et un degré apparent d'insaturation lipidique plus faible chez les patientes anorexiques par rapport aux témoins. Ces anomalies résiduelles dans la composition osseuse pourraient potentiellement participer aux complications squelettiques à long terme, malgré la récupération d'un poids normal. Ce travail a été accepté pour publication.

Enfin, afin de *démocratiser* la quantification de l'AdMéd en routine, l'imagerie de déplacement chimique apparaît comme une solution pertinente. Pour favoriser son intérêt potentiel en application clinique, une nouvelle étude cas-témoins réalisée chez des femmes ménopausées a été initiée. L'évaluation des caractéristiques de l'AdMéd de patientes ayant une fracture ostéoporotique récente pourrait permettre d'apporter des éléments nouveaux dans l'estimation du risque fracturaire après la ménopause. Le recrutement des patientes est actuellement en cours et nous disposons de quelques résultats préliminaires.

À travers ces 3 axes, cette thèse appuie l'intérêt d'une quantification précise de l'AdMéd. À l'avenir, une évaluation multifactorielle incluant les données de composition minérale et lipidique pourrait favoriser une expertise précise de la santé osseuse et du risque fracturaire, en particulier chez les patientes anorexiques et/ou ostéoporotiques.

SUMMARY

Bone marrow adiposity (BMA) is an underestimated tissue playing a key role in bone homeostasis. To date, only magnetic resonance imaging (MRI) is able to explore adequately and non-invasively this tissue *in vivo*. This work aims to *clarify* the main biases to take into account, to *illustrate* the value of BMA quantification to understand pathophysiological mechanisms, and finally, to *promote* its use for clinical purposes.

The first axis of this work relies on a *review* of two fundamental methods to explore BMA : proton magnetic resonance spectroscopy, and chemical shift encoding-based water-fat imaging. The use of these techniques is constrained by the differential magnetic properties of water and lipids, as well as the multiple interfaces between trabeculae and bone marrow, fostering local magnetic inhomogeneities and reducing the accuracy of BMA quantification. Clarifications on the major technical biases to consider have been incorporated in a white paper written in collaboration with the Methodology Workgroup of the *International Bone Marrow Adiposity Society*.

The second part of this work was based on the *exploration* of a paradoxical disease, anorexia nervosa, which affects multiple fat compartments. As a matter of fact, the drastic depletion of peripheral adipose tissues contrasts with BMA expansion in anorexic patients. Through a case-control study, the spectral characteristics of BMA at the hip of underweight (body mass index $< 17.5 \text{ kg/m}^2$) and weight-recovered anorexic women have been compared to healthy volunteers. While no difference in the spectral BMA profile was observed between anorexic patients, bone marrow fat fraction was significantly higher and the apparent lipid unsaturation levels lower in patients compared to controls. Persistence of an abnormal BMA may take part in the increased fracture risk in anorexic patients, even after weight recovery. This work has been accepted for publication.

Finally, although spectroscopic methods are the gold-standard for BMA quantification, its *promotion* in routine requires a simplification of its exploration. Chemical shift encoding-based water-fat imaging appears to be a pertinent alternative approach. To illustrate its use for clinical purposes, a new case-control study, performed on postmenopausal women, has been initiated. Comparisons of BMA characteristics between women with a recent osteoporotic fracture and age-matched controls would provide new diagnostic elements for the evaluation of the fracture risk in postmenopausal osteoporosis. This is an on-going project, with preliminary results.

The 3 axes of this research project highlight the clinical potential of BMA quantification. In the future, a multifactorial evaluation of bone, integrating data from the mineral and organic compartments, would promote accurate expertise of bone health and a better estimate of the fracture risk, especially in women with anorexia nervosa or postmenopausal osteoporosis.

Table des matières

Rationnel	1
Pourquoi s'intéresser à l'imagerie de l'adiposité médullaire?	1
Point sémantique	2
Objectifs	2
Introduction	4
Photographie instantanée du contenu osseux	4
La lignée adipocytaire : témoin actif de l'équilibre cellulaire osseux	5
De la physiologie à la pathologie ou de l'importance de l'imagerie	7
1 Comprendre : IRM, quantification et adiposité médullaire	9
1.1 Généralités en imagerie par résonance magnétique	9
1.2 Considérations techniques	18
1.3 Reproductibilité et challenges actuels	21
2 Explorer : adiposité médullaire et anorexie mentale	23
2.1 Introduction	23
2.2 Matériels et Méthodes	25
2.3 Résultats	28
2.4 Discussion	40
2.5 Conclusion	45
3 Promouvoir : vers un nouveau biomarqueur en imagerie?	46
3.1 Communication et standardisation	46
3.2 Initiation de l'étude ADIMOS	48
4 Ouverture : quid de la tomодensitométrie?	58
4.1 Tomодensitométrie par simple énergie	58
4.2 Tomодensitométrie par double énergie	59
Conclusion	60
Annexes	70
Article "Imaging Bone Marrow Adiposity"	70
Article "Bone marrow adiposity and Anorexia nervosa"	112
Curriculum vitae	151

Table des figures

1.1	Comprendre - Moelle "jaune", moelle "rouge", et pondération T_1	11
1.2	Comprendre - Intensité du signal en T_1 et moelle osseuse	12
1.3	Comprendre - Principe d'une acquisition de type Dixon	13
1.4	Comprendre - Cartographie de BMFF générée par QCSI	14
1.5	Comprendre - Spectre de l'adiposité médullaire au sein d'une vertèbre	15
1.6	Comprendre - Perfusion et adiposité médullaire	17
1.7	Comprendre - ^1H -MRS multi-TE, BMFF et PDFF	20
2.1	Étude AMOS - Positionnement des volumes d'intérêt (VOI)	27
2.2	Étude AMOS - Spectres IRM	32
2.3	Étude AMOS - BMFF et aLUL à la hanche	34
2.4	Étude AMOS - Corrélation entre BMFF et aLUL	38
2.5	Étude AMOS - Corrélations au col fémoral	40
3.1	Étude ADIMOS - Positionnement des ROI	52
3.2	Étude ADIMOS - Corrélation entre spectroscopie et mDixon-Quant	54
3.3	Étude ADIMOS - PDFF moyenne au rachis lombaire	56

Liste des tableaux

2.1	Étude AMOS - Caractéristiques démographiques	30
2.2	Étude AMOS - BMFF et aLUL	31
2.3	Étude AMOS - Corrélations (toutes patientes confondues)	35
2.4	Étude AMOS - Corrélations (patientes anorexiques en sous-poids) . .	36
2.5	Étude AMOS - Corrélations (patientes ayant récupéré un poids normal)	37
3.1	Étude ADIMOS - Paramètres des séquences	51
3.2	Étude ADIMOS - Caractéristiques démographiques	55

Abréviations

¹H-MRS	Spectroscopie monovoxel protonique (¹H) par R ésonance M agnétique
ADC	A pparent D iffusion C oefficient
ADIMOS	A Diposité M édullaire et O Stéoporose
aLUL	apparent L ipid U nsaturation L evel
AdMéd	A diposité M édullaire
AN	A Norexie mentale
BMAS	(International) B one M arrow A diposity S ociety
BMFF	B one M arrow F at F raction
cMAT	constitutive M arrow A dipose T issue
DCE-MRI	D ynamic C ontrast- E nhanced M agnetic R esonance I maging
DEXA	D ual- E nergy X -ray A bsorptiometry
DMO	D ensité M inérale O sseuse
fat-sat	f at- s aturation
FOV	F ield O f V iew
FWHM	F ull W idth at H alf M aximum
HbA1c	H émoglobine glyquée A 1c
keV	kilo e lectron V olt
IMC	Indice de M asse C orporelle (en <i>kg/m²</i>)
IRM	I magerie par R ésonance M agnétique
ppm	p arts p ar m illion
PRESS	P oint R ESolved S pectroscopy
QCSI	Q uantitative C hemical S hift I maging
rMAT	regulated M arrow A dipose T issue
ROI	R egion O f I nterest
STEAM	S Timulated E cho A cquisition M ode
T	T esla
T1w	T 1-weighted
T2w	T 2-weighted
TE	T emps d' E cho
TR	T emps de R épétition
UH	U nité H ounsfield
VFA	V ertebral F racture A ssessment
VOI	V olume O f I nterest

Je dédie cette Thèse à Papa, Maman, Thomas et Raphaël, qui malgré la distance, ont toujours su m'apporter soutien et amour.

Rationnel

Pourquoi s'intéresser à l'adiposité médullaire ?

L'os est un espace clos inextensible à l'état physiologique. Son contenu peut schématiquement être représenté par 3 secteurs : un compartiment hématopoïétique, un compartiment minéral et un compartiment mésenchymateux principalement composé d'adipocytes médullaires. La fonction de ce dernier secteur a longtemps été sous-estimée, simplement relégué au rang de tissu de remplissage. Pourtant, son rôle actif dans le métabolisme osseux a été démontré durant ces dernières décennies, avec des implications cliniques potentielles [1]. En effet, les ostéoblastes et adipocytes médullaires partagent un précurseur cellulaire commun proche, la cellule souche mésenchymateuse musculosquelettique [2]. Différentes molécules —hormones, médicaments— peuvent influencer le devenir de cette cellule progénitrice [3, 4]. Une accumulation de graisse médullaire peut par conséquent être responsable d'une diminution potentielle de la résistance de l'os aux contraintes biomécaniques [5]. Cette fragilisation osseuse pourrait faire partie d'un des multiples processus physiopathologiques impliqués dans la survenue de l'ostéoporose [6].

La majorité des travaux scientifiques s'intéressant à l'adiposité médullaire (**AdMéd**) se concentre sur l'étude des mécanismes moléculaires biologiques participant à l'équilibre entre adipocytes et les autres lignes cellulaires médullaires, que ce soit dans un contexte physiologique ou pathologique. Le développement ou l'application de techniques d'imagerie *in vivo* chez l'humain sont cependant peu représentés. En effet, l'**AdMéd** n'est actuellement évaluée que subjectivement en imagerie médicale. À partir des images acquises, seules l'intensité et la texture sont analysées en routine, et ce, de manière uniquement qualitative. Ce type d'étude permet néanmoins d'identifier les lésions de "remplacement médullaire" qui se substituent aux cellules normales, et notamment aux adipocytes. À l'ère de l'imagerie quantitative, il est cependant nécessaire d'aller au-delà d'une simple estimation du niveau de gris en imagerie en coupe, sans mètre-étalon, pour évaluer l'**AdMéd**. La décomposition et la compréhension d'un signal mesuré provenant de la moelle osseuse et acquis par imagerie par résonance magnétique (IRM) permettrait d'être plus pertinent, en particulier pour la prise en charge ou le suivi d'une pathologie affectant le squelette.

Une exploration plus fine de l'**AdMéd**, par l'obtention de paramètres quantitatifs plus objectifs, aurait ainsi un intérêt double :

- *Qualitatif*, par la détermination de son profil lipidique, afin de discriminer un compartiment adipeux de composition anormale d'une simple variation de volume.
- *Quantitatif*, par la détermination de la fraction en graisse, en dépistant indirectement et précocement un déséquilibre entre les différentes populations cellulaires médullaires. Une perturbation de la proportion entre ces différents secteurs peut en effet suggérer un remodelage osseux pathologique, l'apparition d'un 4^{ème} secteur ou une activité hématopoïétique anormale.

Point sémantique

Bien que les adipocytes médullaires soient les éléments qui seraient idéalement précisément évalués, le terme d'adiposité médullaire (**AdMéd**) est celui utilisé dans ce manuscrit. Cette ambiguïté est secondaire à une limite de résolution spatiale et en contraste atteinte par les 2 principales modalités utilisables chez l'Homme : la tomodensitométrie et l'IRM. Le signal mesuré par ces techniques permet en effet de détecter la présence de graisses (lipides) mais ne permet pas de préjuger de leur topographie intra- ou extracellulaire ou de leur origine spécifiquement adipocytaire. Cependant, les adipocytes médullaires ayant pour fonction principale le stockage et la gestion énergétique, l'utilisation de la locution **AdMéd** apparaît par conséquent être le meilleur compromis pour décrire ce compartiment par les modalités précitées.

Objectifs

Le travail de cette thèse s'est déroulé en 3 phases pour atteindre différents objectifs complémentaires : *comprendre*, *explorer*, et *promouvoir* l'évaluation de l'**AdMéd** chez l'Homme par des techniques d'imagerie médicale actuellement disponibles.

Comprendre : IRM, quantification et adiposité médullaire

Une grande disparité technique et méthodologique existe parmi les différentes études cliniques quantifiant l'**AdMéd** chez l'Homme. À défaut de *gold-standard* clairement établi, il est nécessaire de connaître les biais et facteurs de confusion possibles entre les différentes méthodes disponibles actuellement pour quantifier l'**AdMéd**.

Explorer : quantification de l'AdMéd et anorexie mentale

L'anorexie mentale est une pathologie complexe ayant une répercussion paradoxale sur les différents secteurs adipeux. En effet, alors qu'il existe une diminution drastique des compartiments graisseux périphériques, une augmentation de l'**AdMéd** a été montrée au rachis et à la hanche de patientes anorexiques [7]. Par ailleurs, il existe une augmentation du risque fracturaire à la hanche dans cette population de patientes, et ce, pouvant persister plusieurs années après rémission [8]. Une hypothèse serait la

persistance d'anomalies du profil lipidique médullaire chez les patientes anorexiques ayant récupéré un indice de masse corporelle (IMC) normal.

Promouvoir : vers un nouveau biomarqueur en imagerie ?

Parmi les différentes techniques qui auront été revues dans la 1^{ère} partie de ce manuscrit, l'IRM et les séquences en écho de gradient multi-écho apparaissent les plus adéquates pour obtenir en routine clinique une cartographie quantitative de l'**AdMéd**, d'autant que certains constructeurs proposent des solutions commerciales qui, bien qu'initialement développées pour d'autres organes, se révèlent être pertinentes pour l'évaluation de l'**AdMéd**. Ces éléments techniques et l'intérêt potentiel de l'exploration en routine radiologique de l'**AdMéd** sont cependant méconnus par les cliniciens, s'agissant d'un sujet hyperspécialisé majoritairement maîtrisé par des biologistes. Une importante partie de mon travail de thèse a ainsi consisté à établir un pont entre les sciences fondamentales, les cliniciens et l'imagerie médicale. Pour cela, j'ai contribué d'une part à différents travaux organisés par la *Société Internationale sur l'Adiposité Médullaire (International BMAS - Bone Marrow Adiposity Society)*, et d'autre part participé à la mise en place d'une étude employant ce type d'outil afin de l'intégrer potentiellement dans l'évaluation de la fragilité osseuse chez des femmes ménopausées.

Introduction

Photographie instantanée du contenu osseux

Vue macroscopique

L'architecture osseuse peut schématiquement être représentée par 2 types d'organisation microarchitecturale : l'os dit *compact* (ou *cortical*), et l'os *trabéculaire* (ou *spongieux*).

L'os *compact* est majoritaire dans l'organisme, pouvant représenter jusqu'à 80% du poids du squelette humain [9]. Son unité fonctionnelle élémentaire est l'ostéon, de structure globalement cylindrique. Il est composé d'une matrice osseuse disposée de façon concentrique autour d'un canal central, dit de Havers. Les ostéocytes et ostéoblastes participent à la formation de cette matrice, dont la solidité détermine la résistance mécanique de l'os.

L'os *trabéculaire* apparaît au contraire doté d'un réseau poreux, laissant place à un tissu cellulaire vascularisé. Bien qu'il ne représente qu'approximativement 20% du poids du squelette, sa surface est 10 fois plus élevée que celle de l'os compact [9]. Trois compartiments cellulaires s'entrecroisent au sein des trabéculations osseuses et de la matrice extracellulaire, formant ainsi la moelle osseuse : les lignées hématopoïétiques —lymphoïdes et myéloïdes—, osseuses —ostéocytes, ostéoclastes et ostéoblastes— et adipocytaires médullaires.

Dans l'espace clos qu'est l'os, l'équilibre entre ces différents secteurs est primordial. D'un point de vue macroscopique, la moelle osseuse peut se distinguer en moelle *rouge*, où la proportion de cellules hématopoïétiques est prédominante, et moelle *jaune*, où siègent principalement des adipocytes médullaires. Au sein du squelette, la répartition de ces 2 sous-types macroscopiques est dynamique et fonction de l'âge. En effet, à la naissance, le squelette est presque exclusivement composé de moelle rouge. Une conversion physiologique va survenir dans un second temps tout au long de la croissance, pour laisser place à de la moelle jaune. Celle-ci débute par les apophyses et épiphyses des os longs, avant de concerner successivement la diaphyse, la métaphyse distale puis la métaphyse proximale. Le squelette axial sera la dernière partie à réaliser cette conversion.

Vue microscopique

Les différences entre moelle “rouge” et moelle “jaune” sont bien plus complexes qu’une simple distinction de proportion et d’aspect macroscopique. E. Scheller et *al.* ont décrit plus précisément les caractéristiques propres à ces deux sous-populations cellulaires, à partir de modèles murins [10].

La moelle “jaune” a été plus renommée par cette équipe “tissu adipeux médullaire constitutif” (cMAT, pour *constitutive Marrow Adipose Tissue*). En effet, celui-ci est peu sensible aux variations environnementales (comme l’exposition au froid). Cette sous-population se développe après la naissance et se situe principalement aux extrémités du squelette. Sur le plan microscopique, les adipocytes médullaires constitutifs murins se caractérisent par une taille relativement grande (38-39 μm) et comprennent un taux plus élevé d’acides gras insaturés [10].

À l’inverse, la moelle “rouge” est plus labile, avec une importance pouvant varier selon les conditions externes, d’où l’appellation “tissu adipeux médullaire régulé” par E. Scheller et *al.* (rMAT, pour *regulated Marrow Adipose Tissue*). Ces adipocytes sont plus petits en taille (31-33 μm chez le rat) et plus riches en acides gras saturés. Le profil génétique murin diffère également, ce sous-type n’exprimant pas de manière sélective *Cebpa* et *Cebpb*, contrairement au cMAT [10].

Comparativement aux autres tissus adipeux périphériques, des similitudes avec la graisse brune ont été retrouvées, notamment en raison de la sensibilité à la température [10]. Cependant, les adipocytes médullaires n’ont pas de capacité thermogénique, et les caractérisations génétiques sont plutôt en faveur d’une lignée hybride, située entre la graisse blanche et la graisse brune, proche du concept de graisse “beige” compte tenu des caractéristiques biologiques mixtes [10, 11, 12].

L’ensemble de ces données de la littérature soulignent la complexité du tissu adipeux existant au sein de la moelle osseuse, et de l’approximation grossière apparente lors de l’utilisation du terme “**AdMéd**”. Ce terme est en effet retenu pour ce manuscrit car la distinction des sous-types cellulaires n’est pas réalisable de manière fiable *in vivo*. Il est possible de s’y approcher soit par une analyse morphologique qualitative en prenant en compte la topographie, l’âge et le signal. Cependant, une caractérisation fiable, excluant également le signal graisseux extracellulaire, n’est cependant pas réalisable à ce jour.

La lignée adipocytaire : témoin actif de l’équilibre osseux

Adipocytes, cellules hématopoïétiques et osseuses : un trio intime

Les variations d’importance de l’**AdMéd** observées dans des pathologies telles que le diabète, l’ostéoporose, et surtout l’anorexie mentale, connues également pour être associées à une détérioration de la résistance osseuse, ont attisé la curiosité de plusieurs équipes de recherche. Si la relation de causalité ne peut être affirmée par cette simple

association, ses fluctuations en réponse à des modulateurs du métabolisme osseux, comme les bisphosphonates, sont intéressantes et suggèrent qu'elle puisse constituer une cible thérapeutique [1].

Les études fondamentales en Biologie Cellulaire ont mis en exergue une cellule précurseur entre ostéoblastes et adipocytes médullaires : la cellule mésenchymateuse musculosquelettique [9]. Un équilibre permanent existe entre ces deux lignées cellulaires afin de modeler l'os en accordant ses composantes minérales et non-minérales. Cette relation se fait par l'intermédiaire de différents facteurs moléculaires —hormones et cytokines—, mais elle est également sensible à des molécules extérieures, comme la rosiglitazone [2, 3]. En cas de maladie métabolique ou comprenant une atteinte osseuse, la proportion physiologique entre adiposité médullaire, cellules hématopoïétiques et ostéogéniques est ainsi perturbée.

Au-delà de cette relation privilégiée avec les cellules osseuses, les adipocytes médullaires apportent l'énergie essentielle à des processus cellulaires exigeants tels que l'hématopoïèse, la formation osseuse ou des phénomènes de prolifération cellulaire (maladies de surcharge, tumeurs osseuses et hématopoïétiques), par le biais de la libération d'acides gras. Enfin, le tissu adipeux médullaire possède des propriétés sécrétrices, avec la production notamment d'adiponectine, et de facteurs tels l'IL-6 et le RANK ligand, ayant un rôle dans le métabolisme osseux ou systémique [1, 10].

Influences physiologiques

Ces relations complexes peuvent être influencées par de nombreux facteurs, notamment hormonaux, que ce soit dans un contexte physiologique ou pathologique.

Influence de l'âge et du sexe Au-delà de la conversion physiologique de moelle "rouge" en moelle "jaune" décrite précédemment, traduisant l'expansion adipeuse au sein de la moelle osseuse durant la croissance, l'**AdMéd** continue d'évoluer avec l'âge, passant d'approximativement 20–30% en proportion au rachis chez l'adulte jeune à plus de 50% au-delà de 60 ans [13]. Cette augmentation serait progressive, de l'ordre de 7% par décennie [14]. Chez l'adulte, l'**AdMéd** subit également des différences selon le sexe. En effet, alors qu'elle est plus importante chez l'homme que chez la femme entre 20 et 50 ans, la courbe d'évolution s'inverse par la suite, avec une accélération marquée du contenu adipeux pouvant atteindre plus de 70% du volume médullaire [1].

Influence hormonale La ménopause est la période la plus représentative de l'influence hormonale sur le tissu adipeux médullaire. Dans la continuité du paragraphe précédent, l'accélération marquée de l'importance quantitative de l'**AdMéd** chez la femme après 50 ans coïncide avec la survenue de la ménopause. Si la simple association n'est pas suffisante pour prouver une causalité, il est intéressant de noter qu'une supplémentation en œstrogènes permet de réduire la fraction en graisse médullaire

vertébrale [4]. Cette période étant également associée à une réduction de la masse osseuse, il apparaît licite d’explorer son rôle potentiel dans la fragilisation osseuse survenant dans l’ostéoporose post-ménopausique.

Influence de l’équilibre énergétique Comme tout tissu adipeux, la graisse médullaire est également sensible aux déséquilibres énergétiques, qu’il s’agisse des apports ou des dépenses caloriques. En effet, lors d’un déficit d’apport énergétique dans un contexte pathologique —secondaire à une anorexie mentale ou certaines chirurgies bariatriques comme la *sleeve gastrectomy*—, une augmentation de l’**AdMéd** a été rapportée [7, 15]. Cependant, l’**AdMéd** ne semble pas varier de manière significative lors d’un régime hypocalorique chez les femmes obèses [16], ou dans les suites de *by-pass* gastrique sauf en cas de diabète associé [17, 1]. Quant à la réalisation d’un exercice physique régulier, celle-ci favorise la diminution de l’**AdMéd** aux membres inférieurs, que ce soit chez l’enfant ou l’adulte [18]. À l’inverse, l’alitement prolongé augmente l’accumulation adipocytaire au sein de la moelle osseuse, avec des répercussions potentielles au long cours sur l’hématopoïèse, et des taux anormalement bas d’érythropoïétine circulante malgré un retour à une activité physique normale [19].

Importance de l’imagerie et intérêt en pathologie

Un déséquilibre de l’**AdMéd** pourrait ainsi refléter des perturbations plus profondes du métabolisme osseux ou des autres lignées cellulaires présentes au sein de l’os, qu’il s’agisse des populations ostéoblastiques, hématopoïétiques voire tumorales. L’intérêt scientifique rapidement croissant porté pour ce sujet ces dernières années, avec 362 publications référencées dans *PubMed* en 2018 contre 21 en 2000¹, confirme l’importance de développer de nouveaux outils pour mieux observer *in vivo* les variations que l’**AdMéd** pourraient subir, et dans quelles conditions pathologiques elles apparaîtraient.

Balbutiements en imagerie

Alors que les techniques histologiques, histomorphométriques et microtomodensitométriques *ex vivo* fournissent de nombreuses informations sur la microarchitecture osseuse et permettent des quantifications précises et spécifiques des tissus, les outils non invasifs d’imagerie *in vivo* sont essentiels lorsque des études cliniques sont envisagées. Ils permettraient d’obtenir des informations longitudinales, et ainsi mieux comprendre les mécanismes pathologiques qui peuvent affecter l’**AdMéd** in situ.

À ce jour, l’IRM est considérée comme la modalité de référence afin d’explorer *in vivo* l’**AdMéd**, notamment par les techniques de spectroscopie IRM ou d’imagerie de déplacement chimique [20, 21]. Ce puissant outil a été utilisé chez l’animal, pour

1. Recherche réalisée sur *PubMed* avec les mots-clés : “(bone) AND (marrow adipos*)”

explorer par exemple les effets d'un traitement par acide zolédronique sur l'adipogénèse médullaire chez des rats ovariectomisés [22], ou pour quantifier la diminution du volume d'**AdMéd** chez la souris obèse réalisant un exercice physique [23]. Cependant, de multiples interfaces entre l'os trabéculaire et la moelle osseuse favorisent des inhomogénéités magnétiques locales et limitent la précision et la reproductibilité d'une évaluation quantitative fiable de l'**AdMéd**. Ces considérations ne sont qu'inconstamment prises en compte dans la littérature, limitant ainsi la comparabilité des études voire la pertinence de certains travaux.

Quelles pathologies potentiellement intéressantes ?

Au cours du vieillissement, l'os cortical s'amincit principalement par résorption endostée, ce qui conduit à une instabilité corticale [24, 25]. De ce fait, la surface médullaire augmente. La microarchitecture trabéculaire diminuant également physiologiquement avec l'âge, l'importance de la moelle "jaune" au sein de l'os apparaît majorée [26].

Par ailleurs, une quantification de l'**AdMéd** pour estimer plus précisément la qualité osseuse dans des pathologies tels que l'ostéoporose post-ménopausique, les fractures par insuffisance osseuse, les perturbations métaboliques, le diabète ou les états de dénutrition comme l'anorexie mentale ou au contraire l'obésité, a un intérêt largement rapporté [27]. Quantifier l'**AdMéd** pourrait en effet permettre d'affiner les scores d'évaluation de la fragilité osseuse, compte tenu de sa participation à la résistance mécanique osseuse, montrée à l'étage vertébral [5].

D'autres applications potentielles ont également été évoquées, notamment dans le suivi carcinologique. Par exemple, dans les dernières recommandations en imagerie du groupe international sur le myélome (IMWG, *International Myeloma WorkGroup*), les auteurs incitent à la réalisation de séquences permettant une cartographie de la fraction en graisse médullaire, afin de permettre de suivre l'involution graisseuse lésionnelle en cas de réponse thérapeutique favorable [28]. De manière similaire, des séquences de quantification de l'**AdMéd** ont été proposées pour le suivi de maladies de surcharge, telle la maladie de Gaucher [29], ou le suivi carcinologique dans les suites d'une radio- ou chimiothérapie [30].

Devant la grande disparité méthodologique en IRM et les nombreuses applications potentielles, il est crucial d'améliorer et de standardiser les acquisitions en délimitant les principaux biais techniques à corriger. Le premier chapitre de cette thèse a ainsi eu pour objectif de faire une revue de la littérature, afin d'éclaircir et *comprendre* les points techniques pertinents. Le deuxième chapitre vise à *explorer* l'**AdMéd** dans l'une des pathologies les plus emblématiques de ce sujet : l'anorexie mentale. Enfin, le dernier chapitre regroupe les éléments qui m'ont permis de communiquer, "*promouvoir*", sur l'exploration de l'**AdMéd** *in vivo*, parmi les biologistes et les cliniciens.

Chapitre 1

Comprendre : IRM, quantification et adiposité médullaire

*Ce chapitre a fait l'objet d'une soumission dans sa version anglaise à une revue internationale à destinée de cliniciens et chercheurs n'ayant aucune expérience en imagerie. Une large partie de ce texte est par conséquent volontairement vulgarisé afin de faciliter la compréhension des tenants et aboutissants de l'imagerie *in vivo* de l'AdMéd.*

1.1 Généralités en imagerie par résonance magnétique

Qu'est-ce que l'imagerie par résonance magnétique ?

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) exploite les caractéristiques et propriétés magnétiques des molécules afin d'acquérir un signal suffisamment contrasté pour distinguer plusieurs tissus. S'agissant d'une technique non irradiante, elle est particulièrement adaptée à l'exploration *in vivo* chez l'Homme, d'autant qu'aucun effet néfaste n'a été rapporté lorsque les consignes de sécurité sont suivies.

Cet outil utilise un aimant puissant générant un champ magnétique élevé en son centre, appelé B_0 et exprimé en Tesla (T). Les IRM cliniques sont essentiellement à ce jour à 1.5 ou 3 T, alors que les aimants 7 T sont principalement détenus par des unités de recherche. Lorsqu'un patient est installé au sein de l'aimant, le moment magnétique du noyau atomique du sujet s'aligne parallèlement à B_0 , atteignant ainsi un état de faible énergie. Cependant, par l'intermédiaire d'une onde de radiofréquence spécifique, il est possible de transmettre de l'énergie à un noyau atomique donné. Cet état d'excitation est suivi d'une phase de relaxation durant laquelle le moment magnétique nucléaire oscille jusqu'à retourner à son état de base. Ce phénomène est appelé *résonance*.

Les IRM à destinée clinique sont conçues pour exciter sélectivement le noyau d'hydrogène (proton). Ce dernier est en effet l'atome le plus représenté au sein de l'organisme, présent dans les molécules d'eau et de graisse des tissus biologiques. L'énergie libérée par ces protons lors du phénomène de *résonance* génère un signal mesurable par une antenne réceptrice. Une décomposition du signal mesuré, appelé *écho*, peut être modélisée selon deux axes orthogonaux : une composante longitudinale parallèle à B_0 , M_y , et une composante transversale, M_x . Lors de la phase de relaxation, une décroissance transversale est observée pendant la récupération de la composante longitudinale du moment magnétique. Deux constantes de temps, T_1 et T_2 , permettent de décrire et caractériser ce phénomène de relaxation dans leurs composantes longitudinale et transversale respectivement. Ces constantes de temps sont étroitement corrélées aux propriétés tissulaires, et correspondent à la composition tissulaire (T_1) et aux inhomogénéités locales observées à l'échelle microscopique (T_2).

Au final, le signal mesuré est la résultante d'une subtile combinaison de la densité protonique, des caractéristiques matérielles et des paramètres d'acquisition. Un traitement mathématique complexe du signal transpose ce signal observé en une image. Ainsi, parce que les paramètres d'acquisition modifient profondément le contraste de l'image et les informations qu'elle fournit, l'IRM est une boîte noire comprenant un large panel de possibilités. Utilisée en routine radiologique principalement pour une évaluation morphologique des tissus, le versant quantitatif de l'IRM reste cependant faiblement développé en pratique courante.

Quelles séquences utiliser pour quantifier l'adiposité médullaire ?

Chaque séquence de résonance magnétique est un compromis entre durée d'acquisition, résolution spatiale, résolution en contraste et couverture anatomique. Le type de séquence et ses paramètres, le champ magnétique et les algorithmes de post-traitement influencent la qualité de l'image obtenue et sont à équilibrer lors de la mise en place d'un protocole d'exploration en IRM.

L'IRM a par ailleurs plusieurs limitations techniques. L'utilisation d'un champ magnétique élevé (3 T et au-delà) est de plus en plus fréquente. Cette puissance permet une amélioration de la résolution spatiale et temporelle, mais se fait aux dépens d'une majoration des artéfacts de susceptibilité magnétique. D'un point de vue qualitatif, cela se traduit par des distorsions sur l'image et des reconstructions incorrectes. D'un point de vue quantitatif, les mesures sont fortement erronées. Aussi, la coopération du patient est cruciale lors d'une acquisition, devant la grande sensibilité aux mouvements, ce qui est peut être difficile à maintenir chez les enfants, les patients douloureux ou claustrophobes, ou ayant des pathologies psychiatriques ou neurologiques.

Séquences conventionnelles en pondération T_1 et T_2

En routine radiologique, les 2 séquences les plus fréquemment employées sont les acquisitions en pondération T_1 (T1w) et en pondération T_2 (T2w). Alors que la graisse

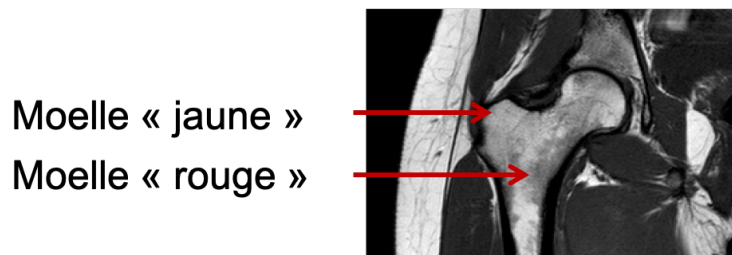


FIGURE 1.1 – Moelle "jaune", moelle "rouge", et pondération T_1 . Acquisition dans le plan coronal d'un fémur d'une volontaire saine. La moelle "jaune" apparaît plus hyperintense que la moelle "rouge", riche en cellules hématopoïétiques.

apparaît hyperintense sur ces 2 pondérations, plusieurs processus pathologiques qui affectent l'appareil squelettique apparaissent hypointenses en T_1w et hyperintenses en T_2w . Les séquences avec saturation en graisse (*fat-sat*) permettent d'augmenter le contraste entre l'os normal et les lésions pathologiques focales.

Les régions avec des proportions différentes en graisse peuvent ainsi être identifiées. L'aspect normal en IRM a bien été décrit [26]. Les régions de "moelle rouge", ayant une activité hématopoïétique élevée apparaissent modérément hyperintenses en T_2w et légèrement hypointenses en T_1w (Figure 1.1). Au contraire, les régions comprenant de la "moelle jaune" sont principalement composées de cellules adipocytaires. Cette proportion plus élevée en graisse au sein de la moelle jaune, approximativement 80% de graisse, contre 40% pour la moelle rouge, explique son caractère hyperintense à la fois en T_1w et T_2w [31].

Afin de quantifier l'**AdMéd**, on pourrait intuitivement mesurer l'importance du signal dans les régions médullaires osseuses. Cela permet par exemple de discriminer les régions comprenant de la moelle rouge et celles comprenant de la moelle jaune. Sur des coupes axiales de fémur, Gorgey et *al.* ont ainsi discriminé os cortical (intensité du signal inférieure à 100 unités arbitraires), moelle rouge (intensité comprise entre 150 et 200 unités arbitraires) et moelle jaune (intensité supérieure à 400 unités arbitraires) [18]. Cependant, ce signal dépend de multiples paramètres (allant des temps d'écho et de répétition à l'algorithme de reconstruction) ne rendant pas robustes les séquences d'acquisition. Les valeurs peuvent ainsi varier avec une acquisition provenant par exemple d'une machine différente (Figure 1.2). Pourtant, de bonnes corrélations ont été rapportées dans la littérature entre séquences conventionnelles T_1w et des séquences plus robustes telles que la spectroscopie, que nous développerons plus tard [32]. Néanmoins, même si ce lien existe, la variabilité des valeurs décrites entre les centres ne permet pas une généralisation fiable de la technique. Si une évaluation quantitative de l'**AdMéd** est souhaitée par l'intermédiaire de ces séquences, elle ne pourrait ainsi être que tout au plus relative, en prenant un tissu adjacent considéré arbitrairement comme une référence, tel un disque intervertébral.

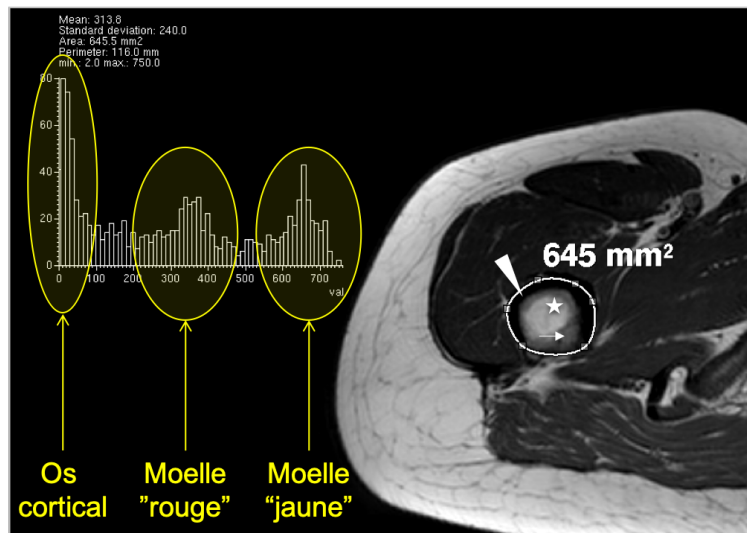


FIGURE 1.2 – **Intensité du signal en T1 et moelle osseuse.** Acquisition dans le plan axial d'un fémur d'une volontaire saine. Une région d'intérêt (ROI) couvre la surface osseuse et permet d'identifier 3 pics correspondant respectivement par ordre croissant d'intensité du signal à l'os cortical (tête de flèche), la moelle "rouge" (flèche) et la moelle "jaune" (étoile).

Ces séquences “de base” restent néanmoins intéressantes. Tout au long de la croissance, il existe une conversion de la moelle rouge à la moelle jaune, débutant au squelette appendiculaire, de la diaphyse à la métaphyse des os longs [31]. Ce phénomène physiologique peut être évalué qualitativement à partir d'acquisitions T1w et T2w fat-sat. Chez l'adulte, une reconversion de la moelle jaune à la moelle rouge peut survenir, apparaissant classiquement à la métaphyse distale fémorale, et est plus fréquente chez les femmes jeunes suivies pour obésité et les fumeurs [33]. Quelques auteurs ont utilisé ces séquences conventionnelles pour évaluer de manière semi-quantitative l'**AdMéd** dans certaines pathologies, comme la maladie de Gaucher. Une diminution relative de l'intensité du signal était ainsi associée à une augmentation de la cellularité, liée à une accumulation de macrophages [34].

Il est important de connaître ces séquences de base pour évaluer qualitativement l'**AdMéd**, mais la faible reproductibilité des valeurs obtenues ne permet pas d'en faire une méthode robuste pour l'étude quantitative de l'**AdMéd**.

Imagerie quantitative par déplacement chimique

En réaction à une onde de radiofréquence, les protons vont avoir une fréquence de précession variable selon le nuage électronique qui les entoure. Les molécules d'eau et de graisse auront ainsi des fréquences propres, dont la différence avec celle du tétraméthylsilane, molécule de référence, est exprimée en parts par million (ppm). Entre les molécules d'eau (H₂O) et les groupes méthylène (-(CH₂)-), composants majoritaires des lipides, il existe une discrète différence de 3.5 ppm responsable d'une

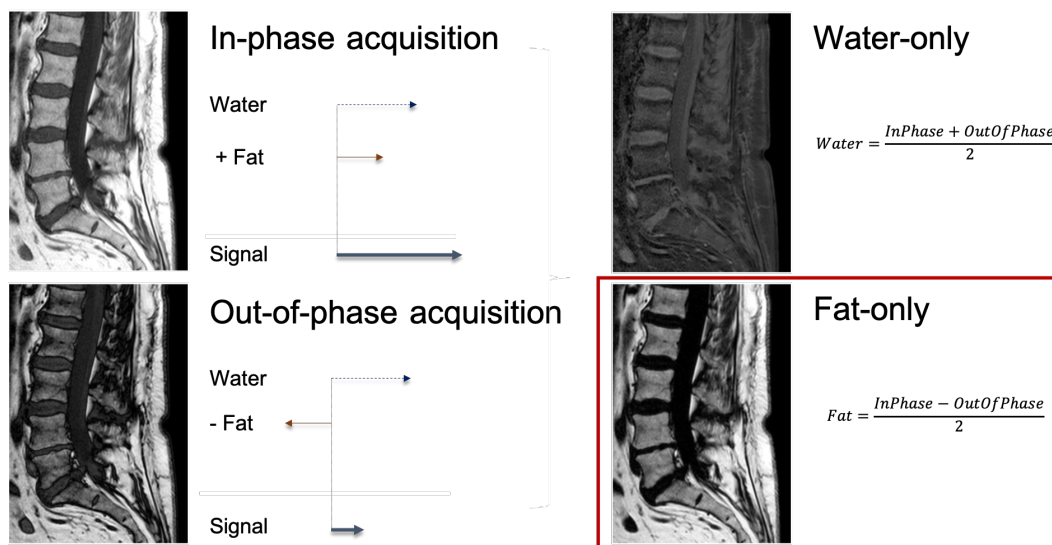


FIGURE 1.3 – **Principe d’une acquisition de type Dixon.** En souhaitant simplifier l’exploration spectrale en imagerie par résonance magnétique, Dixon WT a proposé dans un article paru en 1984 une méthode simple de séparation du signal de l’eau (*water-only*) et de la graisse (*fat-only*) par reconstructions mathématiques issues d’acquisitions *in-phase* (les moments magnétiques protoniques de l’eau et de la graisse sont en phase) et *out-of-phase* (les moments magnétiques sont en opposition) [35].

baisse de signal entre les acquisitions *in-phase* et *out-of-phase*, selon le caractère additif ou soustractif du moment magnétique de ces molécules.

En 1984, W.T. Dixon a exploité ces propriétés additives et soustractives afin de réaliser une imagerie spectroscopique simplifiée du proton [35]. Par des combinaisons élémentaires, des reconstructions ne reflétant que le signal de la graisse (*fat-only*) ou de l’eau (*water-only*) peuvent être générées (Figure 1.3). L’intensité des pixels ou voxels de ces images reconstruites sont hautement corrélées à la densité en protons attachées aux molécules d’eau ou de graisse. Il est ainsi possible de calculer une fraction en graisse médullaire (*Bone Marrow Fat Fraction*, ou BMFF) en rapportant l’intensité moyenne d’une région d’intérêt (*Region Of Interest*, ou ROI) de l’acquisition *fat-only* sur la somme de l’intensité moyenne des mêmes ROI sur les reconstructions *fat-only* et *water-only* (Figure 1.4).

Cette méthode d’imagerie a montré ses preuves en imagerie abdominale pour l’évaluation des masses surrénaliennes afin d’objectiver la présence de lipides intracellulaires, ce qui permet d’être en faveur du caractère bénin de la lésion [36]. En imagerie musculosquelettique, la recherche de graisse microscopique pourrait aussi potentiellement permettre de discriminer les reconversions médullaires, physiologiques, des lésions de remplacement médullaire, pathologiques. En effet, les processus malins sont fréquemment plus pauvres en lipides intracellulaires que la moelle rouge. La chute de signal observée entre les acquisitions *in-phase* et *out-of-phase* peuvent par conséquent être moins importantes, et un seuil de 20% a été proposé pour distinguer lésions bénignes

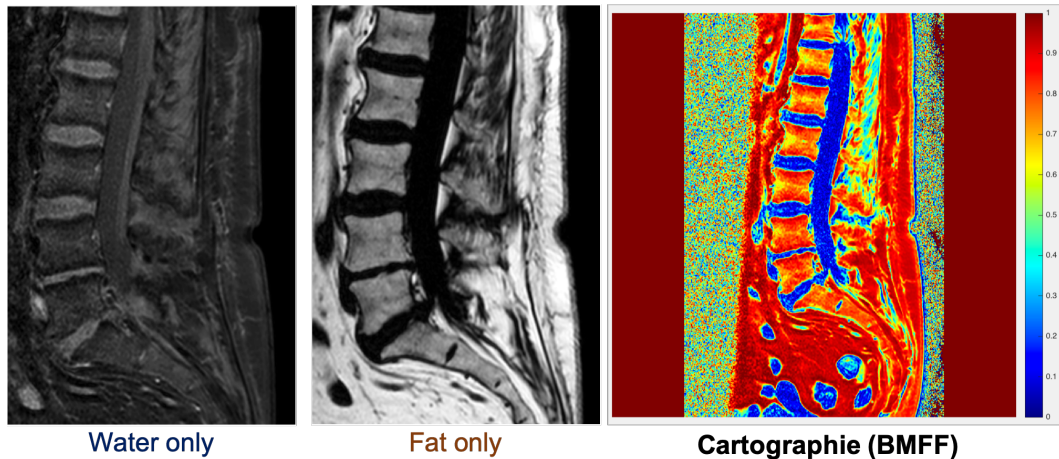


FIGURE 1.4 – Cartographie de la fraction en graisse médullaire (BMFF) obtenue par imagerie quantitative de déplacement chimique (QCSI). À partir des reconstructions *water-only* et *fat-only* obtenues par la méthode Dixon, il est possible de générer une cartographie en graisse en prenant l'intensité du signal S des voxels ($BMFF = S_{fat} / S_{fat} + S_{water}$).

et lésions malignes [37, 38, 39, 40, 41]. Cependant, ces études sont majoritairement rétrospectives et nécessitent d'être validées dans de plus grandes cohortes, les seuils actuellement proposés ne permettant pas actuellement une application pratique en routine radiologique.

D'autres applications cliniques basées sur l'imagerie quantitative par déplacement chimique (*Quantitative Chemical-Shift Imaging*, ou QCSI) ont été suggérées. Certaines équipes ont validé cet outil pour le suivi des répercussions ostéo-articulaires de la maladie de Gaucher [34]. De la même manière, des modifications de la BMFF ont aussi été observées et confirmées par spectroscopie protonique chez les femmes ayant une ostéoporose post-ménopausique, avec une corrélation inverse démontrée avec la densité minérale osseuse (DMO) au rachis [42].

La principale problématique du QCSI dans la littérature est l'hétérogénéité des méthodes effectivement employées. Plusieurs biais de mesure peuvent être rencontrés et affecter la précision et la reproductibilité des quantifications observées. Cependant, lorsque ces biais sont pris en compte, la BMFF s'approche de la densité protonique réelle, indépendante des paramètres d'acquisition, et est appelée à ce moment PDFF, pour *Proton-Density Fat Fraction*. Au rachis, celle-ci varie de 20% à 60% selon l'étage, avec une augmentation des valeurs de C3 à C5, et l'existence de différences selon le sexe et l'âge [43].

Cette technique en fait un candidat excellent pour la quantification de l'AdMéd, du fait de son accessibilité et son excellente reproductibilité lorsque les biais techniques, que j'explicitierai dans le chapitre suivant, sont pris en compte.

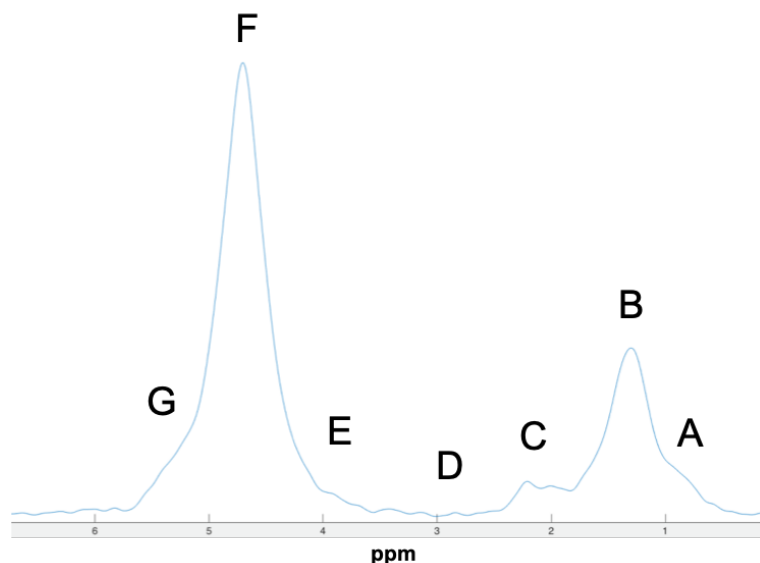


FIGURE 1.5 – Spectre de l'adiposité médullaire au sein d'une vertèbre lombaire. Plusieurs pics sont identifiés, les 2 principaux étant l'eau (F : 4.67 ppm, H_2O) et le groupe méthylène (B : 1.3 ppm, $-(\text{CH}_2)_n-$). Les autres pics correspondent aux groupes méthyl (A : 0.90 ppm, $-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3-$), α -oléfinique, α -carboxyl et β -carboxyl (C : 1.59-2.25 ppm, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ et $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-$), diallyl-méthylène (D : 2.77 ppm, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$), glycérol (E : 4.20 ppm, $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-$) et double liaison oléfinique (G : 5.3 ppm, $-\text{CH}=\text{CH}-$).

Spectroscopie protonique monovoxel

Largement utilisé pour l'évaluation de certaines pathologies neurologiques, la spectroscopie protonique monovoxel (^1H -MRS) est considérée comme une excellente technique pour l'évaluation de l'AdMéd [21, 44]. Cet outil d'imagerie avancée permet d'acquérir un spectre discriminant les groupes moléculaires d'un voxel échantillonné. La composition chimique est ainsi obtenue en se basant sur la différence relative de fréquence de précession des protons selon leur environnement électronique, en prenant le tétraméthylsilane comme molécule de référence.

Concernant l'AdMéd, au moins 2 pics peuvent être individualisés sur une acquisition ^1H -MRS standard : l'eau à 4.67 ppm et le groupe méthylène ($-(\text{CH}_2)_n-$) à 1.3 ppm, constituant majoritairement les acides gras (Figure 1.5). L'aire sous la courbe pour chaque pic est corrélée à la densité protonique de chaque molécule ou groupe moléculaire correspondant dans le volume acquis. De cette manière, et de manière similaire à la QCSI, une BMFF peut être calculée précisément à partir de ces acquisitions.

La ^1H -MRS fournit des résultats reproductibles pour évaluer la BMFF au col fémoral et au rachis lombaire, avec un coefficient de variation bas, inférieur à 2% [45, 46]. Ces mesures ont aussi été confirmées à partir de données histopathologiques sur les lapins [47]. Un autre avantage est sa capacité à permettre d'individualiser précisément d'autres groupes moléculaires caractéristiques, comme le groupe α -oléfinique ($-\text{CH}=\text{CH}-$) à 5.3 ppm. Ce dernier pic permet en effet d'avoir une estimation des

acides gras insaturés, et ainsi obtenir un aperçu sur le profil lipidique qualitatif de l'**AdMéd** au sein du ROI.

Plusieurs études se basent sur la ^1H -MRS lorsqu'une évaluation quantitative de l'**AdMéd** est nécessaire. La relation inverse entre la DMO et l'**AdMéd**, à travers la BMFF ou la PDFF, chez la femme suivie pour ostéoporose post-ménopausique ou anorexie mentale [47, 48]. Les variations physiologiques, notamment au rachis lombaire, ont aussi été évaluées par ^1H -MRS, variant de 20% à 60% selon l'âge et le sexe [21]. De manière intéressante, chez la femme ménopausée ayant un diabète de type 2, une corrélation significative a été démontrée entre l'hémoglobine glyquée A1c (HbA1c) et le contenu adipeux médullaire. La BMFF est supérieure chez les patients ayant un taux d'HbA1c élevé, au-dessus de 7%, par rapport aux patients ayant des taux d'HbA1c faibles ($73.5 \pm 5.6\%$ versus $64.1 \pm 6.9\%$; $p < 0.05$). Dans cette étude, les auteurs suggèrent que la BMFF pourrait être un paramètre quantitatif intéressant pour évaluer l'équilibre du diabète [49].

L'évaluation du degré d'insaturation est également sous-estimée. La composition de l'**AdMéd** pourrait en effet avoir un rôle important dans la physiopathologie de l'ostéoporose et des patients ayant des fractures de contrainte par insuffisance osseuse, ceux-là ayant un taux d'insaturation lipidique abaissé [50]. Pour toutes ces raisons, la ^1H -MRS est considérée comme le *gold-standard*. Elle nécessite néanmoins des compétences techniques avancées et un traitement des données qui ne permettent pas une application réaliste en routine clinique. Par ailleurs, de la même manière que la QCSI, plusieurs biais techniques, bien que similaires, sont aussi à prendre en compte afin d'obtenir des mesures reproductibles et précises.

Autres séquences avancées

Imagerie de perfusion D'autres séquences avancées ont été utilisées pour évaluer l'**AdMéd**, notamment l'imagerie de perfusion (DCE-MRI). Celle-ci permet d'apporter des paramètres quantitatifs sur la vascularisation d'un tissu. Bien que l'architecture et le réseau vasculaire ne soient pas formellement caractérisés, les propriétés fonctionnelles des flux vasculaires à travers la moelle osseuse peuvent être décrits. Cet outil —dont la description technique dépasse le cadre de ce manuscrit— requiert l'injection d'un produit de contraste à base de gadolinium. Des acquisitions dynamiques sont par la suite effectuées puis analysées sur la base d'un modèle théorique afin de fournir des caractéristiques quantitatives.

Budzik et *al.* ont pu démontrer des propriétés perfusionnelles différentes entre moelle rouge et moelle jaune (Figure 1.6) [51]. Dans une étude récente, une équipe a également permis de montrer des différences entre les propriétés vasculaires du tissu adipeux sous-cutané et l'**AdMéd**. Dans le premier compartiment, une réduction de la vascularisation lorsque l'IMC augmentait, alors qu'elle était adaptée en intra-osseux à la hanche [52]. Cette relation entre vascularisation et **AdMéd** est particulièrement

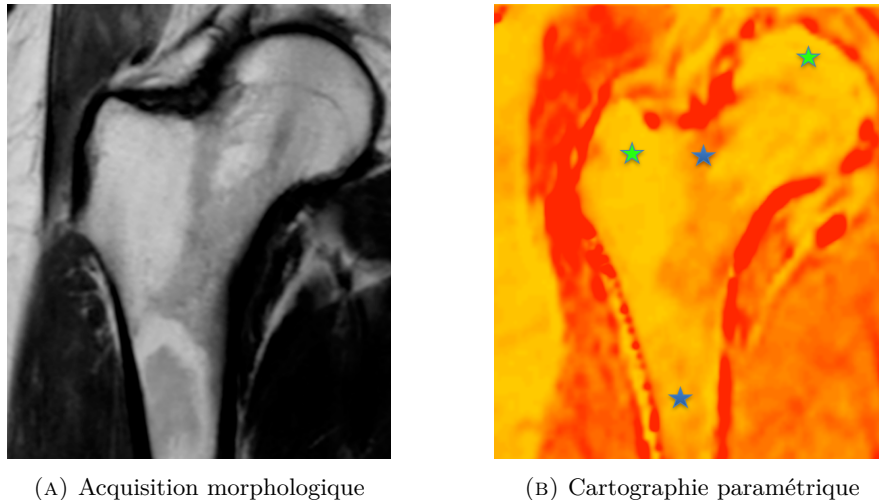


FIGURE 1.6 – **Séquence morphologique pondérée en T₁ (A) et cartographie paramétrique perfusionnelle (B)** obtenue à la hanche (plan coronal). La cartographie paramétrique illustre l'aire sous la courbe obtenue par imagerie de perfusion. À la métaphyse et à la diaphyse fémorale (étoiles bleues), les valeurs sont plus élevées comparativement aux régions épiphysaires (tête fémorale et grand trochanter, étoiles vertes). Ces régions correspondent respectivement à de la moelle rouge et de la moelle jaune.

importante, une altération de l'**AdMéd** pouvant entraîner ou traduire des anomalies perfusionnelles.

Cependant, la principale limite de la DCE-MRI est l'administration intraveineuse d'un produit de contraste et l'utilisation de modèles théoriques. D'une part, si l'injection de gadolinium reste globalement sûre, des complications exceptionnelles peuvent survenir, comme la fibrose systémique néphrogénique. Les dépôts de gadolinium au sein du parenchyme cérébral, dont les conséquences restent insuffisamment connues, encouragent à développer des méthodes alternatives [53, 54]. D'autre part, les modèles utilisés sont responsables d'une mesure approximative des paramètres quantitatifs.

Imagerie de diffusion L'imagerie de diffusion est basée sur l'étude du mouvement des molécules d'eau au sein d'un tissu. Elle s'appuie sur des acquisitions rapides écho-planaires (EPI), en variant un facteur dit de diffusion, b (le plus souvent entre 0 et 1000 sec/mm^2). À partir de celles-ci, une cartographie du coefficient apparent de diffusion (ADC) est générée. Ce coefficient permet de décrire au mieux le mouvement des molécules d'eau : une valeur basse suggère des possibilités restreintes de mouvement, comme dans les conditions carcinologiques, où l'infiltration cellulaire au sein de la moelle osseuse limite la liberté de mouvement des molécules d'eau. Des études physiologiques ont montré que l'ADC normal varie entre 0.2 à $0.6 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$, avec des valeurs plus basses pour la moelle jaune en raison de la taille plus grande des adipocytes [21, 55]. Les valeurs ADC sont aussi faiblement positivement corrélées à la DMO et l'**AdMéd** chez la femme ménopausée ostéoporotique [55, 56].

Cependant, l'imagerie de diffusion souffre d'une résolution spatiale faible et de limites techniques qui sont particulièrement rencontrées lorsque l'on explore la moelle osseuse. En effet, les séquences de diffusion sont sensibles aux effets de susceptibilité magnétique, bien plus que pour la QCSI ou la ^1H -MRS. Par conséquent, les séquences de diffusion évaluent indirectement l'architecture moléculaire mais ne permettent pas de quantifier directement et de façon robuste l'**AdMéd**.

1.2 Considérations techniques

Les 2 séquences les plus pertinentes pour l'évaluation de l'**AdMéd** sont la spectroscopie protonique monovoxel (^1H -MRS) et l'imagerie quantitative par déplacement chimique (QCSI). Quelle que soit la méthode employée, il est important de connaître les principaux biais à prendre en compte, à corriger ou discuter afin de réaliser de façon la plus facile la reproductibilité expérimentale.

Lors de la réalisation du versant technique de cette revue de la littérature, j'ai pu identifier les principales équipes —peu nombreuses— travaillant sur les aspects techniques en imagerie permettant de quantifier l'**AdMéd**. Parmi celles-ci figurent l'équipe du Dr. Dimitrios Karampinos, affiliée à l'Université Technique de Munich (Technische Universität München) et rattachée à l'hôpital Rechts der Isar. Cette équipe, composée principalement de physiciens et d'ingénieurs, développe des séquences dédiées spécifiquement à la quantification de l'**AdMéd**. Après un premier contact avec le Dr. Karampinos lors du 2^{ème} congrès international sur l'adiposité médullaire en 2016 à Rotterdam, j'ai été accueilli durant un court séjour à Munich afin d'approfondir mes connaissances techniques en IRM pour explorer au mieux l'**AdMéd**. Il en est ressorti plusieurs points essentiels, qui ne sont qu'insuffisamment pris en compte par les études réalisées.

Par la suite, nous avons maintenu de nombreux échanges et pu participer de manière active, en binôme, pour le groupe de travail méthodologique de la *Société Internationale sur l'Adiposité Médullaire* (BMAS). L'objectif était de promouvoir une standardisation des méthodologies utilisées pour évaluer l'**AdMéd**. Ce travail fait actuellement l'objet d'un reviewing dans le journal *Frontiers in Endocrinology*, dans le cadre d'une édition spéciale (*white paper*) sur l'**AdMéd**. L'objectif de ce chapitre résume ces travaux, en mettant en exergue les points cruciaux devant être mentionnés dans toute étude utilisant l'IRM pour une quantification de l'**AdMéd**.

Point sémantique : que peut-on mesurer ?

Le paramètre quantitatif le plus pertinent afin de réaliser une évaluation quantitative de l'**AdMéd** par IRM est la fraction en graisse médullaire pondérée par la densité protonique (PDFF), qui est le ratio du signal vrai —sans facteur de confusion— de la graisse sur la somme des signaux non confondus de l'eau et de la graisse [20, 57, 58, 20]. En conséquence, le défi principal de l'évaluation quantitative de l'**AdMéd** est de minimiser ces facteurs de confusion afin de mesurer uniquement le signal provenant des molécules d'eau et des lipides. La détermination du PDFF dans l'évaluation de l'**AdMéd** a profité des avancées techniques en imagerie abdominale, pour l'étude et le suivi des stéatoses hépatiques. Ces développements technologiques ont permis l'émergence d'approches robustes et non invasives des tissus adipeux de manière standardisée, en particulier grâce à la spectroscopie protonique monovoxel et l'imagerie par déplacement chimique [57].

Le deuxième paramètre quantitatif fréquemment rapporté dans la littérature reflète la composition lipidique de l'**AdMéd** à travers son degré d'insaturation, calculé à partir du ratio de signal provenant des protons d'acide oléfinique à 5.31 ppm, et la somme de l'ensemble des signaux provenant des lipides.

Spectroscopie protonique monovoxel

À partir du décalage en fréquence qui existe entre les groupes moléculaires, les signaux provenant des lipides et des molécules d'eau peuvent être discriminés dans un voxel défini. Cependant, le spectre obtenu nécessite d'être acquis dans de bonnes conditions, avec un post-traitement adapté pour identifier précisément la proportion de signal provenant d'un groupe moléculaire donné.

Tout d'abord, les composantes d'eau et de graisse de l'**AdMéd** possèdent différents temps de relaxation (à 1.5 T, au sein de la moelle "rouge" vertébrale : $T_{1,\text{eau}} = 1000 - 1700$ ms, $T_{1,\text{graisse}} = 260 - 320$ ms et $T_{2,\text{eau}} = 32 - 65$ ms, $T_{2,\text{graisse}} = 73 - 91$ ms) [59]. La graisse possède ainsi un temps de relaxation T_1 plus court que celui de l'eau, ce qui induit une amplification relative du signal mesuré. Les calculs de PDFF peuvent par conséquent être biaisés si cet effet T_1 n'est pas pris en compte. Celui-ci peut être minimisé simplement par l'utilisation de longs temps de répétition lors des acquisitions $^1\text{H-MRS}$ [60, 57, 61, 21]. De la même manière, en l'absence de correction de la décroissance T_2 différentielle, la fraction en graisse calculée par $^1\text{H-MRS}$ est pondérée T_2 , dépend des paramètres liés à la séquence, et surestime la PDFF (Figure 1.7). Une acquisition $^1\text{H-MRS}$ comprenant de multiples temps d'écho, combinée à une correction T_2 , peut supprimer cet effet [62, 63].

Deuxièmement, bien que les études initiales de $^1\text{H-MRS}$ considèrent principalement le groupe méthylène à 1.3 ppm pour calculer la BMFF ou le ratio *graisse/eau*, le tissu adipeux possède un spectre complexe composé de multiples pics moléculaires. Une sur-simplification de ce modèle peut réduire la précision et l'évaluation quantitative ou qualitative de la graisse. Aussi, la microarchitecture trabéculaire favorise l'apparition de pics spectraux larges qui rendent difficile le post-traitement [21]. Néanmoins, des

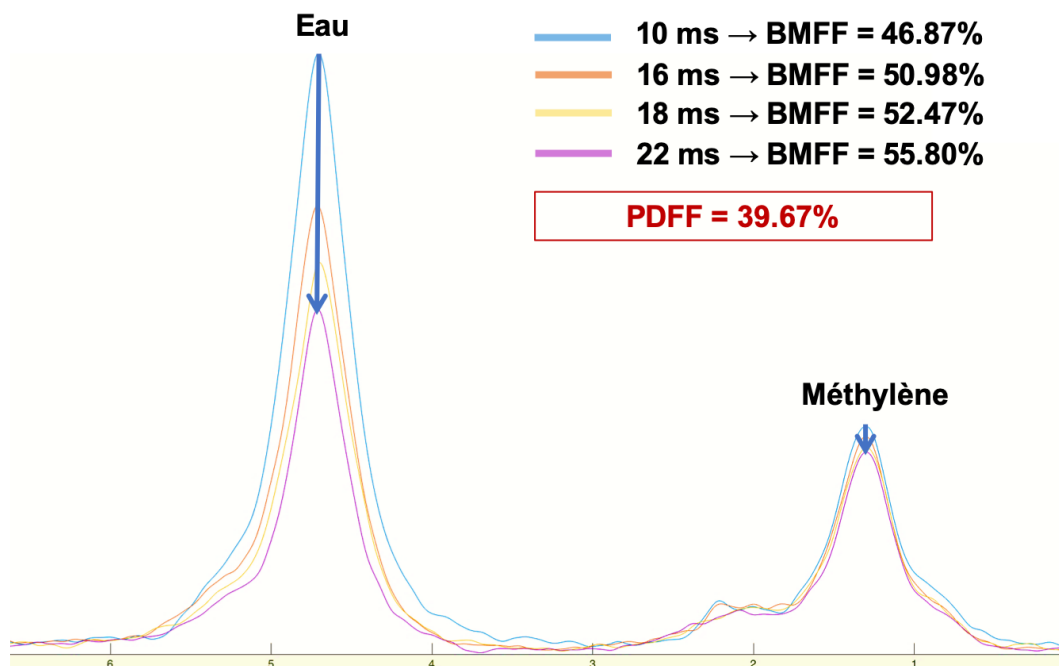


FIGURE 1.7 – Spectres protoniques obtenus à différents temps d'écho (TE). L'acquisition a été réalisée au sein d'une vertèbre lombaire. Les différents spectres sont superposés, avec chaque couleur correspondant au TE précisé dans la légende. Lorsque le TE augmente, les pics d'eau et du méthylène (constituant majoritaire des lipides) évoluent avec une cinétique différente. Par conséquent, la fraction en graisse médullaire pour chaque TE, non corrigée pour cette décroissance T_2 (BMFF), surestime la fraction vraie, caractéristique de la densité protonique réelle (PDFF).

méthodologies ont été décrites et appliquées avec succès à la hanche et au rachis lombaire pour surmonter ces difficultés [62, 63].

Enfin, le choix du mode de ^1H -MRS a également son importance. En limitant les effets de couplage J et en étant capable d'acquérir des spectres comprenant des temps d'écho courts, le mode d'acquisition STEAM (*Stimulated Echo Acquisition Mode*) offre une précision plus importante pour la quantification de l'AdMéd comparativement au mode PRESS (*Point-RESolved Spectroscopy*), malgré une plus grande sensibilité au bruit [21].

Imagerie par déplacement chimique

Les techniques d'imagerie par déplacement chimique possèdent des biais techniques comparables à la ^1H -MRS.

En effet, en raison de la microarchitecture osseuse complexe, les multiples interfaces entre l'os trabéculaire et la moelle osseuse induisent un raccourcissement différentiel de la décroissance T_2^* entre l'eau et la graisse. Plusieurs méthodes ont été proposées pour corriger cette décroissance. Intuitivement, on pourrait penser qu'ajuster exactement la décroissance T_2^* de l'eau et de la graisse séparément serait la solution la plus efficace. La justification théorique est légitime, mais les simulations montrent que les cartographies générées, bien que très précises pour des mesures proches d'une

fraction nominale à 50%, ont une précision dégradée pour les valeurs extrêmes, ce qui a été confirmé par des acquisitions réalisées sur le rachis [64]. Une correction de cette décroissance par un modèle simple est suffisante et pertinente pour l'évaluation de l'**AdMéd** en pratique courante avec des acquisitions QCSI [21].

Concernant l'effet T_1 , l'amplification relative du signal peut être amoindrie simplement en utilisant des angles de bascule bas ou en calibrant les séquences par l'intermédiaire de valeurs prédéterminées [60, 57, 61, 21].

Enfin, la prise en compte du spectre complexe de la graisse n'est pas non plus anodine. Une conséquence "qualitative" de la non-considération de celui-ci est le possible aspect gris/ombragé des tissus adipeux sur les reconstructions *water-only* générées par des acquisitions ne prenant en compte qu'un seul pic du spectre. Le signal graisseux résiduel pourrait provenir d'une discrimination incomplète des signaux d'eau et de graisse, en particulier entre les groupes moléculaires oléfiniques et l'eau [65]. Si cette simplification est tolérée dans la majorité des applications cliniques radiologiques, une modélisation avancée de la graisse est nécessaire lorsque des fins quantitatives sont souhaitées.

La mise en place de telles considérations techniques peut apparaître complexe. Cependant, encore une fois, ces développements méthodologiques ont largement été exploités en imagerie digestive. La majorité des constructeurs d'IRM ont joué un rôle actif dans le développement de ces séquences. Celles-ci ont eu pour objectif initial unique de quantifier la graisse hépatique, mais les mêmes facteurs de confusion sont pris en compte et ces outils apparaissent comme une alternative pertinente et intéressante pour la quantification de l'**AdMéd**. Une critique qui pourrait être émise est le spectre potentiellement différent de la graisse hépatique comparativement à celui de l'**AdMéd**. Cependant, il n'existe qu'une différence négligeable entre ces derniers lorsque l'on compare le signal de la graisse totale et les 3 principaux pics du spectre lipidique (87% versus 90% entre l'**AdMéd** au fémur proximal et le foie), ce qui permet une approximation acceptable [62, 66, 21]. De plus, ces séquences implémentent de facto une correction T_2^* . En y appliquant un angle de bascule faible pour minimiser l'effet T_1 , ces solutions fournissent finalement une cartographie de la PDFF de l'**AdMéd** acceptable.

1.3 Reproductibilité et challenges actuels

Reproductibilité des séquences ^1H -MRS et QCSI

Lorsque les principaux biais sont pris en compte, les séquences de ^1H -MRS et de QCSI apparaissent robustes pour quantifier la PDFF, et sont relativement peu sensibles aux paramètres expérimentaux. Il existe notamment une bonne concordance entre les mesures réalisées à partir de fantômes ou l'histologie, sur la base de vertèbres lombaires excisés [67, 68]. De plus, il existe une corrélation négative démontrée entre

les mesures de PDFF par ^1H -MRS et les propriétés biomécaniques *ex vivo* (charge de rupture), soulignant la pertinence de ce paramètre dans l'évaluation de la solidité osseuse [5]. La reproductibilité est également excellente, plus spécifiquement lorsque l'on étudie le rachis lombaire *in vivo* [43, 69, 70].

Bien que la ^1H -MRS ait longtemps été considérée comme le *gold-standard* [46], les séquences QCSI permettent de générer des cartographies paramétriques précises, avec une erreur de précision absolue de 1.7% rapportée entre les vertèbres C3 et L5 [43], sans différence significative avec l'évaluation spectroscopique, que ce soit chez l'adulte ou chez l'enfant [71, 72].

Challenges actuels

Améliorer la précision de la description de la composition lipidique Rapporter la composition lipidique à travers l'expression du degré d'insaturation constitue le second paramètre quantitatif le plus fréquemment rencontré dans la littérature après la PDFF. L'étude du profil lipidique pourrait avoir un impact clinique et un rôle potentiel dans l'évaluation du risque fracturaire chez les patients ostéoporotiques [73, 50]. Cependant, la proximité et la superposition partielle du pic oléfinique avec le pic d'eau (à 4.7 ppm) réduit la robustesse et le fitting du spectre IRM, et par conséquent la précision et la reproductibilité des mesures observées.

Acquérir de meilleures connaissances sur les valeurs physiologiques À ce jour, peu d'études ont été réalisées sur des sujets sains afin de décrire les variations physiologiques de la PDFF et l'index d'insaturation lipidique, en particulier au rachis. Chez l'enfant, des acquisitions utilisant la QCSI ont montré une diminution des valeurs de la PDFF de l'étage cervical à l'étage lombaire, avec une augmentation logarithmique avec l'âge, indépendamment du sexe [72]. Cependant, chez l'adulte, les variations dépendent à la fois du sexe et de l'âge au rachis [43, 63]. Concernant la composition de l'**AdMéd**, les différences de degré d'insaturation ont aussi été observées entre les hommes et les femmes, avec des taux plus élevés chez la femme [74]. Néanmoins, bien que ces études rapportant les variations physiologiques soient cruciales pour une meilleure compréhension de la physiologie de l'**AdMéd**, les données restent insuffisantes pour une généralisation des connaissances, d'autant que les méthodes utilisées pour quantifier l'**AdMéd** ne sont pas standardisées.

Le défi majeur à relever est en effet ce dernier point : standardiser les acquisitions et les mesures. Les grandes disparités de méthodologie et le faible nombre d'équipes travaillant sur l'**AdMéd** limite une exploitation efficace des données déjà disponibles. Une édition spéciale allant être publiée dans *Frontiers in Endocrinology*, pour lequel un sous-chapitre portant sur l'imagerie *in vivo* de l'**AdMéd** a été écrit, soumis et est en cours de reviewing, va permettre d'apporter des éléments à la communauté afin d'inciter une homogénéisation des pratiques.

Chapitre 2

Explorer : adiposité médullaire et anorexie mentale

Ce chapitre a fait l'objet d'une soumission dans sa version anglaise à une revue internationale (acceptée et publiée).

2.1 Introduction

L'anorexie mentale (AN) est un trouble du comportement alimentaire survenant principalement chez les femmes et caractérisé par une peur intense de perdre du poids [75]. Il en résulte une réduction substantielle des apports énergétiques suivie d'un déséquilibre hormonal et de comorbidités multiples pouvant dégrader la qualité de vie même dans les syndromes incomplets [76, 77]. Le métabolisme et la composition minérale squelettique peuvent être affectés, avec une perte osseuse rapportée chez plus de la moitié des patients, responsable de la survenue de fractures par insuffisance osseuse [78, 8].

Au niveau cellulaire, les ostéoblastes et adipocytes médullaires possèdent une cellule progénitrice commune, la cellule souche squelettique, dont l'évolution est hautement influencée par les hormones. Aussi bien pour l'AN que pour l'ostéoporose, la finalité cellulaire est en faveur des adipocytes plutôt que les ostéoblastes [79], ce qui peut paradoxalement amener à une "obésité osseuse" et amoindrir la résistance mécanique de l'os [5]. Cependant, cette description reste simpliste. Différents sous-types d'adipocytes médullaires ont été décrits, avec des variations régionales corroborées en IRM et en histologie [80, 81]. Par ailleurs, la composition lipidique elle-même pourrait jouer un rôle bien plus complexe dans les mécanismes physiopathologiques. En effet, de multiples études ont pu rapporter une altération du profil lipidique de l'**AdMéd** au rachis ou dans des échantillons de biopsies iliaques chez des femmes ménopausées, avec une diminution significative du taux d'insaturation lipidique [73, 82, 71, 83]. Patsch et *al.* ont même observé une association significative entre les fractures par insuffisance osseuse et des taux d'insaturation lipidique faibles aux vertèbres, mais pas entre la BMFF au rachis et les fractures ostéoporotiques [50]. Ainsi, tout en prenant en compte l'hétérogénéité spatiale, le contenu adipeux médullaire et sa composition

doivent être évalués ensemble afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques qui peuvent promouvoir les complications squelettiques dans des conditions ostéoporotiques.

In vivo, la ^1H -MRS est considérée comme la référence pour explorer l'**AdMéd**, s'agissant d'un outil précis, reproductible et non invasif pouvant quantifier à la fois l'**AdMéd** et avoir un aperçu de sa composition à travers la mesure de la BMFF et le taux apparent d'insaturation lipidique (aLUL). Concernant l'AN, une augmentation de l'adiposité médullaire à la hanche et une corrélation inverse entre les taux de saturation et la DMO à la diaphyse fémorale et au rachis ont été rapportées en utilisant cette technique, même si les données sont basées sur un nombre limité de sujets [7, 84, 48].

Par ailleurs, la littérature disponible sur l'**AdMéd** chez les patients anorexiques ayant récupéré un poids normal est succincte. Après une récupération du poids à court terme, une distribution anormale des tissus adipeux peut persister chez les femmes anorexiques, et une ostéopénie peut perdurer plusieurs années après rémission [85, 86]. Aussi, des troubles du comportement alimentaire peuvent persister après une normalisation du poids [87]. Comme les apports diététiques semblent jouer un rôle dans le métabolisme osseux, en affectant à la fois la composition de l'**AdMéd** et la DMO [88, 89], une récupération d'un poids normal ne serait pas suffisante pour restaurer une **AdMéd** normale. Dans une analyse secondaire, Fazeli et *al.* n'ont pas observé de différences significatives concernant la BMFF au fémur proximal entre volontaires saines et patientes anorexiques en sous-poids ou ayant récupéré un poids normal [90]. Cependant, pour les auteurs, une faible puissance statistique pourrait être à l'origine de ces constatations.

Par conséquent, afin d'évaluer de manière efficiente la santé osseuse, les caractéristiques de l'**AdMéd** doivent être précisément décrites dans une cohorte plus large de patients, à travers deux paramètres quantitatifs que sont la BMFF et l'aLUL obtenus par ^1H -MRS à plusieurs sites. En se focalisant sur plusieurs sous-régions de la hanche, avec une analyse plus attentive au col fémoral —connu pour être un site vulnérable de fractures de contrainte—, nous avons comparé ces caractéristiques spectrales chez des patientes anorexiques en sous-poids et ayant récupéré un IMC normal, tout en prenant comme référence une population de volontaires saines. Les objectifs secondaires ont été d'évaluer la relation entre **AdMéd**, pourcentage en graisse corporelle et DMO à la hanche totale et au col fémoral, en utilisant l'absorptiométrie biphotonique à rayons X (DEXA).

2.2 Matériels et Méthodes

Éthique

Cette étude entre dans le cadre d'un travail plus large (étude AMOS — *Anorexie Mentale et Ostéoporose*), et a été approuvée par le comité institutionnel d'éthique. Un consentement écrit a été obtenu, après information, pour toutes les patientes (numéro d'essai : 2012-A01009-34).

Protocole d'étude

De Janvier 2014 à Juin 2017, 80 femmes suivies pour AN au Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille ont été explorées par IRM et DEXA. Les critères d'inclusion étaient : (a) femme adulte âgée entre 18 et 35 ans ; (b) AN diagnostiquée par un psychiatre (Dr. Jean Vignau) selon la définition du *Diagnostic and Statistical Manual*, 4ème édition (DSM-4) [91] ; (c) une couverture de santé française. Les critères d'exclusion étaient : (a) une grossesse ; (b) toute contre-indication à la réalisation d'une IRM ; (c) la présence d'artéfacts IRM dans la région de la hanche ; (d) une prothèse de hanche ou un antécédent de fracture de hanche ; (e) toute maladie musculosquelettique ne pouvant être rapportée à une complication osseuse de l'AN.

Pour toutes les patientes, l'âge, le poids, la taille, l'IMC, et la consommation éthylo-tabagique ont été notés. Une évaluation de l'activité physique basée sur le questionnaire de l'étude européenne sur l'ostéoporose vertébrale a été réalisée et suit l'échelle suivante : (1) activité légère, principalement sédentaire ; (2) activité modérée, impliquant la marche et la position debout ; (3) activité importante, avec port occasionnel de charges lourdes et marche régulière ; (4) activité physique très importante, impliquant le port de charge lourde régulier ou du sport de haut niveau [92]. Au moment de l'examen IRM, les patientes ayant un IMC anormal ($< 17.5 \text{ kg/m}^2$) ont été incluses dans le groupe "Patientes anorexiques en sous-poids", et celles ayant un IMC normal ($\geq 17.5 \text{ kg/m}^2$) ont été incluses dans le groupe "Patientes anorexiques à IMC normal". La durée de récupération d'un poids normal a été définie comme le temps entre l'examen IRM et le premier compte-rendu médical rapportant un $\text{IMC} \geq 17.5 \text{ kg/m}^2$.

Au final, seules 4 patientes ont été exclues en raison d'acquisitions IRM corrompues ($n = 3$) et de données DEXA partielles ($n = 1$). La population finale comprend ainsi 76 patientes.

Volontaires saines

Les données spectroscopiques de 10 volontaires saines, âgées entre 18 et 35 ans et ayant un IMC normal ($> 17.5 \text{ kg/m}^2$), ont été acquises dans des conditions identiques aux patientes anorexiques. Afin d'éviter une irradiation non justifiée, même minime, et s'agissant de volontaires saines sans facteur de risque personnel d'ostéoporose, la DEXA n'a pas été réalisée. Pour chaque volontaire, l'âge, la taille, le poids et l'IMC

ont été analysés. Tous les sujets étaient strictement asymptomatiques, sans antécédent médical ou psychiatrique, tabagisme, prise médicamenteuse ni facteur de risque pour l'ostéoporose. Un consentement éclairé a également été obtenu pour toutes les femmes témoins.

Examen IRM

Les acquisitions IRM ont été réalisées sur un appareil 3 T corps entier (Ingenia, Philips Healthcare, Pays-Bas) suivant le même protocole que la dernière publication de notre équipe [93].

Les patientes ont été installées en décubitus, et une antenne cardiaque à 32-canaux couvrant l'extrémité proximale du fémur et le toit acétabulaire a été placée sur le bassin. Les acquisitions de repérage consistent en des séquences en pondération T_1 dans le plan sagittal (temps de répétition (TR)/temps d'écho (TE) = 715/20 ms; champ de vue (FOV) = 210 mm; épaisseur de coupe = 3.0 mm; gap = 0.8 mm; matrice = 258 × 288 pixels; facteur turbo = 5 et temps d'acquisition = 2 min 32 s) et les plans coronal et axial (TR/TE = 544/20 ms; FOV = 385 mm; épaisseur de coupe = 3.0 mm; gap = 0.8 mm; matrice = 427 × 528 pixels; facteur turbo = 4 et temps d'acquisition = 1 min 17 s).

Les volumes d'intérêt (VOI) ont été placés dans 4 sous-régions de la hanche droite, et considérés comme étant indépendants les uns des autres pour l'analyse statistique : (a) acétabulum; (b) col fémoral; (c) la diaphyse fémorale proximale et (d) le grand trochanter. Les acquisitions de repérage ont été utilisées pour un positionnement optimal des VOI dans l'os trabéculaire, en évitant la superposition avec des structures corticales ou extra-osseuses (Figure 2.1). Une capture d'écran du positionnement est réalisée afin de permettre un contrôle qualité ultérieur.

Les acquisitions de ^1H -MRS ont été réalisées en STEAM avec les paramètres suivants : taille du voxel = 12.5 × 12.5 × 12.5 mm³; TR/TE = 5000/20 ms; nombre d'excitations = 32; temps mixte = 16 ms; bande passante spectrale = 2500 Hz; acquisition de 2048 points; absence de suppression du signal de l'eau. Le plus haut pic spectral de la graisse est choisi pour réaliser un shimming de second ordre et le pic de l'eau est sélectionné manuellement pour ajuster la fréquence si nécessaire. Les procédures de shimming usuelles ont été employées pour améliorer la qualité du spectre et maintenir une largeur maximale moyenne à mi-hauteur (FWHM) en-dessous de 50 Hz. Le spectre était automatiquement reconstruit à partir de l'acquisition de chaque canal de l'antenne. Le temps d'acquisition pour chaque région était de 2 min 50 s.

Quantification de l'adiposité médullaire

La qualité du spectre et le positionnement du VOI ont d'abord été évalués avant de réaliser la quantification de l'**AdMéd**. Les VOI n'incluant pas uniquement de l'os spongieux et/ou ayant de larges distorsions spectrales ont été exclus de l'analyse afin

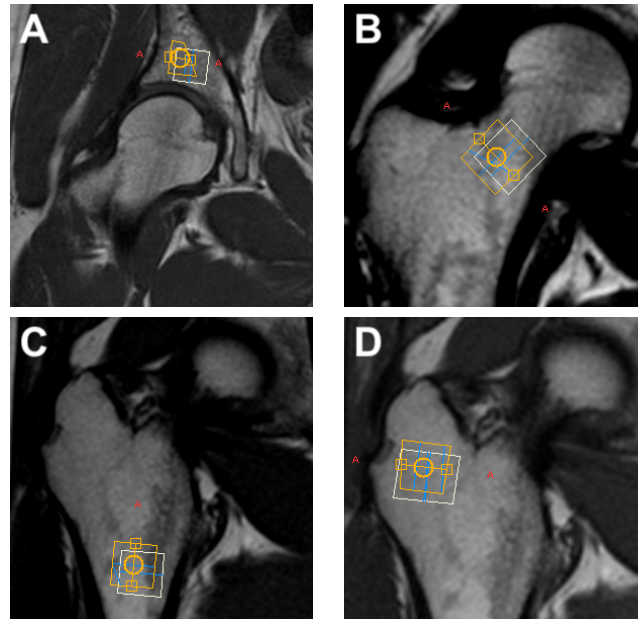


FIGURE 2.1 – **Positionnement des volumes d'intérêt (VOI)** sur les acquisitions de repérage réalisées dans le plan coronal, au sein de l'acétabulum (A), le col fémoral (B), la diaphyse fémorale proximale (C), et le grand trochanter (D). Afin d'éviter toute superposition avec la corticale et les structures non médullaires, le bon positionnement était également vérifié dans les plans axial et sagittal (non représentés sur la figure).

de ne prendre en compte que les signaux provenant de la moelle osseuse. À partir de ces critères, 20 acquisitions sur les 304 spectres n'ont pas rempli les critères de qualité (acétabulum : $n = 4$; col fémoral : $n = 6$; diaphyse fémorale proximale : $n = 6$ et grand trochanter : $n = 4$).

Les données spectroscopiques ont été post-traitées à partir de scripts réalisés sur MatLab version R2015b (MathWorks, Natick, MA, USA), optimisés pour le calcul de la BMFF et l'aLUL (réalisés par Stefan Ruschke et Dimitrios Karampinos, de l'Université Technique de Munich). Des contraintes de fitting ont été appliquées : le pic principal de la graisse (groupe méthylène, à 1.3 ppm) était considéré comme étant le pic de référence, avec une largeur maximale définie à 1.7 ppm ; la position des autres pics pouvait varier de ± 0.02 ppm et le pic de l'eau de ± 0.10 ppm. En utilisant un spectre pré-calibré, ces scripts permettaient un fitting automatique des données spectroscopiques dans le domaine de fréquence, en fournissant des mesures reproductibles pour chaque acquisition.

Le spectre pré-calibré de la graisse comprenait les pics suivants :

- L_1 — $-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3-$ (méthyl : 0.90 ppm)
- L_2 — $-(\text{CH}_2)_n-$ (méthylène : 1.30 ppm)
- L_3 — $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-$ (β -carboxyl méthylène : 1.59 ppm)
- L_4 — $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (α -oléfinique méthylène : 2.00 ppm)
- L_5 — $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (α -carboxyl méthylène : 2.25 ppm)

- L_6 — $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (diallyl-méthylène : 2.77 ppm)
- L_7 — $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-$ (glycérol : 4.20 ppm)
- UL — $-\text{CH}=\text{CH}-$ (double liaison oléfinique : 5.3 ppm)

Le pic de l'eau était défini à 4.67 ppm. La BMFF était calculée comme étant le pourcentage de signal de la graisse rapporté à l'intensité total du signal ($BMFF(\%) = \frac{\text{graisse}}{\text{graisse} + \text{eau}}$). Le taux d'insaturation lipidique apparent (aLUL) était calculé de la manière suivante, en utilisant le pic oléfinique (UL) comme étant le plus représentatif des graisses insaturées : $aLUL(\%) = UL / (UL + \sum L_{1-7})$.

Évaluation de la DMO et de la composition corporelle

La DMO au rachis, à la hanche totale gauche, au col fémoral gauche et le pourcentage de graisse corporelle ont été évaluées par absorptiométrie biphotonique à rayons X (DEXA ; Discovery W, Hologic). À l'exception de 3 patientes qui ont déjà bénéficié d'une évaluation densitométrique dans les mois précédents (avec un délai de 22, 50 et 84 jours entre cette évaluation et l'IRM), tous les examens (IRM et DEXA) ont été réalisés le même jour.

Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée en utilisant SAS University Edition, version 9.04 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Le test de Shapiro-Wilk a été utilisé pour vérifier la normalité des distributions. Les caractéristiques démographiques ont été évaluées en utilisant des analyses ANOVA suivies de tests *post-hoc* de Tukey, ou comparées par un *t*-test de Student pour les variables quantitatives, et un test du χ^2 pour les données catégorielles. Les comparaisons de la DMO, la BMFF et l'aLUL entre les sites et les groupes ont été réalisées à partir de tests non-paramétriques (Mann-Whitney et analyses de Kruskal-Wallis suivies de tests *post-hoc* de Dunn [94]). Parce qu'une relation non-linéaire était présumée entre la BMFF, l'aLUL, le pourcentage de graisse corporelle et la DMO au col fémoral et à la hanche totale, la méthode de Spearman a été utilisée pour calculer les coefficients de corrélation (ρ), ajustés pour l'IMC et le statut aménorrhéique. Sauf précision contraire, toutes les données sont écrites sous la forme moyenne \pm écart-type (p). Le seuil de significativité a été défini par un p inférieur à 0.05.

2.3 Résultats

Caractéristiques démographiques

Légèrement plus de la moitié des patientes (52.6%, $n = 40$) était en sous-poids, alors que 36 femmes avaient un IMC normal, supérieur à 17.5 kg/m² au moment de l'examen IRM. La moyenne d'âge était de 23.3 ± 5.1 et 24.7 ± 5.0 ans pour les patientes en sous-poids et ayant un IMC normal, sans différence significative avec les témoins (25.0 ± 2.9 ans, $p = 0.39$). Les volontaires saines et les femmes anorexiques

ayant un IMC normal ont un IMC significativement supérieur à celui des patientes en sous-poids (respectivement 20.2 ± 2.6 et 19.8 ± 1.7 kg/m² contre 15.4 ± 1.2 kg/m², $p < 0.0001$). Parmi les patientes anorexiques, 21 femmes (27.6%) ont rapporté des épisodes boulimiques. La moyenne d'âge de début de la maladie était de 17.6 ± 4.2 ans, pour une durée moyenne de 5.0 ± 4.1 ans et un âge d'aménorrhée secondaire plus tardif, à 19.5 ± 4.9 ans. L'activité physique était modérée (score moyen de 2.2 ± 0.7). Seules 12 patientes étaient fumeuses actives (15.8%). Aucun éthylysme chronique n'a été rapporté.

Les patientes ayant un IMC normal avaient un pourcentage de graisse corporelle plus élevé et une durée de la maladie plus longue comparativement aux patientes en sous-poids (pourcentage de graisse corporelle : $28.4 \pm 6.0\%$ versus $18.8 \pm 4.9\%$, $p < 0.0001$; durée de la maladie : 6.3 ± 4.9 versus 3.9 ± 2.7 ans, $p = 0.001$). Les femmes aménorrhéiques étaient significativement moins nombreuses dans le groupe de patientes ayant un IMC normal que dans le groupe de patientes en sous-poids (61.1% versus 82.5% respectivement, $p = 0.04$). Cependant, il n'y avait aucune différence significative concernant la durée de l'aménorrhée (1.7 ± 2.4 ans dans le groupe de patientes à IMC normal et 2.5 ± 2.2 ans dans le groupe de patientes en sous-poids, $p = 0.13$). La durée moyenne depuis la récupération d'un IMC normal était de 1.5 ± 1.5 [0.0–7.6] années.

La différence de DMO à la hanche totale était proche du seuil de significativité entre les deux groupes, légèrement plus élevée dans le groupe de patientes à IMC normal (0.81 ± 0.09 g/cm² versus 0.75 ± 0.14 g/cm², $p = 0.06$), alors qu'il n'y avait aucune différence significative concernant la DMO au rachis entre les patientes en sous-poids et ayant un IMC normal (respectivement 0.83 ± 0.11 versus 0.88 ± 0.10 , $p = 0.11$). Les autres caractéristiques démographiques étaient significativement différentes entre les 2 groupes de patientes. Les caractéristiques détaillées sont résumées dans la Table 2.1.

	Patientes anorexiques		Volontaires	<i>p</i>
	<i>IMC</i> < 17.5 kg/m ²	≥ 17.5 kg/m ²		
<i>n</i>	40	36	10	—
Âge (années)	23.3 ± 5.1	24.7 ± 5.0	25.0 ± 2.9	0.39
<i>IMC</i> (kg/m ²)	15.4 ± 1.2 [12.6-17.4]	19.8 ± 1.7 [17.7-23.4]	20.2 ± 2.6 [17.6-26.6]	<0.0001*
Pourcentage de graisse corporelle (%)	18.8 ± 4.9	28.4 ± 6.0	—	<0.0001
DMO au rachis (g/cm ²)	0.83 ± 0.11	0.88 ± 0.10	—	0.11
DMO à la hanche totale (g/cm ²)	0.75 ± 0.14	0.81 ± 0.09	—	0.06
DMO au col fémoral (g/cm ²)	0.67 ± 0.12	0.71 ± 0.09	—	0.21
Âge de début de la maladie	18.1 ± 4.6	17.0 ± 3.6	—	0.23
Durée de la maladie (années)	3.9 ± 2.7	6.3 ± 4.9	—	0.0001
Durée depuis récupération d'un <i>IMC</i> normal	—	1.5 ± 1.5 [0.0-7.6]	—	—
Patientes aménorrhéiques	82.5% (<i>n</i> = 33)	61.1% (<i>n</i> = 22)	—	0.04
Date de début de l'aménorrhée	19.4 ± 4.8	19.6 ± 5.2	—	0.86
Durée de l'aménorrhée (en années)	2.5 ± 2.2	1.7 ± 2.4	—	0.13
Épisodes boulimiques	20.0% (<i>n</i> = 8)	36.1% (<i>n</i> = 13)	—	0.12
Tabagisme	15.0% (<i>n</i> = 6)	16.7% (<i>n</i> = 6)	—	0.84
Alcoolisme chronique	0	0	—	—
Activité physique (score EVOS)	2.0 ± 0.6	2.4 ± 0.6	—	0.07

TABLE 2.1 – **Caractéristiques démographiques** (valeurs moyennes ± écart-type; [min-max]) pour l'*IMC* et la durée depuis récupération d'un *IMC* normal. Les comparaisons sont réalisées entre les patientes anorexiques en sous-poids et ayant un *IMC* normal, ainsi qu'avec les volontaires saines. * : Test ANOVA à un facteur suivi de comparaisons *post-hoc* de Tukey montrant des différences significatives ($p < 0.05$) entre les patientes anorexiques en sous poids et les autres groupes mais pas encore les patientes anorexiques ayant récupéré un *IMC* normal et les volontaires saines. Les valeurs significatives apparaissent en rouge et en gras.

	Patientes anorexiques		Volontaires	<i>p</i>
	<i>IMC</i> < 17.5 kg/m ²	≥ 17.5 kg/m ²		
BMFF (%)				
Acétabulum	75.8 ± 10.1 ^{a,b,c}	72.2 ± 10.3 ^{d,e,f}	68.1 ± 7.4 ^{i,j}	0.08
Col fémoral	90.1 ± 6.7 ^a	90.3 ± 7.5 ^{d,g}	81.3 ± 8.1 ^k	<0.01*
Diaphyse fémorale	89.6 ± 11.1 ^b	90.5 ± 7.2 ^{e,h}	85.1 ± 12.2 ⁱ	0.29
Grand trochanter	92.5 ± 10.9 ^c	96.6 ± 1.5 ^{f,g,h}	94.4 ± 3.3 ^{j,k}	0.18
ALUL (%)				
Acétabulum	10.9 ± 2.3 ^{l,m,n}	11.1 ± 1.7 ^{o,p,q}	12.7 ± 2.5 ^{r,s}	0.17
Col fémoral	7.6 ± 1.4 ^l	7.3 ± 1.3 ^o	9.2 ± 1.5	<0.01*
Diaphyse fémorale	7.7 ± 2.0 ^m	7.3 ± 1.3 ^p	8.4 ± 2.4 ^r	0.46
Grand trochanter	7.1 ± 1.6 ⁿ	6.5 ± 0.8 ^q	7.1 ± 1.4 ^s	0.18

TABLE 2.2 – Fraction en graisse médullaire osseuse (BMFF) et taux apparent d'insaturation lipidique (aLUL) chez les patientes anorexiques et les volontaires saines. Les résultats sont exprimés sous la forme (moyenne ± écart-type). Les sites possédant la même lettre (en exposant) ont des valeurs de BMFF ou aLUL significativement différentes entre elles ($p < 0.05$). * : Analyse de Kruskal-Wallis avec tests *post-hoc* de Dunn soulignant les différences significatives entre volontaires saines et les autres groupes mais pas entre les patientes anorexiques en sous-poids et ayant récupéré un IMC normal. Les valeurs significatives apparaissent en rouge et en gras.

BMFF et aLUL entre les groupes

Une nette diminution de l'amplitude du pic de l'eau était visible sur le spectre des patientes anorexiques en sous-poids comparativement aux volontaires saines (Figure 2.2). La valeur moyenne de la BMFF était significativement plus élevée au col fémoral des patientes anorexiques en sous-poids et ayant récupéré un poids normal comparativement aux volontaires saines (respectivement 90.1 ± 6.7% ou 90.3 ± 7.5% versus 81.3 ± 8.1%, $p < 0.01$; Table 2.2 et Figure 2.3a).

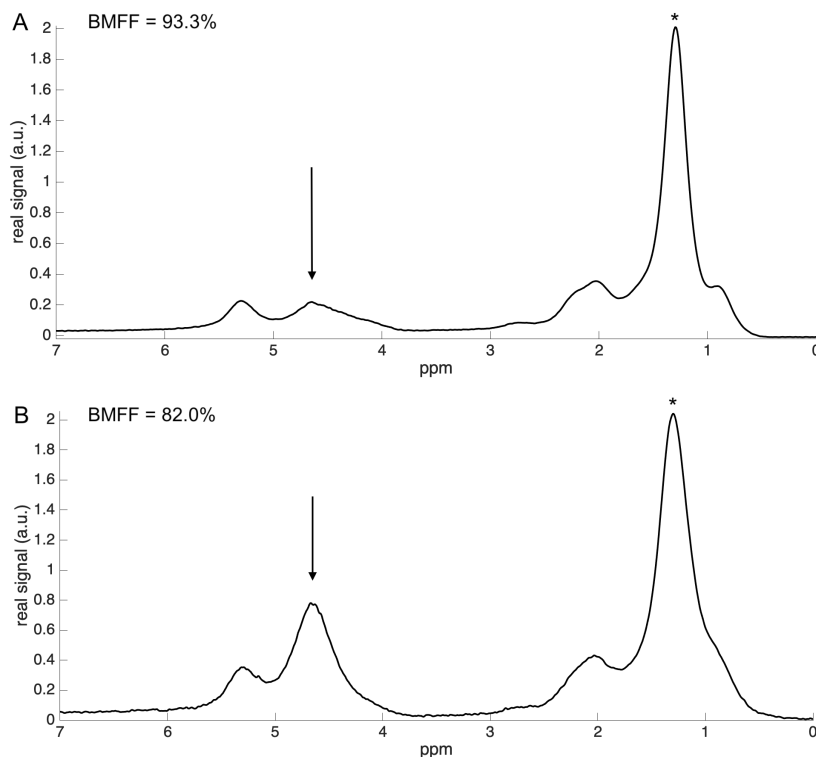


FIGURE 2.2 – **Spectres IRM** obtenus par spectroscopie protonique monovoixel chez une patiente anorexique en sous-poids (A), montrant un pic d'eau abaissé à 4.67 ppm (flèche noire) et un pic méthylène augmenté, à 1.3 ppm (astérisque), suggérant une expansion de l'adiposité médullaire (fraction en graisse médullaire —BMFF— à 93.3%). À l'inverse, le pic d'eau est plus élevé et mieux individualisé chez une volontaire saine (B), suggérant une fraction en graisse médullaire normale (BMFF à 82.0%). Les deux spectres ont été acquis au col fémoral, évitant toute structure corticale ou extra-osseuse.

Inversement, la valeur moyenne de l'aLUL était significativement plus faible au col fémoral des patientes en sous-poids ou ayant récupéré un poids normal comparativement aux volontaires saines (respectivement $7.6 \pm 1.4\%$ ou $7.3 \pm 1.3\%$ versus $9.2 \pm 1.5\%$, $p < 0.01$; Table 2.2 et Figure 2.3b).

BMFF et aLUL entre les sous-régions

Les valeurs moyennes de BMFF et aLUL étaient significativement différentes entre les sous-régions (analyse de Kruskal-Wallis, $p < 0.0001$) mais les patterns variaient selon le groupe.

Parmi patientes anorexiques en sous-poids, la BMFF à l'acétabulum était significativement plus basse que la BMFF dans les autres sous-régions ($75.8 \pm 10.1\%$ versus $90.1 \pm 6.7\%$ ou $89.6 \pm 11.1\%$ ou $92.5 \pm 10.9\%$ pour le col fémoral, la diaphyse fémorale proximale et le grand trochanter respectivement). Parmi les femmes anorexiques ayant récupéré un IMC normal, la BMFF était significativement différente entre chaque paire de sous-régions, excepté entre la diaphyse fémorale proximale et

le col fémoral. Enfin, parmi les volontaires saines, la BMFF à l'acétabulum était significativement plus basse que la BMFF au grand trochanter ou à la diaphyse fémorale proximale ($68.1 \pm 7.4\%$ versus $94.4 \pm 3.3\%$ ou $85.1 \pm 12.2\%$ respectivement), et la BMFF au grand trochanter avait des valeurs plus élevées que la BMFF au col fémoral ($81.3 \pm 12.2\%$) (Table 2.2 et Figure 2.3a).

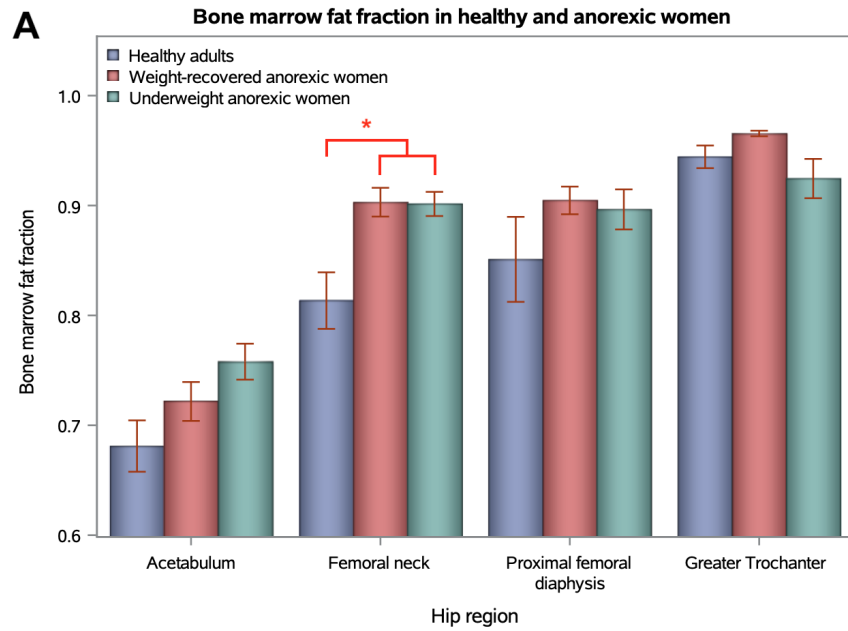
Concernant les patterns de profil lipidique, la valeur de l'aLUL était significativement plus élevée à l'acétabulum par rapport aux autres régions chez les patientes anorexiques (quel que soit l'IMC). Au contraire, les volontaires saines avaient une valeur moyenne d'aLUL significativement plus élevée à l'acétabulum comparativement au grand trochanter ou à la diaphyse fémorale proximale ($12.7 \pm 2.5\%$ versus $7.1 \pm 1.4\%$ ou $8.4 \pm 2.4\%$ respectivement), mais pas au col fémoral ($9.2 \pm 1.5\%$) (Table 2.2 et Figure 2.3b).

Relations entre BMFF, aLUL et DMO chez les patientes anorexiques

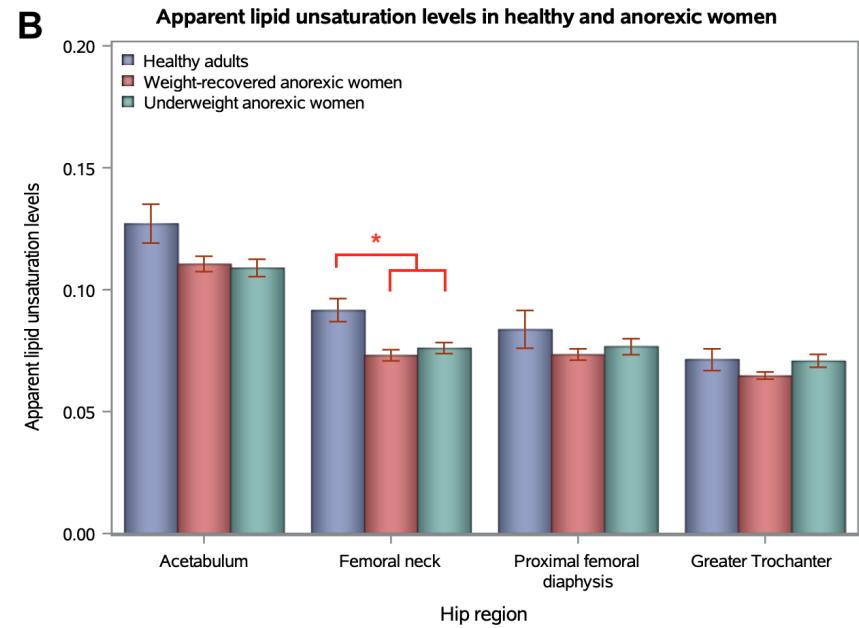
Une corrélation négative forte entre aLUL et BMFF a été observée, avec un coefficient de Spearman de -0.88 lorsque l'on prend en compte toutes les sous-régions, et des coefficients compris entre -0.89 et -0.74 lorsque l'on considère individuellement chaque région ($p < 0.0001$; Table 2.3 et Figure 2.4a). Cette corrélation reste forte lorsque l'on analyse indépendamment chaque sous-groupe ($p < 0.0001$; Tables 2.4 et 2.5). En comparaison, une corrélation négative forte entre aLUL et BMFF était aussi observée parmi les volontaires saines ($\rho = -0.92$, $p < 0.0001$; Figure 2.4b).

Parmi toutes les patientes suivies pour AN, et après ajustement pour l'IMC et le statut aménorrhéique, une corrélation négative significative entre BMFF et DMO à la hanche totale était observée à l'acétabulum, au col fémoral (Figure 2.5) et à la diaphyse fémorale proximale (coefficients de corrélation de Spearman de -0.30 , -0.32 et -0.29 respectivement, $p < 0.05$; Table 2.3). Cependant, dans l'analyse en sous-groupe, une corrélation négative significative entre BMFF et DMO à la hanche totale n'était observée qu'à la diaphyse fémorale proximale des patientes en sous-poids ($\rho = -0.36$, $p = 0.04$; Table 2.4) et à l'acétabulum et au col fémoral des patientes ayant récupéré un IMC normal (respectivement $\rho = -0.42$ et $\rho = -0.41$, $p < 0.05$; Table 2.5). Une corrélation positive significative était aussi observée entre aLUL et DMO à la hanche totale à l'acétabulum, au col fémoral et au grand trochanter (respectivement $\rho = 0.37$, $\rho = 0.33$ et $\rho = 0.25$, $p < 0.05$) (Table 2.3).

Chez les patientes anorexiques en sous-poids, une corrélation positive était statistiquement significative uniquement à la diaphyse fémorale proximale et au grand trochanter (respectivement $\rho = 0.41$ et $\rho = 0.44$, $p < 0.05$; Table 2.4), alors que chez les patientes ayant récupéré un IMC normal, seules les mesures au col fémoral étaient significatives ($\rho = 0.41$, $p = 0.03$; Table 2.5).



(A) BMFF à la hanche



(B) aLUL à la hanche

FIGURE 2.3 – **Fraction en graisse médullaire (BMFF, A) et taux apparent d'insaturation lipidique (aLUL, B)** au sein de 4 sous-régions de la hanche de patientes anorexiques et volontaires saines. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type. Les astérisques montrent une différence significative entre les patientes anorexiques et les volontaires saines, concernant la BMFF et l'aLUL.

	Acétabulum		Col fémoral		Diaphyse fémorale		Grand trochanter	
	ρ	p	ρ	p	ρ	p	ρ	p
FRACTION EN GRAISSE MÉDULLAIRE (BMFF)								
DMO (hanche totale)	-0.30	0.01	-0.32	0.01	-0.29	0.02	-0.22	0.08
DMO (col fémoral)	—	—	-0.20	0.12	—	—	—	—
aLUL	-0.89	<0.0001	-0.80	<0.0001	-0.74	<0.0001	-0.79	<0.0001
Pourcentage en graisse corporelle	0.22	0.07	0.35	<0.01	0.19	0.12	0.06	0.61
TAUX APPARENT D'INSATURATION LIPIDIQUE (ALUL)								
DMO (hanche totale)	0.37	<0.01	0.33	<0.01	0.22	0.08	0.25	0.04
DMO (col fémoral)	—	—	0.20	0.12	—	—	—	—
Pourcentage en graisse corporelle	-0.23	0.06	-0.33	<0.01	-0.18	0.15	-0.12	0.32

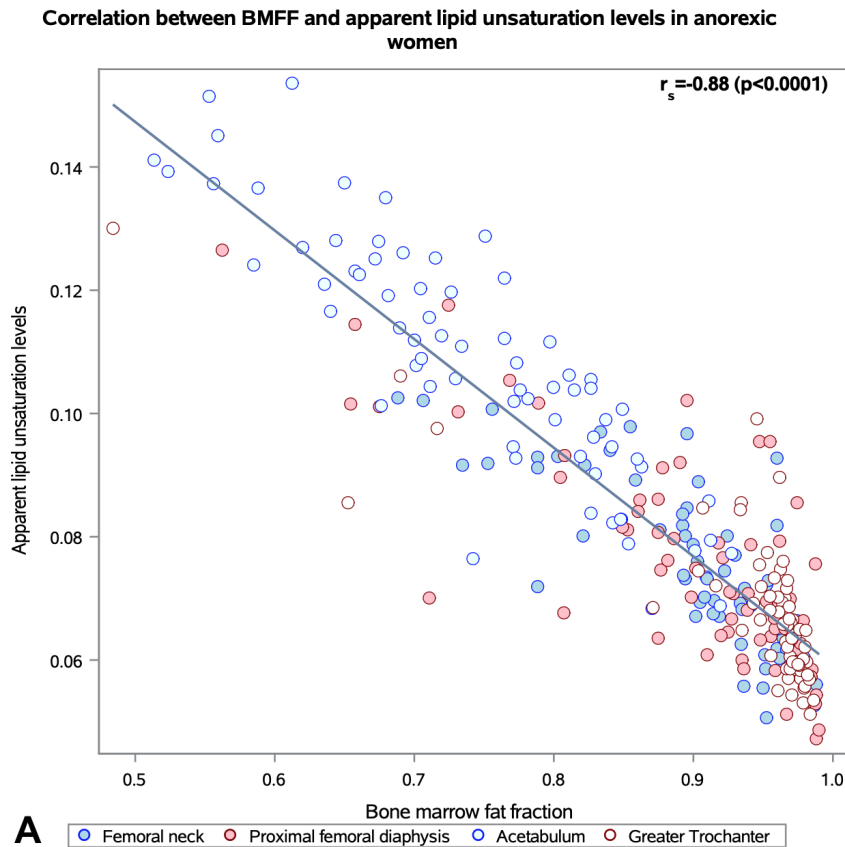
TABLE 2.3 – Coefficients de corrélation de Spearman de 4 sous-régions de la hanche de femmes suivies pour anorexie mentale (en sous-poids et ayant récupéré un poids normal), entre la fraction en graisse médullaire (BMFF), le taux apparent d'insaturation lipidique (aLUL), la densité minérale osseuse (DMO) à la hanche totale, la DMO au col fémoral et le pourcentage en graisse corporelle, ajustés sur l'indice de masse corporelle et le statut aménorrhéique. Les valeurs significatives apparaissent en rouge et en gras.

	Acétabulum		Col fémoral		Diaphyse fémorale		Grand trochanter	
	ρ	p	ρ	p	ρ	p	ρ	p
FRACTION EN GRAISSE MÉDULLAIRE (BMFF)								
DMO (hanche totale)	-0.24	0.15	-0.24	0.17	-0.36	0.04	-0.23	0.18
DMO (col fémoral)	—	—	-0.08	0.65	—	—	—	—
aLUL	-0.88	<0.0001	-0.81	<0.0001	-0.75	<0.0001	-0.87	<0.0001
Pourcentage en graisse corporelle	0.45	0.01	0.41	0.01	0.25	0.15	0.07	0.69
TAUX APPARENT D'INSATURATION LIPIDIQUE (ALUL)								
DMO (hanche totale)	0.31	0.07	0.25	0.14	0.41	0.02	0.44	0.01
DMO (col fémoral)	—	—	0.10	0.57	—	—	—	—
Pourcentage en graisse corporelle	-0.42	0.01	-0.29	0.09	-0.27	0.12	-0.17	0.32

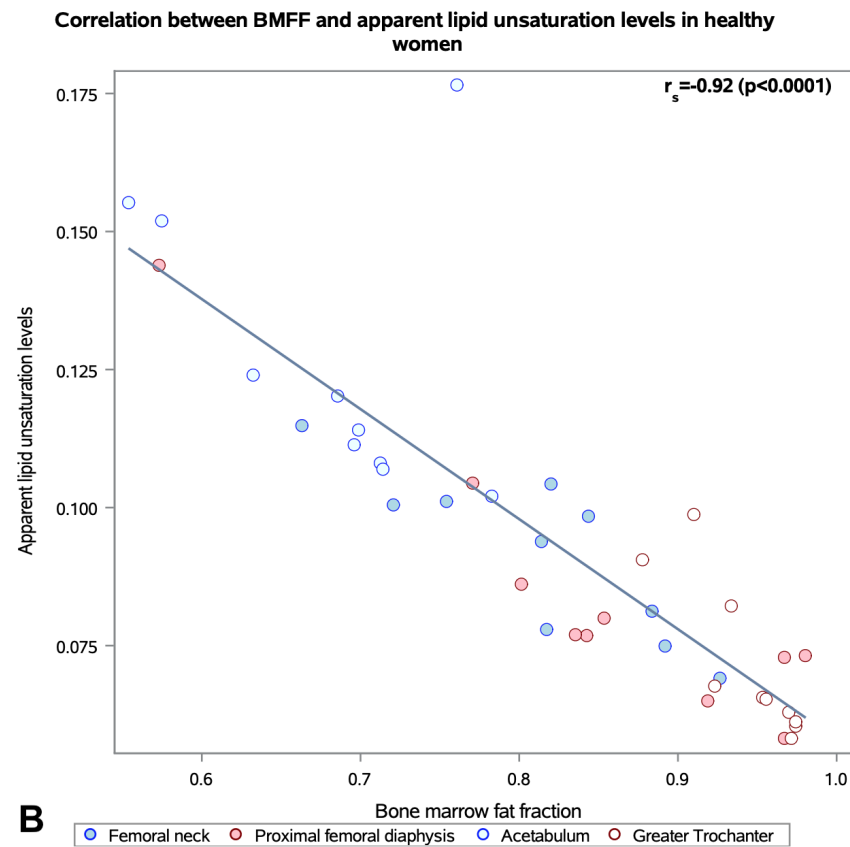
TABLE 2.4 – Coefficients de corrélation de Spearman de 4 sous-régions de la hanche de femmes suivies pour anorexie mentale (en sous-poids), entre la fraction en graisse médullaire (BMFF), le taux apparent d'insaturation lipidique (aLUL), la densité minérale osseuse (DMO) à la hanche totale, la DMO au col fémoral et le pourcentage en graisse corporelle, ajustés sur l'indice de masse corporelle et le statut aménorrhéique. Les valeurs significatives apparaissent en rouge et en gras.

	Acétabulum		Col fémoral		Diaphyse fémorale		Grand trochanter	
	ρ	p	ρ	p	ρ	p	ρ	p
FRACTION EN GRAISSE MÉDULLAIRE (BMFF)								
DMO (hanche totale)	-0.42	0.02	-0.41	0.03	-0.18	0.34	-0.17	0.35
DMO (col fémoral)	—	—	-0.35	0.07	—	—	—	—
aLUL	-0.87	<0.0001	-0.80	<0.0001	-0.72	<0.0001	-0.72	<0.0001
Pourcentage en graisse corporelle	0.06	0.76	0.34	0.06	0.11	0.58	0.24	0.19
TAUX APPARENT D'INSATURATION LIPIDIQUE (ALUL)								
DMO (hanche totale)	0.28	0.15	0.41	0.03	-0.05	0.79	-0.13	0.50
DMO (col fémoral)	—	—	0.34	0.08	—	—	—	—
Pourcentage en graisse corporelle	-0.04	0.85	-0.37	0.04	-0.03	0.89	-0.14	0.47

TABLE 2.5 – Coefficients de corrélation de Spearman de 4 sous-régions de la hanche de femmes suivies pour anorexie mentale (ayant récupéré un poids normal), entre la fraction en graisse médullaire (BMFF), le taux apparent d'insaturation lipidique (aLUL), la densité minérale osseuse (DMO) à la hanche totale, la DMO au col fémoral et le pourcentage en graisse corporelle, ajustés sur l'indice de masse corporelle et le statut aménorrhéique. Les valeurs significatives apparaissent en rouge et en gras.



(A) Patientes suivies pour anorexie mentale



(B) Volontaires saines

FIGURE 2.4 – **Corrélation négative forte entre fraction en graisse médullaire (BMFF) et taux apparent d'insaturation lipidique (aLUL)** à la hanche de patientes suivies pour anorexie mentale (A) et des volontaires saines (B), suggérant une relation étroite entre le profil lipidique de l'adiposité médullaire et son importance quantitative. r_s : coefficient de Spearman global (prenant en compte toutes les régions), ajusté sur l'indice de masse corporelle et le statut aménorrhéique.

Enfin, aucune association significative n'a pu être mise en évidence entre DMO au col fémoral et BMFF ou aLUL au col fémoral (Table 2.3 et Figure 2.5).

Relations entre adiposité médullaire et graisse corporelle

Concernant la BMFF, une corrélation positive modérée avec le pourcentage en graisse corporelle n'était retrouvée qu'au col fémoral, lorsque l'on prend en compte toutes les patientes anorexiques ($\rho = 0.35, p < 0.01$) (Table 2.3 et Figure 2.5), alors qu'une corrélation proche du seuil de significativité a été mise en évidence chez les femmes anorexiques ayant récupéré un IMC normal pour cette même région ($\rho = 0.34, p = 0.06$; Table 2.5). Chez les femmes anorexiques en sous-poids, une corrélation positive significative était observée au col fémoral et à l'acétabulum (respectivement $\rho = 0.41$ et $\rho = 0.45, p = 0.01$; Table 2.4).

De manière similaire, concernant l'aLUL, une corrélation négative avec le pourcentage en graisse corporelle était observée au col fémoral lorsque l'on prenait en compte toutes les patientes anorexiques ou en ne considérant que les patientes anorexiques ayant récupéré un IMC normal (respectivement $\rho = -0.33$ et $\rho = -0.37, p < 0.05$; Figure 2.5) (Tables 2.3 et 2.5). Chez les patientes en sous-poids, une corrélation négative significative n'était observée qu'à l'acétabulum ($\rho = -0.42, p = 0.01$; Table 2.4).

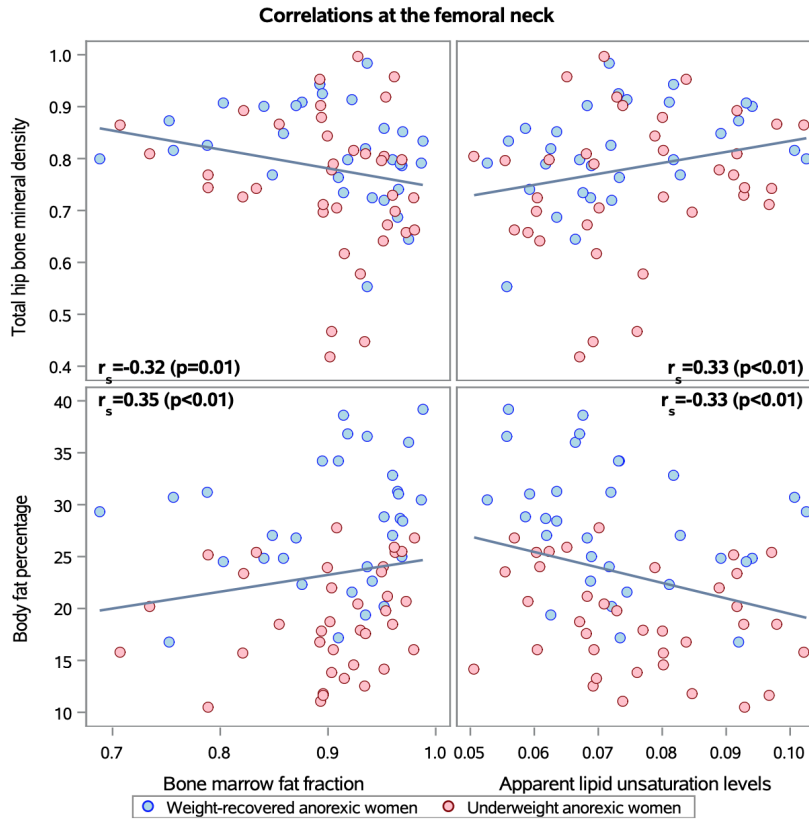


FIGURE 2.5 – **Corrélations entre la fraction en graisse médullaire (BMFF) ou le taux apparent d'insaturation lipidique (aLUL), et la densité minérale osseuse (DMO) à la hanche totale ou le pourcentage en graisse corporelle, au col fémoral de patientes suivies pour anorexie mentale.** Des corrélations négatives ont été observées entre la BMFF et la DMO à la hanche totale, ainsi qu'entre l'aLUL et le pourcentage en graisse corporelle, alors qu'une corrélation significative positive et une tendance positive ont été constatées entre la BMFF et le pourcentage en graisse corporelle, et entre l'aLUL et la DMO à la hanche totale. Les coefficients de corrélation de Spearman (r_s) et le degré de significativité (p) sont indiqués, ainsi que la tendance de régression linéaire.

2.4 Discussion

L'AdMéd a des caractéristiques spectrales propres, accessibles *in vivo* par IRM et dont certains paramètres quantitatifs peuvent potentiellement être des biomarqueurs d'imagerie. Pour mieux comprendre le fonctionnement de ce tissu sous-estimé, nous avons évalué les caractéristiques régionales de l'AdMéd à la hanche de patientes anorexiques, en étudiant à la fois son importance quantitative et son profil qualitatif, à travers les paramètres quantitatifs que sont la BMFF et l'aLUL, obtenus par ^1H -MRS. Nous avons ainsi pu observer une BMFF plus élevée et un aLUL plus faible au col fémoral de patientes anorexiques comparativement à des volontaires saines, alors qu'aucune différence n'a pu être relevée entre patientes anorexiques (en sous-poids ou ayant récupéré un IMC normal), quel que soit la sous-région étudiée. De

plus, une corrélation inverse forte entre BMFF et aLUL a pu être démontrée, ainsi que des patterns régionaux d'**AdMéd** et une relation étroite entre **AdMéd** et DMO. Ces éléments suggèrent des altérations du contenu osseux pouvant potentiellement favoriser des fractures de contrainte si l'on considère l'implication de l'**AdMéd** dans la résistance osseuse au stress mécanique [5]. Ces observations sont en accord avec les travaux précédemment publiés, ciblant la hanche et le rachis de femmes anorexiques [7, 93].

Caractéristiques régionales de l'adiposité médullaire à la hanche

Selon le *Diagnostic and Statistical Manual*, une des caractéristiques fondamentales de l'AN est l'altération des apports nutritionnels [91]. La réduction drastique de la graisse corporelle qui survient chez ces patientes est associée à une augmentation du risque fracturaire et de profondes modifications de la composition et de la microarchitecture osseuse. Un élargissement de l'espace trabéculaire a en effet été rapporté dans les os portants comme le tibia [95, 96]. Dans une étude basée sur un registre national, Vestergaard et *al.* a observé une augmentation significative du risque fracturaire au col fémoral chez les femmes ayant une AN, avec un ratio du taux d'incidence à 7.17 (intervalle de confiance à 95% = 3.36–15.3) contre 3.49 (1.50–8.11) au rachis [8]. Une augmentation de la BMFF a été également observée après certaines chirurgies bariatriques (notamment la *sleeve-gastrectomy*), connues pour avoir des effets négatifs sur le métabolisme osseux et pour favoriser des fractures de contrainte [97, 15, 8]. Ces résultats suggèrent que les compartiments minéral et non-minéral osseux doivent atteindre un équilibre pour maintenir une résistance mécanique satisfaisante. Par conséquent, la compréhension des variations régionales de la BMFF est essentielle pour décortiquer les mécanismes pathologiques qui précèdent les complications squelettiques dans des conditions de restriction des apports énergétiques, et celles qui ralentissent la récupération osseuse après rétablissement d'un poids normal.

De plus, l'**AdMéd** est une entité complexe et fonctionnellement distincte des autres tissus adipeux. Chez les rongeurs, 2 sous-populations adipocytaires ont été identifiées au sein des parties proximales et distales du tibia, avec des propriétés cellulaires propres [80]. Sur le plan histologique, des régions comprenant une faible hématopoïèse et des taux d'insaturation élevés (également appelées "moelle jaune") contrastent avec les régions comprenant une hématopoïèse active et un faible taux d'insaturation lipidique ("moelle rouge"). Cette dernière population s'adapte et est plus sensible aux changements physiopathologiques, à l'âge et aux fluctuations hormonales [80, 10, 98]. Bien que des différences soient visibles sur les séquences T1w, de discrètes variations dans la composition de l'**AdMéd** peuvent ne pas être détectées qualitativement. Par conséquent, nous avons utilisé la ^1H -MRS pour obtenir un aperçu plus précis du contenu adipeux médullaire et de sa composition, à de multiples sous-régions de la hanche. Le positionnement des VOI a été standardisé afin d'acquérir des mesures

reproductibles et comparables, tout en couvrant un volume relativement large (2 mL) d'os spongieux.

Dans notre étude, la BMFF variait selon les régions de la manière suivante : acétabulum < diaphyse fémorale proximale \approx col fémoral < grand trochanter, avec des variations minimales selon le statut de la maladie et l'IMC. Bien que de plus grandes quantités d'**AdMéd** fussent observées au grand trochanter, cette région de la hanche est la moins sollicitée par les contraintes en charge. Au contraire, le col fémoral est plus exposé à la compression axiale. Étant donné que les patientes anorexiques ont des valeurs de BMFF plus élevée dans cette région comparée aux volontaires saines, et qu'il existe une relation inverse existante entre BMFF et DMO à la hanche totale, ces résultats pourraient expliquer partiellement la fragilité osseuse survenant à cette localisation [8].

Après la récupération d'un IMC normal chez des patientes suivies pour AN, la DMO à la hanche retourne progressivement à une valeur normale malgré un risque de fracture élevé pouvant persister jusqu'à 10 après la maladie [78, 8, 96, 99]. Fazeli et *al.* n'ont pas trouvé de différence concernant la BMFF à la hanche de volontaires saines, en sous-poids ou ayant récupéré un poids normal [90]. Au contraire, nous avons observé une altération du profil lipidique de l'**AdMéd** au col fémoral de femmes anorexiques comparées aux témoins, mais pas entre les patientes anorexiques, quel que soit leur IMC. Ce résultat est important car il soulève 2 points qui peuvent contribuer à la persistance du risque fracturaire. Premièrement, la récupération d'un IMC normal n'est pas suffisante pour restaurer une **AdMéd** normale. Dans notre étude, les patientes anorexiques ayant un IMC normal ne l'ont normalisé que récemment (en moyenne 1.5 années) et sont toujours suivies pour troubles du comportement alimentaire. Par ailleurs, 61.1% d'entre elles sont aménorrhéiques. Ces derniers éléments peuvent affecter le métabolisme osseux et adipeux. Par ailleurs, comme la DHEA et l'administration d'œstrogène/progestine peuvent arrêter les perturbations de l'**AdMéd** liées à l'anorexie, la persistance d'une **AdMéd** en quantité anormale pourrait indiquer une dysfonction hormonale qui perdure malgré la récupération du poids [100]. Deuxièmement, l'**AdMéd** semble avoir des caractéristiques régionales propres. Nous avons rapporté des modifications significatives de l'**AdMéd** au col fémoral de femmes anorexiques comparativement à des volontaires saines, mais pas dans les autres sous-régions anatomiques. Il en résulte que l'**AdMéd** pourrait avoir une cinétique de récupération différente selon ces sous-régions. En particulier, les variations différentielles évolueraient aux dépens du col fémoral, où nous rapportons une accumulation anormale persistante de l'**AdMéd** chez les patientes ayant un IMC normal, comparativement aux volontaires saines. Vajapeyam et *al.* ont également décrit des variations des caractéristiques de l'**AdMéd** selon la région anatomique dans la diaphyse fémorale distale de filles adolescentes suivies pour AN, et selon l'administration d'un placebo ou de DHEA et d'œstrogène/progestine [100]. Ces données corroborent l'existence de patterns régionaux de l'**AdMéd**, et du besoin de mieux prendre en

considération les régions étudiées, notamment dans les études longitudinales.

Un autre point intéressant relevé par notre étude est l'absence d'association significative observée entre la BMFF au col fémoral et la DMO pour cette même sous-région, contrastant avec les données de la littérature [81]. 2 raisons peuvent partiellement expliquer l'absence de significativité statistique. Tout d'abord, le col fémoral est le plus enclin à une variabilité liée au positionnement du patient et est la région possédant une erreur de précision plus élevée que la DMO mesurée à la hanche totale. Par conséquent, des biais inhérents peuvent affecter les comparaisons statistiques. Aussi, nous avons observé une corrélation négative entre ces deux paramètres et l'analyse en sous-groupe impliquant les femmes anorexiques ayant un IMC normal ($\rho = -0.35$, $p = 0.07$), et un coefficient de corrélation de Spearman quasi-nul dans le groupe de patientes en sous-poids ($\rho = -0.08$, $p = 0.65$). L'évolution de l'**AdMéd** et de la DMO pourrait dépendre de facteurs multiples, et atteindre un plateau chez les patientes anorexiques en sous-poids.

Alors que ces caractéristiques régionales montrent une variabilité dans la quantité d'**AdMéd**, son profil lipidique, évalué par l'aLUL, montre moins de variabilité à la hanche. Les valeurs moyennes d'aLUL étaient plus élevées à l'acétabulum qu'au grand trochanter, au col fémoral et à la diaphyse fémorale proximale chez les femmes anorexiques. Au contraire, l'aLUL au col fémoral des volontaires saines reste significativement plus faible comparé aux femmes anorexiques. Yeung et *al.* suggèrent que les modifications de la composition de l'**AdMéd** pourraient fragiliser la solidité osseuse, à partir d'observations montrant une réduction comparable des lipides insaturés au rachis lombaire chez des patients ostéoporotiques [73].

Au final, nous avons observé une corrélation négative entre BMFF et aLUL dans ces sous-régions. Cette relation, observée autant chez les volontaires saines que chez les patientes anorexiques, ne semble pas spécifique à la maladie. De plus, la force de cette corrélation reste d'interprétation délicate, étant donné que des explications méthodologiques et physiologiques pourraient être intriquées. Tout d'abord, les valeurs T_2 de l'eau contenu dans l'**AdMéd** sont connues pour être inversement corrélées à la PDFFF [63], et des modifications du T_2 des lipides médullaires peuvent apparaître lorsque l'IMC augmente [100]. Comme nous n'avons pu mesurer que des fractions en graisse pondérées en T_2 , la surestimation de la BMFF observée pourrait être secondaire au moins partiellement à un effet T_2 . Néanmoins, la diminution des lipides insaturés et l'augmentation des lipides saturés ont aussi été décrites dans des conditions favorisant l'accumulation d'**AdMéd** [73, 101]. Parce qu'un contenu élevé en acides gras saturés peut aussi induire une sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (telles que les IL-6, situation existante chez les patientes suivies pour AN [101, 102]), un effet synergique d'une augmentation de l'**AdMéd** et d'une altération de sa composition lipidique pourrait survenir au-dessus d'un certain seuil. Ce phénomène pourrait jouer un rôle actif dans le métabolisme osseux et sa fragilisation, favorisant ainsi des fractures de contrainte chez les femmes anorexiques, quel que soit leur IMC.

Relation entre adiposité médullaire et composition corporelle

La DEXA fournit facilement des paramètres de composition corporelle, comme le pourcentage en graisse corporelle. Dans notre étude, nous avons observé une corrélation positive significative mais modérée entre ce dernier paramètre et la BMFF au col fémoral des patientes anorexiques. Cependant, ce résultat contraste avec d'autres études qui rapportent une corrélation négative entre l'**AdMéd** et les autres dépôts en graisse [7]. L'explication reste incertaine, mais 2 éléments critiques pourraient intervenir dans ces différences.

Tout d'abord, la technique utilisée pour l'évaluation de la composition corporelle peut potentiellement affecter la précision des résultats. Bien que la DEXA soit acceptable et bien corrélée aux paramètres de composition corporelle dans l'AN, la tomодensitométrie et l'IRM ont un niveau de précision supérieur pour évaluer séparément les tissus adipeux viscéraux et sous-cutanés [103]. Fazeli et *al.* ont rapporté une corrélation positive entre **AdMéd** et pourcentage en graisse corporelle à l'épiphyse fémorale proximale en utilisant la DEXA [90]. D'un autre côté, Bredella et *al.* ont souligné une corrélation négative significative entre contenu adipeux médullaire à la métaphyse fémorale proximale et à la diaphyse fémorale [7].

Deuxièmement, les patientes anorexiques en sous-poids et ayant récupéré un IMC normal sont en cours de prise en charge thérapeutique, avec un suivi diététique et nutritionnel en cours, ce qui peut également avoir un impact sur l'**AdMéd** et ses relations avec les tissus adipeux périphériques.

Cependant, concernant l'**AdMéd**, nous avons montré que l'aLUL au col fémoral était significativement et négativement corrélé avec le pourcentage en graisse corporelle dans notre étude. De précédents travaux ont aussi rapporté des corrélations négatives entre composition médullaire et les autres compartiments adipeux comme la graisse sous-cutanée ou viscérale, évalués par IRM [84]. Par conséquent, les corrélations entre **AdMéd** et composition corporelle sont partiellement conflictuelles avec la littérature, soulignant l'importance d'une méthodologie standardisée, et renforçant l'idée que la relation entre ces 2 entités, bien que proches, est d'origine multifactorielle et évolue avec une cinétique différente selon la récupération de la maladie.

Limites de l'étude

Notre étude possède 4 limites principales. Premièrement, il s'agit d'une étude transversale, ne permettant pas de réaliser des hypothèses de causalité. De plus, comme nos critères d'inclusion comprenaient des patientes anorexiques ayant un suivi hospitalier, celles-ci appartenaient à une sous-population de patientes, prises effectivement en charge et/ou motivées à être suivies. Pour limiter ces facteurs de confusion, les corrélations ont été ajustées pour l'IMC et le statut aménorrhéique, connus pour être des facteurs prédictifs de la DMO au cours du suivi [104].

Deuxièmement, le nombre de volontaires saines est limité, étant donné que le but principal de l'étude était d'évaluer l'**AdMéd** dans plusieurs régions de la hanche de femmes anorexiques. Cependant, ce nombre est similaire à celui d'autres études [7, 48], et nous avons sélectionné un groupe de témoins composé uniquement de femmes d'âge similaire pour améliorer la précision statistique. Par ailleurs, bien qu'aucune de ces volontaires n'ait d'antécédent personnel ou familial, ni de suspicion d'ostéopénie, nous n'avons pas réalisé de mesure de la DMO à la hanche.

Troisièmement, la ^1H -MRS est une technique avancée d'imagerie sensible aux artefacts. Approximativement 7% de nos acquisitions n'ont pas rempli les critères de qualité. De plus, en n'utilisant qu'un seul temps d'écho, aucune correction T_2 n'a pu être appliquée [21] et la BMFF rapportée est ainsi affectée et pondérée par les effets T_2 , d'autant que l'IMC est un modificateur connu du temps de relaxation T_2 de l'eau et des lipides [100, 63, 105]. Ces mêmes remarques s'appliquent également à l'aLUL, qui peut aussi être affecté par les modulations J [105]. Cependant, toutes ces analyses ont été réalisées sur la même IRM, et dans des conditions strictement identiques, ce qui permet une meilleure comparabilité intergroupe. Concernant la DEXA, la composition corporelle n'était pas ajustée pour l'eau corporelle, potentiellement responsable de variations chez les femmes anorexiques [103].

Enfin, même si la ^1H -MRS est considérée comme étant le *gold-standard* pour évaluer l'**AdMéd** *in vivo*, cette modalité d'imagerie ne permet pas de discriminer les dépôts anormaux de graisse provenant d'une reconversion de moelle rouge en moelle jaune. D'autres études sont requises pour mieux décrire les mécanismes pathologiques sous-jacents à l'accumulation d'**AdMéd** chez les patientes suivies pour AN. Des cartographies paramétriques générées à partir de séquences de **QCSI** pourraient être une manière d'améliorer l'analyse de l'**AdMéd** dans des maladies comme l'AN, en permettant une évaluation plus large des variations régionales.

2.5 Conclusion

Notre étude a permis de souligner des altérations de l'**AdMéd** au col fémoral de patientes suivies pour AN, comparativement à des volontaires saines, quel que soit l'IMC. En étudiant les caractéristiques régionales de l'**AdMéd** de ces femmes, nous avons aussi pu décrire des patterns régionaux et des corrélations significatives entre BMFF, aLUL, DMO à la hanche totale, et pourcentage de graisse corporelle. Nos données suggèrent un profil lipidique médullaire d'évolution lente, avec des spécificités régionales, et des altérations pouvant persister après récupération d'un poids normal. Ces éléments pourraient potentiellement affecter le métabolisme osseux et le fragiliser en contribuant à la survenue de fractures de contrainte à la hanche et en particulier au col fémoral. L'étude des caractéristiques de l'**AdMéd** à cette localisation particulière pourrait être utile pour évaluer le risque fracturaire à long terme chez ces patientes.

Chapitre 3

Promouvoir : vers un nouveau biomarqueur en imagerie ?

3.1 Communication et standardisation

Qu'est-ce qu'un biomarqueur en imagerie ?

Un biomarqueur se doit d'être précis, reproductible, et robuste. La PDFF est le paramètre quantitatif s'approchant le mieux de ces critères pour l'évaluation de l'**AdMéd** [58]. Cependant, pour que cette mesure ait un intérêt clinique, deux autres qualités sont nécessaires. D'une part, à l'échelle *individuelle*, un biomarqueur en imagerie se doit d'être fortement corrélé à la pathologie ou la cible biologique qu'elle représente, pour orienter et guider la prise en charge thérapeutique [106]. D'autre part, pour permettre d'explorer une plus grande partie d'une population de patients, la mesure de la PDFF doit pouvoir s'intégrer aisément dans le *workflow* de l'interprétation radiologique.

Par conséquent, les cartographies paramétriques générées par les techniques de QCSI apparaissent être les plus pertinentes, notamment par leur facilité d'utilisation et d'intégration sur les consoles d'interprétation. Leur répétabilité est excellente, avec une erreur de précision absolue de 1.7% pour l'évaluation de la PDFF par QCSI au rachis [43], et une bonne reproductibilité, avec un coefficient de variation inter-observateur entre 0.9 % et 2.2% [32, 70]. L'excellente corrélation avec la cellularité médullaire osseuse obtenue *ex vivo* sur des vertèbres de cadavres humains [67] ne permet que d'appuyer la validité de ce paramètre quantitatif en tant que biomarqueur.

Communications et homogénéisation

Bien que les éléments précédents apparaissent cohérents devant les justifications existantes dans la littérature, la majorité des publications quantifiant l'**AdMéd** se fait selon une méthodologie insuffisamment discutée et responsable de l'utilisation d'une terminologie parfois ambiguë entre BMFF et PDFF.

Une partie de ma thèse a été de participer aux conférences et groupes de travail organisés par la société internationale sur l'**AdMéd** (*International Bone Marrow Adiposity Society*). La 1^{ère} conférence a eu lieu en 2015 à Lille et a été organisée par le laboratoire Physiopathologie des Maladies Osseuses Inflammatoires (PMOI) dans lequel j'étudie en tant que doctorant. Cette société comporte actuellement des scientifiques reconnus venant d'Europe, des États-Unis et d'Asie. J'ai ainsi pu intervenir à 2 reprises notables :

— Lors des 4^{èmes} rencontres internationales sur l'**AdMéd**, organisées une nouvelle fois à Lille, en tant que conférencier invité afin d'exposer les différentes techniques en imagerie pour explorer l'**AdMéd** *in vivo* chez l'Homme, leurs limites et les conditions nécessaires pour les utiliser de manière fiable.

Imaging bone marrow adiposity in human studies :What is inside my toolbox ? A radiologist's point of view.

Bone marrow adiposity (BMA) is a body compartment which is largely underestimated by the medical community, even by musculoskeletal radiologists. Knowledge of the strengths and weaknesses of the different imaging options available in clinical centers provides key information to build projects for the assessment of BMA. While computed tomography offers a reliable approach to appraise bone mineral content, magnetic resonance imaging (MRI) is a powerful tool to assess its fat component. However, the complexity of this imaging modality requires many considerations to explore accurately BMA. Among the various possibilities, single-voxel proton magnetic resonance spectroscopy and quantitative chemical-shift imaging are the most promising sequences to evaluate marrow composition at a molecular level and generate parametric maps. The main imaging biomarker which results from these acquisitions is the bone marrow fat fraction (BMFF), commonly reported in the literature to quantify BMA and to perform follow-up of diseases with bone marrow infiltration. However, the interface between trabecular bone and bone marrow is responsible for strong local magnetic inhomogeneities during MRI acquisitions and a T_2^* correction is needed to measure the true proton-density fat fraction (PDFF). After controlling for this effect and taking into account other biases, like the T_1 bias, MRI becomes an accessible imaging option, available in the toolbox of most clinical centers.

— Au décours de cette rencontre, et tout au long de l'année 2018–2019, j'ai participé activement, en binôme avec le Dr. Karampinos, sur la partie *Imaging in vivo* du groupe de travail de Méthodologie de la BMAS sur l'exploration de l'**AdMéd**. Un manuscrit résumant l'ensemble des recommandations et points-clés méthodologiques devant être soulevés lors des études sur le sujet a été récemment soumis et fait actuellement l'objet d'un reviewing interactif avant publication.

Bone Marrow Adiposity : a review of methodological standards and challenges towards harmonization

The interest in bone marrow adiposity (BMA) has increased over the last decade due to its association with, and possible role, in a range of diseases (osteoporosis, diabetes, anorexia, cancer) as well as treatments (corticosteroid, radiation, chemotherapy, thiazolidinediones). However, to advance the field of BMA research, standardization of methods is desirable to increase comparability of study outcomes and foster collaboration. This review examines existing and emerging methodologies to study BMA, and discusses their associated challenges.

L'ensemble de ces interventions a pour objectif de communiquer sur les techniques pouvant être utilisées et insister sur la terminologie devant être employée (PDFF versus BMFF) et les biais devant être pris en compte lors d'une évaluation quantitative de l'**AdMéd** dans les études cliniques.

3.2 Initiation de l'étude ADIMOS

Rationnel et initiation de l'étude

De nombreuses études cliniques portées sur l'**AdMéd** soulignent le lien étroit entre minéralisation osseuse et contenu adipeux intra-osseux. Après la ménopause, la PDFF est significativement élevée chez les patientes ostéoporotiques [82]. Cette relation inverse entre **AdMéd** et DMO, démontrée principalement au rachis, et la corrélation entre résistance mécanique vertébrale et **AdMéd** font de la PDFF un biomarqueur potentiel à évaluer dans la prise en charge de l'ostéoporose [82, 5]. Cependant, l'impact clinique reste encore mal étudié, la majorité des études étant transversales.

En effet, le *gold-standard* actuellement utilisé pour confirmer une ostéoporose avant la survenue d'une fracture liée à un traumatisme de faible énergie est l'absorptiométrie biphotonique à rayons X (DEXA). Un T-score inférieur ou égale à -2.5 permet de retenir une ostéoporose densitométrique. Cependant, cet outil manque de sensibilité notamment à la hanche, étant donné que près de 50% des patientes ostéopéniques —ayant un T-score supérieur à ce seuil mais inférieur à -1— auront potentiellement une fracture secondaire à un traumatisme de faible énergie [107].

Évaluer l'**AdMéd** par l'intermédiaire d'une technique non invasive d'imagerie, aisément applicable en routine clinique, pourrait apporter des éléments supplémentaires dans l'évaluation du risque fracturaire chez les femmes ménopausées. À cette fin, l'étude ADIMOS (*Adiposité Médullaire et Ostéoporose*) a été initiée par le Pr. Julien Paccou, rhumatologue au Centre Hospitalier et Régional Universitaire de Lille. J'y participe activement en tant que co-investigateur, supervisant le protocole d'imagerie et les acquisitions. Cette étude a ainsi été l'opportunité de mettre en pratique les connaissances acquises au décours des échanges avec l'équipe du Dr. Karampinos, du groupe de travail de Méthodologie et de la revue de la littérature que j'ai précédemment réalisée. Elle est ainsi la continuité de ce travail de thèse —les inclusions n'étant pas terminées— et promeut l'utilisation de la PDFF comme potentiel biomarqueur, en l'évaluant au sein d'une étude dédiée comprenant des répercussions cliniques potentielles.

Objectif principal

Évaluer l'association entre **AdMéd** mesurée au rachis lombaire et les fractures de faible traumatisme chez des femmes ménopausées, en comparant la PDFF de patientes avec au moins une fracture (*cas*) à un groupe de patientes sans fracture (*témoins*) obtenue en IRM par QCSI.

Objectifs secondaires

1. Évaluer l'association entre **AdMéd** mesurée à la hanche (non dominante) et les fractures de faible traumatisme chez des femmes ménopausées en comparant la PDFF de patientes avec au moins une fracture (*cas*) à un groupe de patientes sans fracture (*témoins*).
2. Chez les *cas* et les *témoins*, évaluer l'association entre **AdMéd** au rachis et la DMO au rachis.
3. Chez les *cas* et les *témoins*, évaluer l'association entre **AdMéd** à la hanche et la DMO à la hanche.

Mise en place de l'étude

Design de l'étude

L'étude ADIMOS est une étude cas-témoins monocentrique réalisée au Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, comprenant une évaluation clinique et radiologique pour chaque patiente. Le recrutement des patientes, débuté en Décembre 2018, est longitudinal et est réalisé au décours de consultations hospitalières en rhumatologie, programmées ou réalisées en urgences, pour lombalgies ou fracture secondaire à un traumatisme de faible énergie. Cette étude a été validée par le comité d'éthique institutionnel.

Critères d'inclusion

Les patientes sont nécessairement des femmes ménopausées, âgées de 50 à 80 ans, ayant reçu une information et signé un consentement éclairé.

Le groupe *cas* est défini par la survenue d'au moins une fracture majeure (bassin, hanche, extrémité supérieure de l'humérus et vertèbres) liée à un traumatisme de faible énergie (chute de sa hauteur) après l'âge de 45 ans.

Le groupe *témoins* est défini par l'absence de survenue d'une fracture liée à un traumatisme de faible énergie après l'âge de 45 ans.

Critères de non-inclusion

Les critères de non-inclusion comprennent :

- Les antécédents pouvant interférer avec l'interprétation des résultats concernant l'association avec la maladie (ostéoporose) :
 - Fractures pathologiques
 - Pathologies ou traitements affectant le métabolisme osseux (corticothérapie, néoplasie mammaire traitée par hormonothérapie, malabsorption digestive, néoplasie digestive, dysparathyroïdie, dysthyroïdie non contrôlée, etc.)

- Patientes déjà sous traitement anti-ostéoporotique (bisphosphonates, ranélate de strontium, tériparatide ou dénosumab) en dehors d'une supplémentation en calcium et en vitamine D
- Insuffisance rénale chronique (clairance de la créatinine ≤ 30 mL/min)
- Les antécédents limitant l'exploration en imagerie :
 - Fracture sur prothèse ou port de matériel orthopédique (bassin, rachis, hanches)
 - Contre-indication à l'IRM : claustrophobie sévère, porteur de pacemaker/défibrillateur, implant cochléaire, neurostimulateur, IMC supérieur à 35 kg/m^2 ou poids supérieur à 140 kg
- Les situations administratives ne permettant pas une prise en charge ou une compréhension de la démarche de l'étude :
 - Personne incapable de donner personnellement son consentement
 - Personnes protégées (sous tutelle ou curatelle)
 - Patient non affilié à un régime de sécurité sociale

Évaluation densitométrique

La DMO (en g/cm^2) au rachis lombaire (L1 à L4) et à la hanche non dominante a été mesurée par DEXA (Discovery W, Hologic). L'indice de masse corporelle (IMC) est calculé au moment de la réalisation de l'évaluation densitométrique. Les paramètres quantitatifs de composition corporelle (IMC) et une étude de la morphologie vertébrale (VFA) sont ainsi obtenus.

Évaluation en IRM

Le protocole IRM comprend 2 parties (Table 3.1) :

- Une étude morphologique standard du rachis lombaire :
 - Séquence sagittale T_1 Dixon
 - Séquence sagittale T_2 Dixon
- Les acquisitions QCSI propres au protocole ADIMOS :
 - Séquence sagittale mDixon-Quant sur le rachis lombaire
 - Séquence coronale oblique (dans l'axe du col fémoral) mDixon-Quant sur la hanche non dominante (gauche)

Aussi, afin d'évaluer la pertinence de l'utilisation d'acquisitions QCSI, des séquences de spectroscopie protonique monovoxel ont été réalisées au sein du corps vertébral de L3 (ou de L2 si L3 est fracturée) et au col fémoral de la hanche non dominante afin d'évaluer les méthodes de mesure. Ces acquisitions ont été réalisées en STEAM avec les paramètres suivants : taille du voxel = $15 \times 15 \times 15 \text{ mm}^3$; TR/TE = 4000/10-16-18-22 ms ; nombre d'excitations = 8 ; temps mixte = 16 ms ; bande passante spectrale = 4000 Hz ; acquisition de 4096 points ; absence de suppression du signal de l'eau. Le plus haut pic spectral de la graisse est choisi pour réaliser un shimming de second ordre et le pic de l'eau est sélectionné manuellement pour ajuster la fréquence

	T_1 Dixon	T_2 Dixon	mDixon-Quant	mDixon-Quant
Région	Rachis	Rachis	Rachis	Hanche gauche
Plan d'acquisition	Sagittal	Sagittal	Sagittal	Coronal oblique
Temps de répétition (ms)	450	3170	9.8	11
Temps d'écho (ms)	8.8	80	1.38 ($\Delta = 1.0$)	1.16 ($\Delta = 0.9$)
Angle de bascule ($^\circ$)	80	90	3	3
Champ de vue (mm)	160×400	180×450	160×233	219219
Épaisseur de coupe (mm)	4.00	4.00	3.00	1.80
Espace inter-coupe (mm)	1.3	0.4	0	0
Matrice (pixels)	200×400	212×565	88×130	124×122
Facteur turbo	5	19	8	8
Temps d'acquisition	4 :35	4 :45	1 :31	1 :46

TABLE 3.1 – Paramètres des séquences du protocole ADIMOS.

si nécessaire. Les procédures de shimming usuelles ont été employées pour améliorer la qualité du spectre et maintenir une largeur maximale moyenne à mi-hauteur (FWHM) en-dessous de 50 Hz. Le spectre était automatiquement reconstruit à partir de l'acquisition de chaque canal de l'antenne. Le temps d'acquisition pour chaque région était de 3 min.

Analyse des acquisitions IRM par QCSI

La mesure de la PDFFF a été obtenue par segmentation manuelle sur une console d'interprétation dédiée (Philips Portal, Philips Healthcare).

Au rachis, sur les 3 coupes les plus médianes au corps vertébral de L3, un ROI polygonal pour chacune des vertèbres lombaires (L1 à L5) exceptée la ou les vertèbre(s) fracturée(s) délimite le contenu spongieux vertébral et fournit la PDFFF moyenne (Figure 3.1).

À la hanche non dominante (gauche), un ROI circulaire est placé au sein de la tête fémorale, du col fémoral, du grand trochanter et à l'extrémité proximale de la diaphyse fémorale afin d'obtenir également la PDFFF moyenne pour chacun de ces ROI.

Les données spectroscopiques ont été post-traitées de la même manière que pour l'étude AMOS présentée dans le chapitre précédent. Des scripts réalisés sur MatLab version R2015b (MathWorks, Natick, MA, USA) ont ainsi été optimisés pour le calcul de la PDFFF et l'aLUL (réalisés par Stefan Ruschke et Dimitrios Karampinos, de l'Université Technique de Munich). Des contraintes de fitting ont été appliquées : le pic principal de la graisse (groupe méthylène, à 1.3 ppm) était considéré comme le pic de référence, avec une largeur maximale définie à 1.7 ppm ; la position des autres pics pouvait varier de ± 0.02 ppm et le pic de l'eau de ± 0.10 ppm. En utilisant un spectre pré-calibré, ces scripts permettaient un fitting automatique des

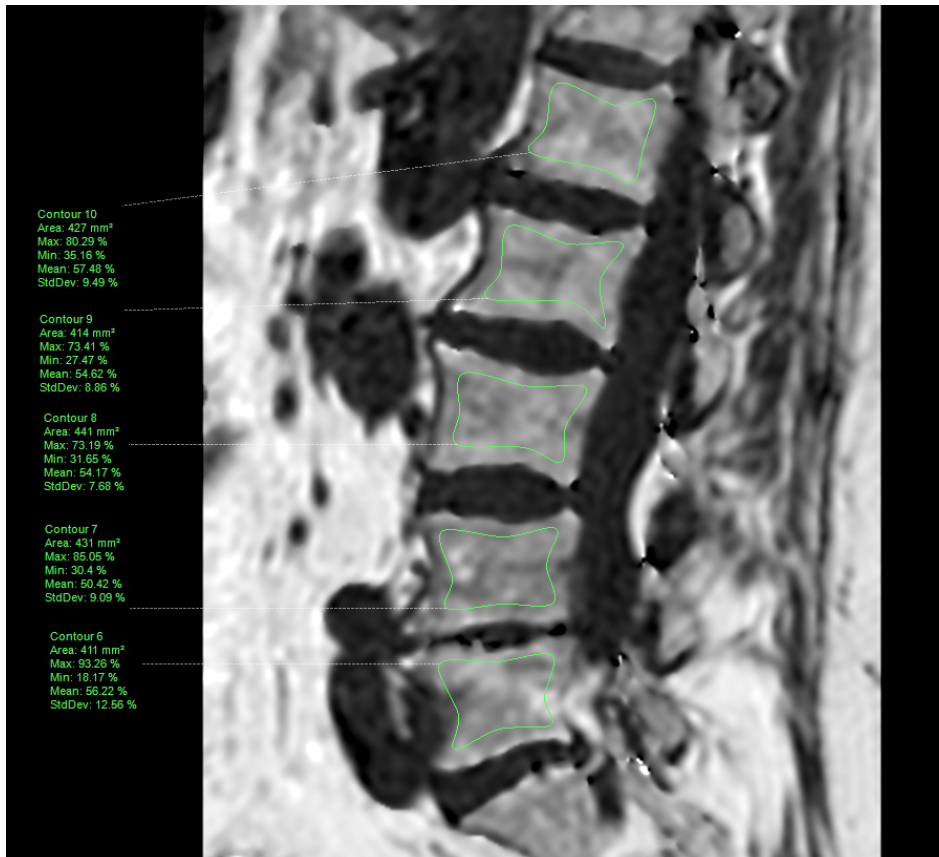


FIGURE 3.1 – **Positionnement des régions d'intérêt (ROI).** À partir de reconstructions paramétriques issues d'imagerie de déplacement chimique (séquence mDixon-Quant), et sur les 3 coupes sagittales les plus médianes au corps vertébral de L3, un ROI polygonal est placé au sein de l'os spongieux de chaque vertèbre lombaire. Le hile vasculaire postérieur, les remaniements dégénératifs et les coins vertébraux sont exclus de l'exploration.

données spectroscopiques dans le domaine de fréquence, en fournissant des mesures reproductibles pour chaque acquisition.

Nombre de sujets nécessaires

Le calcul du nombre de sujets nécessaires a été réalisé en supposant que la différence moyenne entre la PDFF au rachis lombaire entre les groupes *cas* et *témoins* serait de 3.5 points [108]. En considérant une déviation standard de 8.4%, un risque α de 5% et une puissance de 80% (test bilatéral), 97 sujets par groupe (soit 194 sujets au total) seront nécessaires.

Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée en utilisant SAS University Edition, version 9.04 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Le test de Shapiro-Wilk a été utilisé pour vérifier la normalité des distributions. La comparaison des méthodes de mesure de la PDFF ($^1\text{H-MRS}$ ou QCSI) a été réalisée par le calcul du coefficient de corrélation intra-classe. Les variables quantitatives ont été analysées par des tests bilatéraux, avec un risque de première espèce de 5%. Les corrélations entre variables quantitatives ont été effectuées selon la méthode de Spearman. Sauf précision autre, toutes les données sont écrites sous la forme moyenne \pm écart-type (p). Le seuil de significativité a été défini par un p inférieur à 0.05.

Résultats préliminaires

L'étude étant en cours, seules les mesures obtenues au rachis des 50 premières patientes ont été analysées ($n = 25$ dans chaque groupe).

Caractéristiques démographiques

L'âge moyen était de 63.3 ± 9.2 ans parmi les *témoins* et 67.1 ± 9.6 ans parmi les *cas* ($p = 0.17$). L'IMC n'était pas significativement différent entre les groupes ($27.2 \pm 4.5 \text{ kg/m}^2$ chez les *témoins* et $26.8 \pm 5.9 \text{ kg/m}^2$ chez les *cas*). La DMO au rachis était de $0.954 \pm 0.157 \text{ g/cm}^2$ chez les *témoins* et de $0.838 \pm 0.147 \text{ g/cm}^2$ chez les *cas* ($p = 0.0093$). La DMO à la hanche totale non dominante (gauche) était de $0.870 \pm 0.119 \text{ g/cm}^2$ chez les *témoins* et $0.754 \pm 0.112 \text{ g/cm}^2$ chez les *cas* ($p = 0.0009$). La DMO au col non dominant (gauche) était de $0.716 \pm 0.102 \text{ g/cm}^2$ chez les *témoins* et $0.612 \pm 0.102 \text{ g/cm}^2$ chez les *cas* ($p = 0.0007$) (Table 3.2).

Comparaison entre QCSI et $^1\text{H-MRS}$

Au rachis, le coefficient de corrélation intra-classe était bon, calculé à 0.62 (Figure 3.2). Cependant, la PDFF moyenne obtenue par QCSI sur 3 coupes médiales sous-estimait significativement la mesure réalisée par $^1\text{H-MRS}$ (t -test apparié : $p < 0.0001$ et $\Delta = 7.7 \pm 6.1\%$).

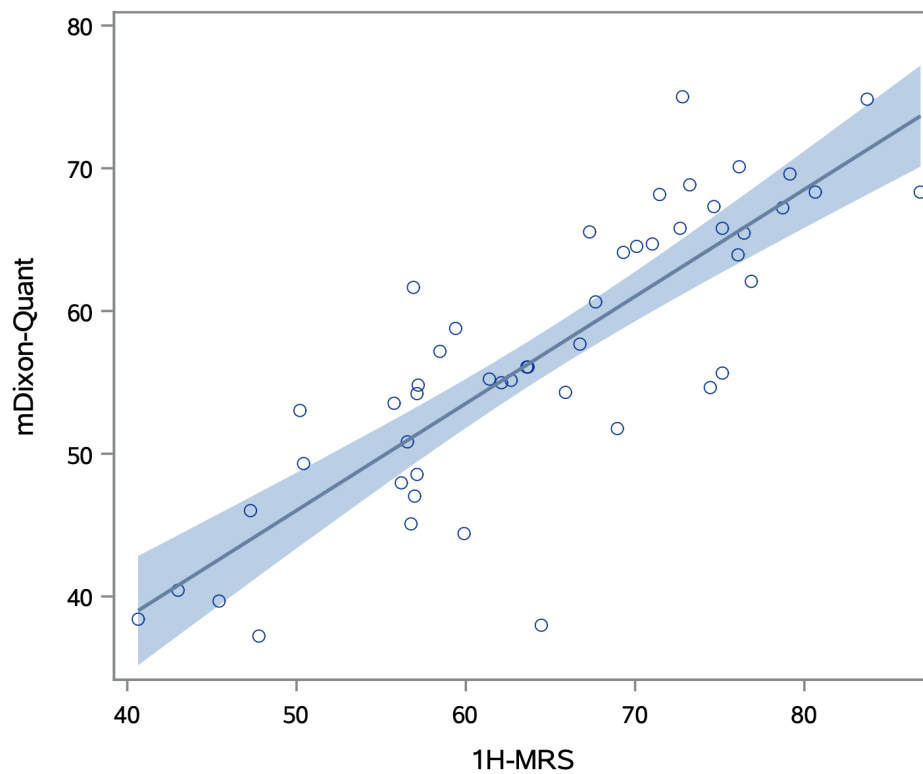


FIGURE 3.2 – **Corrélation entre PDFF obtenue par spectroscopie et mDixon-Quant.** La PDFF a été obtenue soit par spectroscopie protonique monovoxel multi-echo avec correction de la décroissance T_2^* (MRS), soit par imagerie quantitative de déplacement chimique (mDixon-Quant). Le coefficient de corrélation intra-classe est bon, calculé à 0.62. La plage en bleue correspond à l'intervalle de confiance à 95% et la droite de régression linéaire est affichée.

	Témoins	Cas	<i>p</i>
<i>n</i>	25	25	—
Âge (années)	63.3 ± 9.2	67.1 ± 9.6	0.17
Indice de masse corporelle (kg/m ²)	27.2 ± 4.5	26.8 ± 5.9	0.82
DMO au rachis (g/cm ²)	0.954 ± 0.157	0.838 ± 0.147	<0.01
DMO à la hanche totale (g/cm ²)	0.870 ± 0.119	0.754 ± 0.112	<0.001
DMO au col fémoral (g/cm ²)	0.716 ± 0.102	0.612 ± 0.102	<0.001
PDFF moyenne (%)	54.2 ± 9.2	58.1 ± 9.6	0.15

TABLE 3.2 – **Caractéristiques démographiques** (valeurs moyennes ± écart-type). Les comparaisons sont réalisées entre les *cas* (patientes ménopausées ayant eu une fracture majeure récente secondaire à un traumatisme de faible énergie) et *témoins* (patientes ménopausées sans antécédent de fracture d'allure ostéoporotique). La *proton-density fat fraction* (PDFF) moyenne a été obtenue au rachis lombaire en prenant en compte l'ensemble des vertèbres non fracturées. Les valeurs significatives apparaissent en rouge et en gras.

PDFF entre les *cas* et les *témoins*

La PDFF moyenne mesurée au rachis lombaire était de $54.2 \pm 9.2\%$ chez les *témoins* et de $58.1 \pm 9.6\%$ chez les *cas* ($p = 0.15$) (Table 3.2 et Figure 3.3).

Corrélations entre adiposité médullaire et DMO

Le coefficient de corrélation de Spearman entre la PDFF moyenne au rachis lombaire et la DMO au rachis était de -0.09 ($p = 0.52$). Lorsque l'analyse de la PDFF est effectuée à partir des acquisitions spectroscopiques, le coefficient est modérément plus faible, à -0.15 ($p = 0.30$). Cependant, concernant l'aLUL, un coefficient de corrélation de Spearman significatif de -0.39 a été observé avec la DMO au rachis ($p = 0.007$).

Discussion

Ces données, bien que préliminaires, permettent d'une part de renforcer l'intérêt technique de la QCSI et fournit des résultats prometteurs dans l'évaluation de l'ostéoporose.

En effet, la QCSI (mDixon-Quant de chez Philips dans l'étude actuelle) étant bien corrélée aux données spectrales pour la mesure de la PDFF, l'utilisation de ce type de séquence, facilement intégrable dans un *workflow* radiologique, permet de ne pas employer la ¹H-MRS qui nécessite un post-traitement complexe. Cependant, cette analyse possède deux limites. D'une part, nous avons constaté une sous-estimation systématique de la PDFF comparativement à la méthode QCSI. Cette différence pourrait principalement s'expliquer par le volume évalué similaire mais pas identique (segmentation manuelle du contenu vertébral par QCSI et voxel centro-somatique par ¹H-MRS). Aussi, des artefacts propres à la séquence mDixon-Quant, notamment par

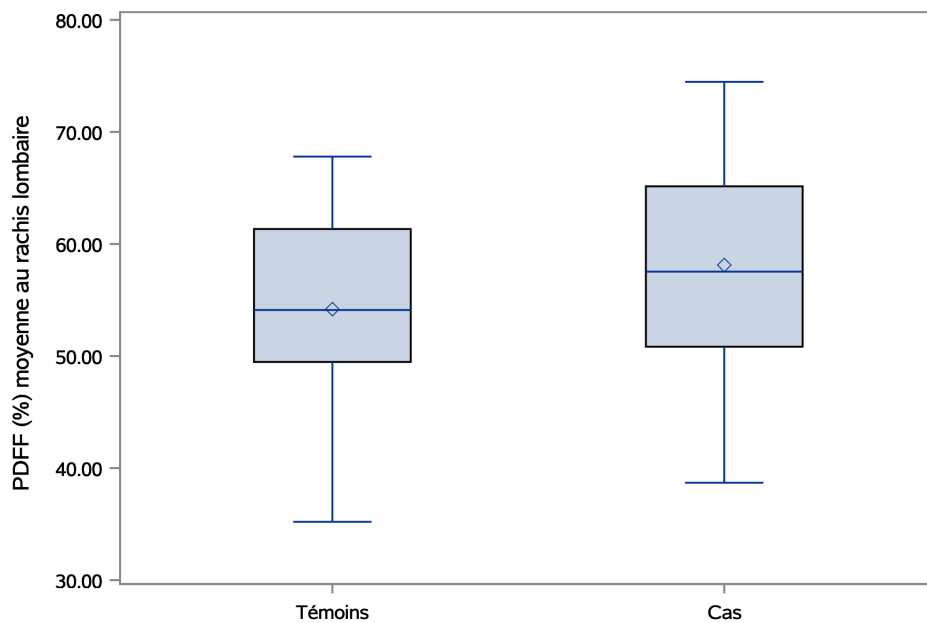


FIGURE 3.3 – *Proton-density fat fraction (PDFF) moyenne au rachis lombaire*. La PDFF a été obtenue sur la base d’acquisitions par imagerie de déplacement chimique (séquence mDixon-Quant), en prenant la moyenne des 3 coupes sagittales les plus médianes du contenu spongieux des vertèbres lombaires non fracturées pour chaque patiente. Les *cas* correspondent à des femmes ménopausées ayant eu une fracture majeure récente secondaire à un traumatisme de faible énergie et les *témoins* à des femmes ménopausées sans antécédent de fracture d’allure ostéoporotique. La comparaison n’est pas statistiquement significative (PDFF moyenne de $54.2 \pm 9.2\%$ chez les *témoins* et de $58.1 \pm 9.6\%$ chez les *cas*, $p = 0.15$).

la proximité de remaniements dégénératifs (sclérose, géodes, gaz), peuvent potentiellement affecter les mesures. D'autre part, la répétabilité des mesures réalisées n'a pas été évaluée. La littérature scientifique sur l'**AdMéd**, comme précisées aux chapitres précédents, est néanmoins en faveur d'un faible coefficient de variation lorsque la PDFF est obtenue par QCSI ou $^1\text{H-MRS}$ en prenant en compte les principaux biais techniques [21].

Par ailleurs, la différence de PDFF entre *cas* et *témoins* au rachis n'était pas significativement différente dans cette 1^{ère} analyse. Cette absence de significativité est en partie attendue, compte tenu de la faible puissance statistique par rapport au nombre de sujets à inclure souhaité. Cependant, la relation observée entre DMO, PDFF et aLUL apparaît plus complexe. En utilisant la méthode par QCSI, aucune association significative n'est observée entre la PDFF moyenne au rachis lombaire et la DMO, ce qui contraste avec la littérature [73]. Deux hypothèses pourraient expliquer les observations concernant la PDFF. Premièrement, un effectif insuffisant peut une nouvelle fois affecter l'analyse statistique. Deuxièmement, les travaux antérieurs moyennaient différemment la PDFF au rachis lombaire. Des variations selon l'étage étudié et la méthodologie de segmentation pourraient exister.

La poursuite des inclusions se déroulera jusqu'à fin 2020 au plus tard. L'analyse définitive sera ainsi réalisée après cette période, soit fin 2020-début 2021, comprenant notamment l'analyse de l'**AdMéd** à la hanche non dominante

Chapitre 4

Ouverture : quid de la tomodensitométrie ?

4.1 Tomodensitométrie par simple énergie

La tomodensitométrie conventionnelle multibarrettes utilise une source unique de rayons X comprenant un pic principal. L'image résultante est un volume reconstruit tel que l'intensité de chaque voxel dépend de la densité électronique du tissu traversé. Les mesures de densité sont exprimées en unités Hounsfield (UH). Par définition, l'eau a une densité de 0 UH alors que les tissus gras ont une valeur négative, en général aux alentours de -100 UH. Les tissus calcifiés ont des valeurs positives élevées, supérieures à 400 UH. De nombreuses méthodes quantitatives ont été développées et réunies sous le terme générique de "*Quantitative Computed Tomography*" en anglais. Celles-ci s'appuient majoritairement sur l'utilisation de fantômes de calibration et d'algorithmes complexes de post-traitement, afin de convertir les UH en densité gravimétrique (g/cm^3).

Cette modalité d'imagerie est disponible dans la très grande majorité des centres d'imagerie, et permet la réalisation facile et rapide d'acquisitions d'importants volumes du corps humain. Néanmoins, bien que les scanners conventionnels offrent des résolutions élevées, notamment dans le plan d'acquisition (généralement entre 156 et 300 μm) et une épaisseur de coupe pouvant aller jusqu'à 300 μm , cette résolution reste insuffisante pour étudier de manière précise la microarchitecture trabéculaire sans subir un effet de volume partiel [109]. Des scanners dédiés ayant une ultra-haute résolution ont été spécifiquement conçus pour mieux explorer cette architecture trabéculaire en optimisant les paramètres, mais ne peuvent être décemment employés qu'aux extrémités des membres en raison de l'irradiation associée. L'utilisation d'outils de segmentation du réseau trabéculaire a été employée à partir de ces scanners à haute résolution. La combinaison avec des algorithmes de segmentation ont permis d'obtenir une estimation de la densité médullaire, reflétant l'importance d'**AdMéd** dans le volume exploré, avec une erreur de précision tolérable de 5% dans les études *ex vivo*. Cependant, il existe des variations importantes dans l'erreur de précision

pour la segmentation médullaire selon la version de l'algorithme, lors d'acquisitions *in vivo*, limitant la fiabilité de cette technique [110, 111].

De plus, le scanner à simple énergie souffre d'une variabilité dépendante du modèle utilisé. Les valeurs densitométriques obtenues peuvent en effet hautement varier selon le fabricant, comme le montre une étude comparant des mesures réalisées sur des tissus adipeux sous-cutanés chez un même patient sur deux examens scanographiques sans injection acquis sur 2 scanners différents [112]. De la même manière, même avec une procédure de calibration, les mesures de la DMO peuvent varier selon le fabricant [113]. En raison de ces nombreuses limitations, l'utilisation de scanners à simple énergie n'est pas recommandée pour l'exploration de l'**AdMéd**. Cependant, son excellente résolution reste pertinente pour l'évaluation de la microarchitecture trabéculaire osseuse.

4.2 Tomodensitométrie par double énergie

Les scanners à double énergie ont été développés dans l'objectif d'améliorer la précision des mesures estimant la DMO volumique, en prenant en compte l'**AdMéd** [114]. Les scanners à double énergie requièrent 2 jeux de données, acquis à 2 énergies différentes (généralement 80 keV et 140 keV) afin d'estimer la composition minérale et non-minérale. Lorsque l'os et la graisse sont présents dans un voxel, la diminution de la densité mesurée est différente selon l'énergie —plus haute à 140 keV qu'à 80 keV—, ce qui permet de discriminer la proportion de chaque compartiment et d'ajuster la mesure de la DMO volumique [115]. Une évaluation combinée de la DMO et de l'**AdMéd** ont ainsi permis de réaliser une évaluation précise de l'os dans des pathologies telles que la maladie de Gaucher ou les néoplasies, qui affectent à la fois la composition minérale et organique [116, 117], mais aussi l'anorexie mentale [84].

Cependant, de la même façon que le scanner simple énergie, cette modalité souffre d'effets de volume partiel, mais aussi d'artéfacts de durcissement du faisceau au prix d'une augmentation de l'irradiation. Les techniques récentes de reconstruction itérative permettent cependant de réduire de manière significative la quantité d'énergie délivrée au patient. Les méthodes d'évaluation quantitatives requièrent aussi une calibration préalable par un fantôme pour le calcul de la BMFF, et l'utilisation de deux énergies différentes favorisent le cumul des erreurs de mesure [114].

Malgré ces limitations, les estimations de la BMFF en utilisant un scanner double énergie montrent de bonnes corrélations avec les fantômes de calibration ou les études cadavériques [118, 114, 119], mais aussi avec les techniques IRM telles que la QCSI ou la ^1H -MRS [120, 84]. Par conséquent, bien que la littérature reste peu développée, le scanner double énergie pourrait être une méthode émergente alternative à l'IRM, en permettant une évaluation concomitante des compartiments minéral et non-minéral au sein de l'os.

Conclusion

En illustrant ce manuscrit par 3 axes —*Comprendre, Explorer, Promouvoir*—, j'ai souhaité appuyer et justifier l'intérêt d'une quantification *in vivo* de l'**AdMéd** par IRM.

Le premier axe synthétise les éléments nécessaires à la compréhension des challenges actuels concernant l'imagerie quantitative de l'**AdMéd**. La pertinence des informations apportées par l'IRM lorsque les principaux biais liés à cet outil sont maîtrisés est élevée, et permet d'accéder à des applications cliniques potentielles. C'est au cours de la rédaction de ce chapitre que j'ai pu me rapprocher d'une équipe de référence européenne, dirigée par le Dr. Karampinos.

Le second axe, plus pragmatique, a apporté des éléments nouveaux dans la compréhension des remaniements de l'**AdMéd** chez les patientes anorexiques. Nos résultats ont en effet permis de démontrer que dans cette population, l'**AdMéd** à la hanche reste élevée à court terme comparativement à des volontaires saines, et ce, malgré une récupération d'un poids normal.

Enfin, le troisième axe est dans la continuité avec les deux précédents. Les communications réalisées et ma participation active au groupe de travail de Méthodologie initiée par la BMAS facilitent la communication et la vulgarisation nécessaires pour promouvoir la réalisation d'études cliniques de bonne qualité, afin de permettre une meilleure comparaison entre les recherches réalisées. Cette promotion s'est également appliquée au sein même du CHRU de Lille, avec l'initiation de l'étude ADIMOS, évaluant l'utilisation de la PDFF mesurée par QCSI comme potentiel biomarqueur d'imagerie chez les femmes ménopausées, en s'intégrant dans l'estimation de la fragilité osseuse.

À l'avenir, une évaluation multifactorielle incluant les données de composition minérale et lipidique par QCSI pourrait favoriser une expertise précise de la santé osseuse et du risque fracturaire, en particulier chez les patientes anorexiques et/ou ostéoporotiques.

Bibliographie

- [1] Veldhuis-Vlug AG, Rosen CJ. Clinical implications of bone marrow adiposity. *Journal of internal medicine*. 2018 ;283(2) :121–139.
- [2] Rosen CJ, Ackert-Bicknell C, Rodriguez JP, Pino AM. Marrow fat and the bone microenvironment : developmental, functional, and pathological implications. *Critical reviews in eukaryotic gene expression*. 2009 ;19(2) :109–124.
- [3] Harsløf T, Wamberg L, Møller L, Stødkilde-Jørgensen H, Ringgaard S, Pedersen SB, et al. Rosiglitazone decreases bone mass and bone marrow fat. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011 may ;96(5) :1541–1548.
- [4] Limonard EJ, Veldhuis-Vlug AG, van Dussen L, Runge JH, Tanck MW, Endert E, et al. Short-Term Effect of Estrogen on Human Bone Marrow Fat. *Journal of bone and mineral research*. 2015 nov ;30(11) :2058–2066.
- [5] Karampinos DC, Ruschke S, Gordijenko O, Grande Garcia E, Kooijman H, Burgkart R, et al. Association of MRS-Based Vertebral Bone Marrow Fat Fraction with Bone Strength in a Human In Vitro Model. *Journal of osteoporosis*. 2015 ;2015 :152349.
- [6] Hardouin P, Pansini V, Cortet B. Bone marrow fat. *Joint Bone Spine*. 2014 ;81(4) :313–319.
- [7] Increased bone marrow fat in anorexia nervosa. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2009 jun ;94(6) :2129–2136.
- [8] Vestergaard P, Emborg C, Støving RK, Hagen C, Mosekilde L, Brixen K. Fractures in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa, and other eating disorders-A nationwide register study : *Eating Disorders and Fracture* ;32(3) :301–308.
- [9] Morgan EF, Barnes GL, Einhorn TA. The Bone Organ System : Form and Function. *Osteoporosis*. 2013 jan ;p. 3–20.
- [10] Scheller EL, Cawthorn WP, Burr AA, Horowitz MC, MacDougald OA. Marrow Adipose Tissue : Trimming the Fat. *Trends in endocrinology and metabolism : TEM*. 2016 ;27(6) :392–403.
- [11] Turner RT, Martin SA, Iwaniec UT. Metabolic Coupling Between Bone Marrow Adipose Tissue and Hematopoiesis. *Current osteoporosis reports*. 2018 ;16(2) :95–104.

- [12] Lecka-Czernik B, Stechschulte LA. Bone and fat : A relationship of different shades. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2014 nov ;561 :124–129.
- [13] Kugel H, Jung C, Schulte O, Heindel W. Age- and sex-specific differences in the ¹H-spectrum of vertebral bone marrow. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2001 ;13(2) :263–268.
- [14] De Bisschop E, Luypaert R, Louis O, Osteaux M. Fat fraction of lumbar bone marrow using in vivo proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Bone*. 1993 ;14(2) :133–136.
- [15] Bredella MA, Greenblatt LB, Eajazi A, Torriani M, Yu EW. Effects of Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy on bone mineral density and marrow adipose tissue. *Bone*. 2017 ;95 :85–90.
- [16] Cordes C, Dieckmeyer M, Ott B, Shen J, Ruschke S, Settles M, et al. MR-detected changes in liver fat, abdominal fat, and vertebral bone marrow fat after a four-week calorie restriction in obese women. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*. 2015 nov ;42(5) :1272–1280.
- [17] Schafer AL, Li X, Schwartz AV, Tufts LS, Wheeler AL, Grunfeld C, et al. Changes in vertebral bone marrow fat and bone mass after gastric bypass surgery : A pilot study ;74 :140–145.
- [18] Gorgey AS, Poarch HJ, Adler RA, Khalil RE, Gater DR. Femoral bone marrow adiposity and cortical bone cross-sectional areas in men with motor complete spinal cord injury. *PM & R : the journal of injury, function, and rehabilitation*. 2013 nov ;5(11) :939–948.
- [19] Trudel G, Payne M, Mädler B, Ramachandran N, Lecompte M, Wade C, et al. Bone marrow fat accumulation after 60 days of bed rest persisted 1 year after activities were resumed along with hemopoietic stimulation : the Women International Space Simulation for Exploration study. *Journal of applied physiology*. 2009 ;107(2) :540–548.
- [20] Hu HH, Kan HE. Quantitative proton MR techniques for measuring fat. *NMR in biomedicine*. 2013 dec ;26(12) :1609–1629.
- [21] Karampinos DC, Ruschke S, Dieckmeyer M, Diefenbach M, Franz D, Gersing AS, et al. Quantitative MRI and spectroscopy of bone marrow. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2018 feb ;47(2) :332–353.
- [22] Li GW, Xu Z, Chang SX, Zhou L, Wang XY, Nian H, et al. Influence of Early Zoledronic Acid Administration on Bone Marrow Fat in Ovariectomized Rats. *Endocrinology*. 2014 dec ;155(12) :4731–4738.
- [23] Styner M, Pagnotti GM, McGrath C, Wu X, Sen B, Uzer G, et al. Exercise Decreases Marrow Adipose Tissue Through β -Oxidation in Obese Running Mice. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2017 aug ;32(8) :1692–1702.
- [24] Seeman E. Pathogenesis of bone fragility in women and men. *The Lancet*. 2002 may ;359(9320) :1841–1850.

- [25] Szulc P, Seeman E. Thinking inside and outside the envelopes of bone. *Osteoporosis International*. 2009 aug ;20(8) :1281–1288.
- [26] Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of normal bone marrow. *European radiology*. 1998 ;8(8) :1327–1334.
- [27] Paccou J, Hardouin P, Cotten A, Penel G, Cortet B. The Role of Bone Marrow Fat in Skeletal Health : Usefulness and Perspectives for Clinicians. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2015 oct ;100(10) :3613–3621.
- [28] Messiou C, Hillengass J, Delorme S, Lecouvet FE, Moulopoulos LA, Collins DJ, et al. Guidelines for Acquisition, Interpretation, and Reporting of Whole-Body MRI in Myeloma : Myeloma Response Assessment and Diagnosis System (MY-RADS). *Radiology*. 2019 apr ;291(1) :5–13.
- [29] van Dussen L, Akkerman EM, Hollak CEM, Nederveen AJ, Maas M. Evaluation of an imaging biomarker, Dixon quantitative chemical shift imaging, in Gaucher disease : lessons learned. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2014 ;37(6) :1003–1011.
- [30] Bolan PJ, Arentsen L, Sueblinvong T, Zhang Y, Moeller S, Carter JS, et al. Water-fat MRI for assessing changes in bone marrow composition due to radiation and chemotherapy in gynecologic cancer patients. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2013 dec ;38(6) :1578–1584.
- [31] Vogler JB, Murphy WA. Bone marrow imaging. *Radiology*. 1988 sep ;168(3) :679–693.
- [32] Shen W, Gong X, Weiss J, Jin Y. Comparison among T1-weighted magnetic resonance imaging, modified dixon method, and magnetic resonance spectroscopy in measuring bone marrow fat. *Journal of obesity*. 2013 ;2013 :298675.
- [33] Wilson AJ, Hodge JC, Pilgram TK, Kang EH, Murphy WA. Prevalence of red marrow around the knee joint in adults as demonstrated on magnetic resonance imaging. *Academic radiology*. 1996 ;.
- [34] Maas M, Hollak CEM, Akkerman EM, Aerts JMFG, Stoker J, Den Heeten GJ. 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. *American Journal of Roentgenology*. 2002 ;179(4) :961–965.
- [35] Dixon WT. Simple proton spectroscopic imaging. *Radiology*. 1984 ;153(1) :189–194.
- [36] Elsayes KM, Mukundan G, Narra VR, Lewis JS, Shirkhoda A, Farooki A, et al. Adrenal masses : MR imaging features with pathologic correlation. *RadioGraphics*. 2004 ;24(Suppl 1) :S73–S86.
- [37] Ojanen X, Borra RJH, Havu M, Cheng SM, Parkkola R, Nuutila P, et al. Comparison of vertebral bone marrow fat assessed by 1H MRS and inphase

- and out-of-phase MRI among family members. *Osteoporosis International*. 2014 feb ;25(2) :653–662.
- [38] Disler DG, McCauley TR, Ratner LM, Kesack CD, Cooper JA. In-phase and out-of-phase MR imaging of bone marrow : prediction of neoplasia based on the detection of coexistent fat and water. *AJR American journal of roentgenology*. 1997 nov ;169(5) :1439–1447.
- [39] Zampa V, Cosottini M, Michelassi MC, Ortori S, Bruschini L, Bartolozzi C. Value of opposed-phase gradient-echo technique in distinguishing between benign and malignant vertebral lesions. *European Radiology*. 2002 jul ;12(7) :1811–1818.
- [40] Zajick DC, Morrison WB, Schweitzer ME, Parellada JA, Carrino JA. Benign and Malignant Processes : Normal Values and Differentiation with Chemical Shift MR Imaging in Vertebral Marrow. *Radiology*. 2005 nov ;237(2) :590–596.
- [41] Winfeld M, Ahlawat S, Safdar N. Utilization of chemical shift MRI in the diagnosis of disorders affecting pediatric bone marrow. *Skeletal Radiology*. 2016 sep ;45(9) :1205–1212.
- [42] Li GW, Xu Z, Chen QW, Tian YN, Wang XY, Zhou L, et al. Quantitative evaluation of vertebral marrow adipose tissue in postmenopausal female using MRI chemical shift-based water-fat separation. *Clinical radiology*. 2014 mar ;69(3) :254–262.
- [43] Baum T, Yap SP, Dieckmeyer M, Ruschke S, Eggers H, Kooijman H, et al. Assessment of whole spine vertebral bone marrow fat using chemical shift-encoding based water-fat MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2015 ;42(4) :1018–1023.
- [44] Öz G, Alger JR, Barker PB, Bartha R, Bizzi A, Boesch C, et al.. Clinical proton MR spectroscopy in central nervous system disorders ; 2014.
- [45] Griffith JF, Yeung DKW, Chow SKK, Leung JCS, Leung PC. Reproducibility of MR perfusion and (1)H spectroscopy of bone marrow. *Journal of magnetic resonance imaging*. 2009 jun ;29(6) :1438–1442.
- [46] Li X, Kuo D, Schafer AL, Porzig A, Link TM, Black D, et al. Quantification of vertebral bone marrow fat content using 3 Tesla MR spectroscopy : reproducibility, vertebral variation, and applications in osteoporosis. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2011 apr ;33(4) :974–979.
- [47] Li Gw, Tang Gy, Liu Y, Tang Rb, Peng Yf, Li W. MR spectroscopy and micro-CT in evaluation of osteoporosis model in rabbits : comparison with histopathology. *European radiology*. 2012 apr ;22(4) :923–929.
- [48] Bredella MA, Fazeli PK, Daley SM, Miller KK, Rosen CJ, Klibanski A, et al. Marrow fat composition in anorexia nervosa. *Bone*. 2014 sep ;66(8) :199–204.
- [49] Baum T, Yap SP, Karampinos DC, Nardo L, Kuo D, Burghardt AJ, et al. Does vertebral bone marrow fat content correlate with abdominal adipose

- tissue, lumbar spine bone mineral density, and blood biomarkers in women with type 2 diabetes mellitus? *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2012 jan ;35(1) :117–124.
- [50] Patsch JM, Li X, Baum T, Yap SP, Karampinos DC, Schwartz AV, et al. Bone marrow fat composition as a novel imaging biomarker in postmenopausal women with prevalent fragility fractures. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2013 aug ;28(8) :1721–8.
- [51] Budzik JF, Lefebvre G, Forzy G, El Rafei M, Chechin D, Cotten A. Study of proximal femoral bone perfusion with 3D T1 dynamic contrast-enhanced MRI : a feasibility study. *European radiology*. 2014 dec ;24(12) :3217–3223.
- [52] Budzik JF, Lefebvre G, Behal H, Vercluytte S, Hardouin P, Teixeira P, et al. Bone marrow perfusion measured with dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging is correlated to body mass index in adults. *Bone*. 2017 ;99 :47–52.
- [53] Ramalho M, Ramalho J. Gadolinium-Based Contrast Agents : Associated Adverse Reactions ; 2017.
- [54] Kanda T, Nakai Y, Oba H, Toyoda K, Kitajima K, Furui S. Gadolinium deposition in the brain. *Magnetic Resonance Imaging*. 2016 ;.
- [55] Dietrich O, Geith T, Reiser MF, Baur-Melnyk A. Diffusion imaging of the vertebral bone marrow. *NMR in biomedicine*. 2017 mar ;30(3) :1–15.
- [56] Tang GY, Lv ZW, Tang RB, Liu Y, Peng YF, Li W, et al. Evaluation of MR spectroscopy and diffusion-weighted MRI in detecting bone marrow changes in postmenopausal women with osteoporosis. *Clinical Radiology*. 2010 ;65(5) :377–381.
- [57] Reeder SB, Cruite I, Hamilton G, Sirlin CB. Quantitative assessment of liver fat with magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*. 2011 oct ;34(4) :729–749.
- [58] Reeder SB, Hu HH, Sirlin CB. Proton density fat-fraction : a standardized MR-based biomarker of tissue fat concentration. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2012 nov ;36(5) :1011–1014.
- [59] Schick F, Bongers H, Jung WI, Eismann B, Skalej M, Einsele H, et al. Proton relaxation times in human red bone marrow by volume selective magnetic resonance spectroscopy. *Applied Magnetic Resonance*. 1992 dec ;3(6) :947–963.
- [60] Liu CY, McKenzie CA, Yu H, Brittain JH, Reeder SB. Fat quantification with IDEAL gradient echo imaging : correction of bias from T(1) and noise. *Magnetic resonance in medicine*. 2007 aug ;58(2) :354–364.
- [61] Hu HH, Börnert P, Hernando D, Kellman P, Ma J, Reeder S, et al. ISMRM workshop on fat-water separation : Insights, applications and progress in MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2012 aug ;68(2) :378–388.

- [62] Karampinos DC, Melkus G, Baum T, Bauer JS, Rummeny EJ, Krug R. Bone marrow fat quantification in the presence of trabecular bone : Initial comparison between water-fat imaging and single-voxel MRS. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2014 ;71(3) :1158–1165.
- [63] Dieckmeyer M, Ruschke S, Cordes C, Yap SP, Kooijman H, Hauner H, et al. The need for T2 correction on MRS-based vertebral bone marrow fat quantification : implications for bone marrow fat fraction age dependence. *NMR in biomedicine*. 2015 apr ;28(4) :432–439.
- [64] Karampinos DC, Ruschke S, Dieckmeyer M, Eggers H, Kooijman H, Rummeny EJ, et al. Modeling of T2* decay in vertebral bone marrow fat quantification. *NMR in biomedicine*. 2015 nov ;28(11) :1535–1542.
- [65] Yu H, Shimakawa A, McKenzie CA, Brodsky E, Brittain JH, Reeder SB. Multiecho water-fat separation and simultaneous R2* estimation with multifrequency fat spectrum modeling. *Magnetic resonance in medicine*. 2008 nov ;60(5) :1122–1134.
- [66] Le Ster C, Gambarota G, Lasbleiz J, Guillin R, Decaux O, Saint-Jalmes H. Breath-hold MR measurements of fat fraction, T1 , and T2 * of water and fat in vertebral bone marrow. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*. 2016 ;44(3) :549–555.
- [67] MacEwan IJ, Glembotski NE, D’Lima D, Bae W, Masuda K, Rashidi HH, et al. Proton density water fraction as a biomarker of bone marrow cellularity : validation in ex vivo spine specimens. *Magnetic resonance imaging*. 2014 nov ;32(9) :1097–1101.
- [68] Gee CS, Nguyen JTK, Marquez CJ, Heunis J, Lai A, Wyatt C, et al. Validation of bone marrow fat quantification in the presence of trabecular bone using MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2015 ;42(2) :539–544.
- [69] Aoki T, Yamaguchi S, Kinoshita S, Hayashida Y, Korogi Y. Quantification of bone marrow fat content using iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL) : reproducibility, site variation and correlation with age and menopause. *The British Journal of Radiology*. 2016 sep ;89(1065) :20150538.
- [70] Zhang Y, Zhou Z, Wang C, Cheng X, Wang L, Duanmu Y, et al. Reliability of measuring the fat content of the lumbar vertebral marrow and paraspinal muscles using MRI mDIXON-Quant sequence. *Diagnostic and interventional radiology (Ankara, Turkey)*. 2018 sep ;24(5) :302–307.
- [71] Li X, Shet K, Xu K, Rodríguez JP, Pino AM, Kurhanewicz J, et al. Unsaturation level decreased in bone marrow fat of postmenopausal women with low bone density using high resolution magic angle spinning (HRMAS) 1H NMR spectroscopy. *Bone*. 2017 dec ;105 :87–92.

- [72] Ruschke S, Pokorney A, Baum T, Eggers H, Miller JH, Hu HH, et al. Measurement of vertebral bone marrow proton density fat fraction in children using quantitative water-fat MRI. *Magma* (New York, NY). 2017 oct ;30(5) :449–460.
- [73] Yeung DKW, Griffith JF, Antonio GE, Lee FKH, Woo J, Leung PC. Osteoporosis is associated with increased marrow fat content and decreased marrow fat unsaturation : A proton MR spectroscopy study. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2005 aug ;22(2) :279–285.
- [74] Maciel JG, de Araújo IM, Carvalho AL, Simão MN, Bastos CM, Troncon LEA, et al. Marrow Fat Quality Differences by Sex in Healthy Adults. *Journal of Clinical Densitometry*. 2017 jan ;20(1) :106–113.
- [75] Steinhausen HC, Jensen CM. Time trends in lifetime incidence rates of first-time diagnosed anorexia nervosa and bulimia nervosa across 16 years in a danish nationwide psychiatric registry study : time trends in incidence rates of eating disorders ;48(7) :845–850.
- [76] Smink FRE, van Hoeken D, Hoek HW. Epidemiology of Eating Disorders : Incidence, Prevalence and Mortality Rates ;14(4) :406–414.
- [77] Zipfel S, Giel KE, Bulik CM, Hay P, Schmidt U. Anorexia nervosa : aetiology, assessment, and treatment ;2(12) :1099–1111.
- [78] Zipfel S. Osteoporosis in Eating Disorders : A Follow-Up Study of Patients with Anorexia and Bulimia Nervosa ;86(11) :5227–5233.
- [79] Devlin MJ, Rosen CJ. The bone-fat interface : basic and clinical implications of marrow adiposity. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. 2015 feb ;3(2) :141–147.
- [80] Scheller EL, Doucette CR, Learman BS, Cawthorn WP, Khandaker S, Schell B, et al. Region-specific variation in the properties of skeletal adipocytes reveals regulated and constitutive marrow adipose tissues ;6(1).
- [81] Cohen A, Shen W, Dempster DW, Zhou H, Recker RR, Lappe JM, et al. Marrow adiposity assessed on transiliac crest biopsy samples correlates with noninvasive measurement of marrow adiposity by proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) at the spine but not the femur ;26(10) :2471–2478.
- [82] Cordes C, Baum T, Dieckmeyer M, Ruschke S, Diefenbach MN, Hauner H, et al. MR-Based Assessment of Bone Marrow Fat in Osteoporosis, Diabetes, and Obesity. *Frontiers in endocrinology*. 2016 ;7(June) :74.
- [83] Martel D, Leporq B, Bruno M, Regatte RR, Honig S, Chang G. Chemical shift-encoded MRI for assessment of bone marrow adipose tissue fat composition : Pilot study in premenopausal versus postmenopausal women ;53 :148–155.
- [84] Bredella MA, Daley SM, Kalra MK, Brown JK, Miller KK, Torriani M. Marrow Adipose Tissue Quantification of the Lumbar Spine by Using

- Dual-Energy CT and Single-Voxel (1)H MR Spectroscopy : A Feasibility Study. *Radiology*. 2015 oct ;277(1) :230–235.
- [85] El Ghoch M, Calugi S, Lamburghini S, Dalle Grave R. Anorexia Nervosa and Body Fat Distribution : A Systematic Review ;6(9) :3895–3912.
- [86] Ward A, Brown N, Treasure J. Persistent osteopenia after recovery from anorexia nervosa ;22(1) :71–75.
- [87] Mayer LE, Schebendach J, Bodell LP, Shingleton RM, Timothy Walsh B. Eating Behavior in Anorexia Nervosa : Before and After Treatment. *Int J Eat Disord*. 2012 ;45(2) :290–293.
- [88] Corwin RL, Hartman TJ, Maczuga SA, Graubard BI. Dietary saturated fat intake is inversely associated with bone density in humans : analysis of NHANES III. *The Journal of nutrition*. 2006 jan ;136(1) :159–165.
- [89] During A, Penel G, Hardouin P. Understanding the local actions of lipids in bone physiology. *Progress in Lipid Research*. 2015 jul ;59 :126–146.
- [90] Fazeli PK, Bredella MA, Freedman L, Thomas BJ, Breggia A, Meenaghan E, et al. Marrow fat and preadipocyte factor-1 levels decrease with recovery in women with anorexia nervosa ;27(9) :1864–1871.
- [91] American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision (DSM-IV-TR)*. vol. 1. 4th ed. American Psychiatric Association ;.
- [92] Silman AJ, O'Neill TW, Cooper C, Kanis J, Felsenberg D. Influence of physical activity on vertebral deformity in men and women : results from the European Vertebral Osteoporosis Study ;12(5) :813–819.
- [93] Pansini VM, Monnet A, Salleron J, Penel G, Migaud H, Cotten A. Reproducibility of 1H MR spectroscopy of hip bone marrow at 3 Tesla ;36(6) :1445–1449.
- [94] Elliott AC, Hynan LS. A SAS® macro implementation of a multiple comparison post hoc test for a Kruskal–Wallis analysis ;102(1) :75–80.
- [95] Frølich J, Hansen S, Winkler LAD, Andresen AK, Hermann AP, Støving RK. The Role of Body Weight on Bone in Anorexia Nervosa : A HR-pQCT Study ;101(1) :24–33.
- [96] Vestergaard P, Emborg C, Støving RK, Hagen C, Mosekilde L, Brixen K. Patients with eating disorders. A high-risk group for fractures ;22(5) :325–331.
- [97] Yu EW. Bone metabolism after bariatric surgery ;29(7) :1507–1518.
- [98] Hardouin P, Rharass T, Lucas S. Bone Marrow Adipose Tissue : To Be or Not To Be a Typical Adipose Tissue ? *Frontiers in endocrinology*. 2016 ;7(June) :85.
- [99] Lucas AR, Melton LJ, Crowson CS, O'Fallon WM. Long-term Fracture Risk Among Women With Anorexia Nervosa : A Population-Based Cohort Study ;74(10) :972–977.

- [100] Vajapeyam S, Ecklund K, Mulkern RV, Feldman HA, O'Donnell JM, DiVasta AD, et al. Magnetic resonance imaging and spectroscopy evidence of efficacy for adrenal and gonadal hormone replacement therapy in anorexia nervosa ;110 :335–342.
- [101] Pino AM, Rodríguez JP. Is fatty acid composition of human bone marrow significant to bone health ? ;118 :53–61.
- [102] Misra M, Klibanski A. Endocrine consequences of anorexia nervosa ;2(7) :581–592.
- [103] Bredella MA, Ghomi RH, Thomas BJ, Torriani M, Brick DJ, Gerweck AV, et al. Comparison of DXA and CT in the Assessment of Body Composition in Premenopausal Women With Obesity and Anorexia Nervosa ;18(11) :2227–2233.
- [104] Legroux-Gérot I, Vignau J, d'Herbomez M, Flipo RM, Cortet B. Predictive factors of change in BMD at 1 and 2 years in women with anorexia nervosa : a study of 146 cases ;23(12) :2855–2861.
- [105] Yahya A, Fallone BG. T(2) determination of the J-coupled methyl protons of lipids : In vivo illustration with tibial bone marrow at 3 T ;31(6) :1514–1521.
- [106] Smith JJ, Sorensen AG, Thrall JH. Biomarkers in Imaging : Realizing Radiology's Future. *Radiology*. 2003 ;227(3) :633–638.
- [107] Kanis JA, Glüer CC, for the Committee of Scientific Advisors IOF. An Update on the Diagnosis and Assessment of Osteoporosis with Densitometry. *Osteoporosis International*. 2000 mar ;11(3) :192–202.
- [108] Schwartz AV, Sigurdsson S, Hue TF, Lang TF, Harris TB, Rosen CJ, et al. Vertebral bone marrow fat associated with lower trabecular BMD and prevalent vertebral fracture in older adults. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2013 ;98(6) :2294–2300.
- [109] Burghardt AJ, Link TM, Majumdar S. High-resolution computed tomography for clinical imaging of bone microarchitecture. *Clinical orthopaedics and related research*. 2011 aug ;469(8) :2179–2193.
- [110] Peña JA, Thomsen F, Damm T, Campbell GM, Bastgen J, Barkmann R, et al. Bone-marrow densitometry : Assessment of marrow space of human vertebrae by single energy high resolution-quantitative computed tomography. *Medical Physics*. 2016 jun ;43(7) :4174–4183.
- [111] Gibbs JC, Brown ZM, Wong AKO, Craven BC, Adachi JD, Giangregorio LM. Measuring Marrow Density and Area Using Peripheral Quantitative Computed Tomography at the Tibia : Precision in Young and Older Adults and Individuals With Spinal Cord Injury. *Journal of Clinical Densitometry*. 2018 apr ;21(2) :269–280.
- [112] Lamba R, McGahan JP, Corwin MT, Li CS, Tran T, Seibert JA, et al. CT Hounsfield numbers of soft tissues on unenhanced abdominal CT scans :

- variability between two different manufacturers' MDCT scanners. *AJR American journal of roentgenology*. 2014 nov ;203(5) :1013–1020.
- [113] Knowles NK, Reeves JM, Ferreira LM. Quantitative Computed Tomography (QCT) derived Bone Mineral Density (BMD) in finite element studies : a review of the literature. *Journal of experimental orthopaedics*. 2016 dec ;3(1) :36.
- [114] 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. *Investigative radiology*. 1987 oct ;22(10) :799–810.
- [115] Arentsen L, Hansen KE, Yagi M, Takahashi Y, Shanley R, McArthur A, et al. Use of dual-energy computed tomography to measure skeletal-wide marrow composition and cancellous bone mineral density. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2017 jul ;35(4) :428–436.
- [116] Rosenthal DI, Mayo-Smith W, Goodsitt MM, Doppelt S, Mankin HJ. Bone and bone marrow changes in Gaucher disease : evaluation with quantitative CT. *Radiology*. 1989 jan ;170(1) :143–146.
- [117] Hui SK, Arentsen L, Sueblinvong T, Brown K, Bolan P, Ghebre RG, et al. A phase I feasibility study of multi-modality imaging assessing rapid expansion of marrow fat and decreased bone mineral density in cancer patients. *Bone*. 2015 apr ;73 :90–97.
- [118] Magome T, Froelich J, Takahashi Y, Arentsen L, Holtan S, Verneris MR, et al. Evaluation of Functional Marrow Irradiation Based on Skeletal Marrow Composition Obtained Using Dual-Energy Computed Tomography. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2016 ;96(3) :679–687.
- [119] Goodsitt MM, Johnson RH, Chesnut CH. A new set of calibration standards for estimating the fat and mineral content of vertebrae via dual energy QCT. *Bone and Mineral*. 1991 jun ;13(3) :217–233.
- [120] Arentsen L, Yagi M, Takahashi Y, Bolan PJ, White M, Yee D, et al. Validation of marrow fat assessment using noninvasive imaging with histologic examination of human bone samples. *Bone*. 2015 mar ;72 :118–122.

BONE MARROW ADIPOSITY IN HUMAN STUDIES: A REVIEW OF STRENGTHS AND WEAKNESSES OF DIFFERENT IMAGING OPTIONS

ABSTRACT

Bone marrow adiposity (BMA) is an underestimated compartment with functions going well beyond simple energetic storage. The common lineage between marrow adipocytes and osteoblasts gives BMA an important role to play in bone strength, where different hormones compete to determine the fate of mesenchymal stem cells. Consequently, in patients with obesity or other metabolic- or energy-related conditions such as diabetes or anorexia nervosa, endocrine dysregulation can alter bone remodeling.

Knowledge of the strengths and weaknesses of the different imaging options available in clinical centers provides key information to build projects for the assessment of BMA. This review, designed for researchers and clinicians not working in the imaging field, gives an overview of X-ray based modalities and magnetic resonance imaging (MRI) options. If dual-energy and high-resolution computed tomography are powerful tools for appraising both bone mineral and fat content, MRI offers various possibilities to assess BMA at a molecular level, especially with chemical-shift imaging and proton spectroscopy.

In obesity, as well as in osteoporosis, BMA is correlated with impaired bone microarchitecture. Evaluating organic and mineral compartments provides pertinent information about bone quality. Current imaging options can be used in future studies to improve our understanding of the pathophysiological processes involving BMA.

MAIN TEXT

The growing incidence of obesity in most developed countries has been an incentive for researchers to improve knowledge of its pathophysiology (1). Adipocytes are the primary cells involved in this condition, and even though they have been well studied, adipose tissue still offers surprising features. The thermogenic function of brown adipose tissue, mostly found in the neck, shoulder, paravertebral, retroperitoneal and mediastinal regions, and the endocrine and energy storage abilities of subcutaneous and visceral white adipocytes have been extensively characterized. However, bone marrow adipocytes have long been underestimated. More than just a space filling tissue, bone marrow adiposity (BMA) has functions that go beyond simple energetic storage (2).

BMA has become progressively a topic of growing interest: a strong increase in the number of publications can be observed in the last decade, with 1106 papers referenced on PubMed in 2016 compared to 491 in 2006. Recent literature emphasized the fact that bone marrow adipocytes have a common lineage with osteoblasts, through a common mesenchymal skeletal precursor (3). Therefore, BMA is in competition with the regeneration of the bone mineral compartment, and has an active role in numerous conditions such as osteoporosis, bone metastasis, and metabolic and hematologic diseases (4,5).

Unlike other adipose tissues, this close connection with bone provides BMA a key role in many pathophysiological processes involving skeletal changes. Energy balance is also closely tied to the fate of BMA. BMA is increased in obesity or calorie-restricted diets, but is decreased with bone loading exercises (6,7). In men with obesity, BMA is a negative predictor of bone microarchitecture, even though an increase in bone density can be observed probably due to higher bone loading (8,9). This expansion of BMA, which can be

found in other energy-related conditions like anorexia nervosa, may alter bone strength and raise the risk of fractures (9).

Consequently, if imaged rigorously, assessment of BMA may reflect bone health and could be a potential and pertinent imaging biomarker, especially by using quantitative or semi-quantitative methods, to screen for abnormal amounts of marrow fat. Various imaging modalities are available, each having its own strengths and weaknesses, and being more or less convenient for routine BMA explorations. In order to better understand *in vivo* experiments in human studies, it is essential to apprehend the limits of current imaging modalities, and what information they can provide. This review has been designed for scientists who do not work in the imaging field, and who wonder which tools can be potentially optimized or used for BMA imaging. We expose here the different imaging options which can be used in most clinical centers, including their strengths, weaknesses and relevancy to image BMA.

X-RAY BASED IMAGING MODALITIES

CONVENTIONAL RADIOGRAPHS

PRINCIPLES

Plain radiographs are made from a non-specific X-ray spectrum. The primary beam is attenuated by the different penetrated organs, and results in a bidimensional projection of their combined radiographic densities.

ADVANTAGES AND LIMITS

X-rays are easily accessible in clinical centers. They allow a precise evaluation of bone morphology at a low cost. However, they expose to ionizing radiation, and even in

Imaging bone marrow adiposity in human studies

physiological conditions, the apparent density of bones having similar composition may differ from one region to another. For example, on lateral spine views, thoracic vertebrae appear more radiolucent than lumbar vertebrae due to their superimposition with the lungs (Figure 1). Moreover, the appearing transparency of bone on X-rays is influenced by technical parameters such as the energy and quantity of photons composing the beam.

CLINICAL APPLICATIONS

Pathological changes in bone composition are apparent on X-rays only in extreme conditions, such as severe osteoporosis. In this particular situation, osteoporotic vertebrae appear extremely radiolucent, have vertical trabeculae and an unusually well-demarcated but thin cortical rim (10). Based on pathophysiological studies, we can only suspect indirectly –but not prove– a decrease in bone mineral density (BMD) and a consequent increase in BMA (4).

ROLE IN BMA IMAGING

Because of this superimposition of structures, conventional radiographs are not pertinent to decently explore BMA, which is why no study assessing plain radiographs to evaluate BMA has been published. Plain X-rays may however be used to evaluate morphological changes and screen for bone complications in various musculoskeletal diseases, e.g. osteoporosis, affecting BMA.

DUAL-ENERGY X-RAY ABSORPTIOMETRY

PRINCIPLES

By using two different energies instead of a unique non-specific X-ray spectra, dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) can separate bone from soft tissues. DXA is based on a

Imaging bone marrow adiposity in human studies

simplified model which considers two compartments: bone (considered as hydroxyapatite, with a density of about 3 g/cm³), and soft tissues (which have a mean density of 1 g/cm³).

ADVANTAGES AND LIMITS

This X-ray technique is more accurate to evaluate bone mineral composition, by separating it from soft parts. Nevertheless, BMA also has specific properties, and should be considered as a third compartment, with a density of about 0.93 g/cm³ when considering only its main constituent in adults, yellow marrow (11). Therefore, standard bidimensional DXA techniques cannot separate non-fat and fat content –especially BMA– from soft tissue estimates due to their similar densities (12).

CLINICAL APPLICATIONS

DXA is used in daily practice to evaluate BMD, especially in postmenopausal women, in order to screen for osteoporosis by evaluating the proximal part of the femur and the lumbar spine.

ROLE IN BMA IMAGING

The BMD provided by DXA cannot be used to directly evaluate BMA because marrow fat content also affects BMA (Figure 2). Kuiper *et al.* reported a 0.7% difference in DXA-measured BMD for every 1% variation of fat weight in *in vitro* experiments on femoral neck samples (12). Similarly, phantom studies suggested a decrease of 0.05 g/cm² for each 1 g/cm² of fat in DXA measurements (13). This confounding factor should be considered, as marrow fat proportion evolves with aging. In the spine, its absolute volume ratio, compared histologically with the vertebra volume, increases significantly between the 2nd and the 9th decades by more than a factor of 2 (14).

Imaging bone marrow adiposity in human studies

Based on proton magnetic resonance spectroscopy ($^1\text{H-MRS}$), a largely used imaging tool to quantitate BMA, the bone marrow fat fraction (BMFF) in patients with obesity is higher compared to normal-weighted controls (15). As a result, BMD measurements are systematically underestimated, with a relative error up to 27% (16). Along with global overweight in obesity, thicker subcutaneous adipose tissue also leads to systematic measurement errors of BMD (17).

If other systematic errors, mainly due to partial volume and beam-hardening effects, can be corrected in a satisfactory manner for many DXA applications, prior quantitation of BMA may help to assess more accurately BMD in individuals, especially in the elderly or populations with obesity (12). Consequently, if bidimensional DXA is not relevant to rightfully explore BMA, it may benefit from BMA quantification to increase measurement accuracy.

SINGLE-SOURCE COMPUTED TOMOGRAPHY

PRINCIPLES

Conventional multidetector computed tomography (MDCT) uses a single X-ray spectrum, containing one main peak (i.e., single-source single-energy MDCT). The resulting image is a volume built so that each voxel –namely each single unit composing the image– intensity depends on the mass (or electron) density of its material. Measurement of this density is expressed in Hounsfield units (HU). By definition, water density has 0 HU whereas fatty tissues have negative HU values, usually around -100 HU, and calcified tissues have high positive values.

Imaging bone marrow adiposity in human studies

Various quantitative methods have been developed, gathered under the name of “Quantitative Computed Tomography”. They are mainly based on calibrating phantoms and post-processing algorithms, to convert HU into gravimetric density (g/cm^3).

ADVANTAGES AND LIMITS

This imaging modality is available in most clinical imaging centers. Acquisitions are fast: with modern scanners, a whole spine can be explored in less than thirty seconds. Image analysis is straightforward, as it relies on multiplanar morphological assessment and direct density measurements. MDCT also offers an excellent in-plane spatial resolution for clinical purposes, usually 150 to 300 μm with conventional scans and a slice thickness as low as 300 μm (18). This resolution is however not sufficient to depict accurately bone –and especially its trabecular micro-architecture, without undergoing a partial-volume effect (18).

Dedicated high-resolution peripheral computed tomography scans have been specifically designed to image bone microarchitecture by lowering these limitations, but so far can only be used on extremities. They are less common than conventional MDCT and are mostly used for research purposes. High-resolution computed tomography protocols for clinical MDCT have also been developed by some manufacturers (Figure 3), but increase radiation exposure. Combined with specific algorithms, their clinical performance is sufficient for densitometric assessment with correction of fat-induced biases (19).

CLINICAL APPLICATIONS

The main quantitative bone application that has emerged from computed tomography is the assessment of volumetric BMD, with or without fat marrow correction. However, quantitative computed tomography techniques suffer from variability related to scanner

Imaging bone marrow adiposity in human studies

type. Even with a calibration procedure, BMD measurements can vary between two different manufacturers' scanners and acquisition parameters (20).

ROLE IN BMA IMAGING

By using inter-trabecular segmentation algorithms, high-resolution computed tomography combined with quantitative methods can provide an estimate of marrow density, giving an approximation of BMA importance with an acceptable 5% accuracy error reported in *ex vivo* studies, but with an inconstant precision error for marrow segmentation, highly variable across different algorithms (19,21).

However, due to the high variation and non-uniformity of BMA between assessed locations and individuals, single-energy measurements, especially with MDCT, are prone to multiple accuracy errors (22). Consequently, dual-energy techniques have been developed to obtain robust mineral estimates, by taking BMA in account more (23).

DUAL-ENERGY COMPUTED TOMOGRAPHY

PRINCIPLES

Dual-energy computed tomography (DECT) requires two MDCT datasets, usually acquired at two different energies: 80 kiloelectronvolts and 140 kiloelectronvolts, to calculate the material representation. When both fat and bone are present, the decrease in the measured density is different for both energies –higher at 140 kiloelectronvolts than at 80 kiloelectronvolts– allowing to distinguish mineral and fatty compartments.

ADVANTAGES AND LIMITS

Like MDCT, DECT suffers from beam-hardening artifacts and partial volume effect, and comes at the expense of X-ray exposure, although modern iterative reconstructions can

Imaging bone marrow adiposity in human studies

significantly reduce the amount of delivered energy. Quantitative methods require prior phantom calibration for fat fraction calculation and the use of two different energies combines measurement errors (12,23). Notwithstanding these biases, phantom and cadaver studies show good inter-evaluator reliability and good correlation with fat quantification assessed by magnetic resonance imaging (MRI) and histologic findings (12,16,23–25).

CLINICAL APPLICATIONS

Using an estimate of fat content in bone marrow allows DECT to provide BMA-corrected volumetric BMD measurements and skeletal-wide marrow composition appraisal (26). This combined evaluation can make a meaningful assessment of conditions such as cancer or Gaucher disease affecting both the organic and mineral components of bone. Gaucher disease is a lysosomal storage disorder responsible for many skeletal changes, including osteoporosis and bone marrow replacement with Gaucher cells. As in cancer survivors, follow-up of BMA expansion with simultaneous BMD assessment in these patients is a concrete and direct application of DECT-mediated BMA evaluation (27,28).

ROLE IN BMA IMAGING

Simulated data demonstrated a reduction from 3% to 9% of the stress resistance in trabecular models filled with marrow fat (29). Obesity raises the risk for fractures secondary to minor trauma despite normal DXA measurements. In men with obesity, alterations in bone microarchitecture have been demonstrated by high-resolution quantitative computed tomography, with cortical parameters negatively correlated with bone marrow fat in the distal radius (8,30). These data emphasize the importance of considering both mineral and non-mineral bone compartments when assessing bone strength and fracture risk.

Imaging bone marrow adiposity in human studies

By providing volumetric BMD, tridimensional microarchitecture texture analysis and BMA assessment, quantitative computed tomography techniques are interesting to assess global bone quality, either through its unrivalled spatial resolution or dual-energy techniques.

TOWARDS A MOLECULAR APPROACH WITH MRI

HOW DOES MRI WORK ?

GENERAL PRINCIPLES

MRI takes advantage of the magnetic properties of molecules, and does not expose the patient to any ionizing radiation or radioactivity, which is particularly interesting for *in vivo* research. No known harmful health effects have been observed from MRI when safety guidelines are followed.

This imaging tool makes use of a powerful magnet that generates a strong magnetic field, called B_0 and expressed in Tesla. Clinical magnets are essentially 1.5 or 3 Tesla, whereas 7 Tesla magnets are used by research units. When a subject is placed inside this magnet, the magnetic moment of atomic nuclei in the subject's body align parallel to B_0 , thus reaching their low energy state. Specific radiofrequency pulses are then applied to selectively transfer energy to certain nuclei. This excitation is followed by a relaxation phase during which the nuclei oscillate while returning to their steady state. This whole phenomenon is called "resonance".

Medical MRI devices are designed to selectively excite and image the hydrogen nucleus (a proton) present in water and fat molecules composing biological tissues. The emitted energy coming from protons during resonance generates an echo which can be measured by a coil and decomposed according to two orthogonal axes. The longitudinal component,

Imaging bone marrow adiposity in human studies

parallel to B_0 , increases whereas a decay is observed along the transverse component. Two time constants, T_1 and T_2 , describe the relaxation process as it occurs along the parallel and transverse axes respectively. These relaxation times are closely related to tissue properties, and broadly correspond to global tissue composition (T_1) and local inhomogeneities found at micro- and nanoscales (T_2). In summary, the measured signal is the result of a subtle combination of proton density, inner properties of the tissues (T_1 and T_2), hardware characteristics and acquisition parameters. Complex mathematical processes transpose the measured signal into an image.

Hence, as acquisition parameters can deeply modify the image contrast and the information provided, MRI is like a toolbox containing a large panel of imaging possibilities. This means there is no such thing as a “standard” MRI protocol. An MRI examination is a succession of different sequences that image the same body part in different ways. The type, number and parameters of these sequences determine the acquisition time. Normal and pathological aspects of different tissues are described through the analysis of several sequences.

GENERAL LIMITATIONS

Because each sequence is the result of a compromise, the “perfect” sequence does not exist. It is beyond the scope of this article to explain the interdependence of MRI parameters, but one must know that every improvement in any one sequence (higher spatial resolution, wider anatomical coverage, faster acquisition, greater contrast) has a cost (increased acquisition time, a lower image quality, more artifacts). This point has to be kept in mind and discussed with experimented radiologists when building an MRI research protocol.

Imaging bone marrow adiposity in human studies

Besides, MRI has some technical limitations. MRI scans using strong magnetic fields (3 Tesla or higher) are becoming more common, but though they provide a significant improvement in spatial and contrast resolution, they are more prone to magnetic susceptibility, an artifact due to local magnetic inhomogeneities which can deeply distort the image by incorrect reconstruction. Safety guidelines must also be strictly observed: ferromagnetic devices, like many pacemakers or auditory prosthesis, cannot be introduced into MRI machines. Besides, MRI requires perfect immobility and patient cooperation during each acquisition, which are difficult to obtain for children, painful or claustrophobic patients, or patients with psychiatric or neurologic diseases (e.g. dementia).

To summarize, MRI is a complex and powerful imaging modality with excellent potential and far more possibilities to image bone marrow than MDCT. Nevertheless, the appropriate protocol often requires long acquisition times, specific technical skill and preliminary work. In addition, the overall process can be highly time-consuming, especially for non-routine examinations. MRI is also subject to numerous sources of artifacts and is less appropriate if large anatomical areas are to be imaged.

ROUTINE SEQUENCES

PRINCIPLES

T1-weighted (T1w) and fat-suppressed T2-weighted (FS T2w) sequences are the daily basis of routine MRI exams for bone marrow assessment. Fat appears hyperintense on both T1w and T2w images, and many pathological processes affecting the skeleton turn out to be hypointense on T1w and hyperintense on T2w acquisitions. On T2w acquisitions, the fat signal can be suppressed to increase the contrast between normal bone and these pathological processes.

Imaging bone marrow adiposity in human studies

Regions with different proportions of myeloid and fat cells can be identified; their normal appearance has been well described. Areas with high hematopoietic activity, mainly composed of myeloid cells, are called “red marrow”. Red marrow appears slightly hyperintense on T2w and slightly hypointense on T1w sequences. On the contrary, “yellow marrow” is predominantly composed of adipocytes: while red marrow adipocytes contain about 40% fat, yellow marrow adipocytes contain 80% fat and a slightly smaller proportion of unsaturated fatty acids (31). Yellow marrow consequently appears brighter than red marrow on these conventional sequences.

ADVANTAGES AND LIMITS

Conventional sequences are acquired during almost all MRI examinations. When considering a unique clinical center, retrospective studies can be designed easily.

However, as mentioned above, the signal of each voxel results from several parameters. Even though yellow bone marrow appears brighter than red marrow on T1w sequences, caution should be made when interpreting and comparing intensity measurements from these sequences. Good correlation has been demonstrated between conventional T1w and more robust MRI sequences like ^1H -MRS, but numerous biases have to be considered (32). Intensity values depend on multiple hardware and software factors, initially developed to optimize contrast resolution and usually not designed for quantitative measurements. The use of a reference tissue, such as an intervertebral disc, may be needed to increase comparison accuracy.

CLINICAL APPLICATIONS

Throughout childhood, there is a conversion from red to yellow marrow, starting with the appendicular skeleton, from the diaphysis to the metaphysis in long bones (31). This

Imaging bone marrow adiposity in human studies

physiological process can be evaluated visually and followed with simple T1w and FS T2w sequences. In adults, a reconversion from yellow to red marrow may occur, typically in the distal femoral metaphysis, and is more frequent in smokers and young women with obesity (33). This appearance can be considered as a normal finding in these situations, and biopsies should only be performed in rare and atypical cases.

Regarding quantitative methods, analysis of bone cross-sectional areas show differences between pixel intensity associated with yellow or red marrow (Figure 4) (34). A few authors have also used conventional sequences to semi-quantitatively assess bone marrow to follow-up patients with Gaucher disease. They observed a decrease in signal intensity (compared to an intervertebral disc) following an increase in cellularity, due to macrophage accumulation (35).

ROLE IN BMA IMAGING

Consequently, this tool can be useful in studies to obtain an objective visual assessment of bone marrow, provided that acquisitions are made on the same MRI machine with the same sequences and parameters. For multiple center studies, this protocol is less adequate and less robust for BMA quantification.

QUANTITATIVE CHEMICAL-SHIFT IMAGING

PRINCIPLES

The echo signal measured is emitted by protons after a radiofrequency pulse. And since the electron clouds surrounding water and fat molecules are different, the protons coming from these groups resonate with distinct frequencies. Historically, these differences are

Imaging bone marrow adiposity in human studies

expressed in parts per million (ppm) and compared to the proton signal of tetramethylsilane.

The slight 3.5 ppm difference between the precession frequency of lipids (or more exactly, methylene groups) and water is responsible for a decrease in signal intensity between in-phase and out-of-phase acquisitions, when the signal contribution of the magnetic momentum of these protons are either additive or subtractive.

In 1984, Dixon WT exploited these additive and subtractive properties in order to do “simple proton spectroscopic imaging” (36). With elementary combinations, fat-only and water-only weighted maps can be generated from in- and out-of-phase acquisitions (Figure 5). The corresponding voxels on these maps are highly correlated to the quantity of protons linked either to water or fat. In doing so, a bone marrow fat fraction can be easily calculated. It consists in comparing the mean intensity value of a region of interest (ROI) from the fat-only reconstruction to the sum of the mean ROI of the fat-only and water-only reconstructions (BMFF = fat/(fat+water)) (Figure 6).

ADVANTAGES AND LIMITS

Despite its apparent simplicity, Dixon’s method suffers from technical biases. Due to the trabecular microarchitecture which cause local magnetic inhomogeneities, the transverse magnetization of protons decays much faster than expected during resonance. This “observed” rate is denoted T_2^* . Moreover, as T_1 for fat is significantly lower than water, there is a different weighting of signals which affects BMFF calculation. If these T_2^* acceleration and T_1 biases are not corrected thoroughly, measurements are signal-dependent and rely upon parameters coming from the sequence itself. Because they do not

Imaging bone marrow adiposity in human studies

reflect the true proton density, BMFF comparisons should consequently be done cautiously, only if measurements were made with the exact same conditions.

Consequently, modified “Dixon” sequences have been developed and optimized to quantify more accurately fat content/fraction (37,38). These improved acquisitions benefit from a third echo time (or “TE”, which is the delay between the radiofrequency pulse and the reception of a signal) to correct systematic errors induced by inhomogeneities in the main field, and incorrect assumed chemical shifts (37,39).

MRI scan manufacturers extended these modified “Dixon” sequences to improve accuracy and provide quantitative information. Initially implemented to quantitate hepatic steatosis, these multi-gradient-echo sequences include lipid spectra and T2* corrections. They are known as mDixon-Quant and IDEAL-IQ depending on the manufacturer. Fat fraction maps are automatically generated, through an online post-processing. By using small flip angles to correct for T₁ bias effects, these tools may theoretically be used for musculoskeletal applications, and especially for BMA quantitation (15,40).

Finally, and like routine sequences, quantitative chemical-shift imaging allows large anatomical coverage. Apart from regions close to high magnetic susceptibility effects like lungs, full body MRI imaging is potentially accessible, after controlling and optimizing acquisition parameters.

Measurements were validated in calibrated *ex vivo* bone samples (41). A good correlation has also been observed between water-fat evaluation and histology or ¹H-MRS (25).

CLINICAL APPLICATIONS

Imaging bone marrow adiposity in human studies

Chemical-shift imaging has even been proven to be useful in abdominal radiology when assessing adrenal masses, to screen for intracellular lipids which would suggest benignancy (42).

Similarly, looking for microscopic fat may help identifying marrow-replacing pathologies from physiological BMA, especially red marrow fat. Signal intensity ratios between in-phase and out-of-phase acquisitions may provide similar information about marrow fat as $^1\text{H-MRS}$ for some authors (43). As malignant lesions would have less intracellular lipids than normal marrow, the signal dropout between in-phase and out-of-phase acquisitions would be consequently less important, and a threshold of 20% has been suggested to discriminate benignancy from malignancy (Figure 7) (43–47). However, these retrospective studies need to be validated in larger cohorts; use of this cut-off does not however affect current radiological practice for an undetermined bone lesion.

Many other clinical applications are based on quantitative chemical-shift imaging (QCSI). A few authors have validated this imaging tool for Gaucher's disease follow-up (48). Similarly, changes in BMFF have also been observed and confirmed with $^1\text{H-MRS}$ in post-menopausal osteoporotic women, with an inverse relationship demonstrated with BMD (49).

ROLE IN BMA IMAGING

With corrected QCSI, true BMFF ranges from 20% to 60%, with measurements confirmed by $^1\text{H-MRS}$. There are variations for each spine level, increasing from C3 to L5, and differences between genders, with higher BMFF in young adult males (50). The accessibility and excellent reproducibility of QCSI make this method a good candidate for marrow fat quantitation, especially on emerging BMA-related topics like osteoporosis (49).

Imaging bone marrow adiposity in human studies

It is however to be noted that, even if the term “quantitative chemical-shift imaging” is largely employed in the literature, T1 and T2* correction are not always applied. Among the numerous biases which can arise when measuring fat fractions, these are the main factors to consider. As a result, interpreting measurements should be made with caution when these biases are not taken into account.

PROTON MR SPECTROSCOPY

PRINCIPLES

Largely used to study brain disorders, proton MR spectroscopy (^1H -MRS) is considered as an excellent method to evaluate BMA (15,51). This advanced imaging tool allows molecular discrimination based on the signal from protons moieties within the sampled voxel. ^1H -MRS does not give any morphological information of an acquired volume but a spectra representing its chemical composition. Similarly to chemical-shift imaging, metabolites are discriminated thanks to their different resonance frequencies.

Concerning BMA, at least two main peaks can be individualized on a standard ^1H -MRS acquisition, matching with water at 4.7 ppm and with methylene groups ($-(\text{CH}_2)_n-$) from fatty acids at 1.3 ppm (Figure 8). The area under each peak is quantitatively correlated to the density of the corresponding molecules in the acquired volume. BMFF can be calculated accurately from these measurements.

ADVANTAGES AND LIMITS

^1H -MRS provides reproducible results to evaluate BMFF in the femoral neck and lumbar spine, with a low coefficient of variation, less than 2% (52,53). Measurements have also been confirmed with histopathological findings in rabbits (54).

Imaging bone marrow adiposity in human studies

One more advantage of ^1H -MRS is its ability to go further in the molecular analysis. After correcting for biases and artifacts, the ^1H -MRS spectra can be fitted with a lipid model to individualize more accurately the other components. The olefinic acid ($-\text{CH}=\text{CH}-$) peak, located at 5.3 ppm, is of particular importance. This peak allows an estimate of fatty acid unsaturated bonds which is useful to calculate an unsaturation index.

However, ^1H -MRS requires technical skills and experienced radiologists to deal with the various subtleties of this advanced method. Information provided by ^1H -MRS comes at a cost. Its implementation is challenging in the bone marrow, and the consideration of multiple technical aspects is required to obtain reliable measurements.

Indeed, among the different ^1H -MRS techniques, single-voxel methods are essentially used in musculoskeletal imaging and only allow a limited and focal anatomical coverage, usually around the size of one vertebra. The stimulated-echo acquisition mode (STEAM) and point-resolved spectroscopy (PRESS) are the two most employed designs. While the second permits a good signal-to-noise ratio, only STEAM acquisitions suit well for BMA quantitation (15). By allowing shorter TE, this latter sequence is less prone to J-coupling effects resulting from spin-spin coupling within lipids, which alters the acquired spectra quality.

Besides, like chemical-shift imaging, correction of the accelerated $T2^*$ decay should also be made, especially regarding the increasing main magnetic field in the current MRI scans (55). Single-echo ^1H -MRS acquisitions allow only signal-weighted BMFF, as a simple change in the sequence parameters can alter the measured BMFF (56). Indeed, measurements vary with the chosen TE (Figure 9). A $T2^*$ decay correction is needed for a pertinent comparison of BMFF. These considerations have to be taken into account to allow for pertinent and reproducible BMA quantification.

Imaging bone marrow adiposity in human studies

CLINICAL APPLICATIONS

Many studies rely on ^1H -MRS when they need BMA assessment, to demonstrate for example the inverse relationship between BMD and BMA –through BMFF estimates– in women with osteoporosis or anorexia nervosa (57,4). Physiological BMFF variations, like in the lumbar spine, have also been assessed with ^1H -MRS, where measurements range from 20% to 60%, with age and gender variance (15).

Interestingly, in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus, a significant correlation has been demonstrated between glycated hemoglobin A1c (HbA1c) and bone marrow fat content. With HbA1c levels above 7%, BMFF was higher than in subjects with lower HbA1c values ($73.5 \pm 5.6\%$ versus $64.1 \pm 6.9\%$; $p < 0.05$). In this study, the authors suggested BMFF as a biomarker to assess diabetes control (58).

Besides, by providing an extended chemical composition, ^1H -MRS provide useful information: BMA composition plays an important role in pathophysiological processes, for instance in patients having fragility fractures, who also have lower unsaturation levels in bone marrow (59).

ROLE IN BMA IMAGING

All these considerations make ^1H -MRS an imaging gold standard to analyze accurately and quantitate BMA non-invasively. However, its technical implementation and the use of post-processing software are not straightforward, such that it is mainly reserved for research purposes.

DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED MRI : ASSESSING BONE MARROW ADIPOCYTES' VASCULAR ROOMMATE

PRINCIPLES

Imaging bone marrow adiposity in human studies

DCE-MRI is an advanced MRI sequence which provides quantitative parameters on the vascularization properties of a given tissue. It does not image the architecture of the vascular network itself but describes the behavior of the blood flowing through a tissue (inflow, outflow and exchanges between these two compartments).

This tool requires the injection of an intravascular contrast agent (usually gadolinium-based). Images are acquired before, during and after its intravenous administration. A post-processing software is required to measure the signal intensity of the contrast agent as a function of time in each voxel. The resulting time-intensity curves can be analyzed geometrically with four simple parameters : initial slope, time to peak, area under the curve and outflow rate. These features are convenient to compare tissue behavior between different anatomical areas or different subjects. They can be represented on maps matched with anatomical images (Figure 10) (60). Yet, they have no direct physiological meaning, and should be interpreted according to a theoretical model.

Complex mathematical tools and a tracer kinetic model are used to calculate these so-called “pharmacokinetic” parameters. The Tofts model (Figure 11) is often used in skeletal perfusion studies (61). It hypothesizes that each tissue can be separated in two: a plasmatic compartment (the blood within the tissue microvessels) and an extravascular extracellular space (V_e). The exchanges between these two compartments are bidirectional and symmetric. The transfer constant (K^{trans}) and the efflux rate constant (K_{ep}) reflect these exchanges and thus assess vessel permeability. Logically, these three variables are dependent on each other, and related on the basis of the following equation: $K_{ep} = K^{trans}/V_e$.

ADVANTAGES AND LIMITS

Imaging bone marrow adiposity in human studies

The main limitations of DCE-MRI are the need for an intravenous contrast agent and the use of a theoretical model which approximates measurements. The most commonly encountered adverse effect with gadolinium is an allergic reaction that is usually mild but can be life-threatening in exceptional cases (62). Nephrogenic systemic fibrosis is an exceptional condition which has been observed only in rare cases, in patients with advanced and severe kidney disease. However, recent controversies about gadolinium deposition in the brain and extracranial tissues encourage to use these molecules with care (63).

CLINICAL APPLICATIONS

In a recent DCE-MRI study, the authors showed a difference between the vascular behavior of subcutaneous fat and BMA. While the exchanges between blood and bone marrow were positively correlated in the hip bones, vascularization was reduced in the subcutaneous adipose tissue when the body mass index increased (64). The same authors also showed a heterogeneous perfusion in the subchondral bone marrow within femoral heads (65). Consequently, mechanical load could affect bone marrow perfusion with zonal variations, especially in subchondral areas of weight-bearing joints.

In animal studies, a reduced perfusion (reduced K^{trans}) is associated with an increased BMFF assessed by 1H -MRS (66). Likewise, there is an association between BMA and perfusion parameters, varying in accordance to the vertebral level and its mechanical constraints (67). These observations suggest that the increased BMA compartment leads to a tighter extracellular space (diminished V_e) and a decreased microvessel density, which may be one early stage of osteoporotic-related conditions (66). As a result, when perfusion is altered in pathological conditions, the importance of BMA may change such that it could potentially play a role in the lowered stress resistance.

Imaging bone marrow adiposity in human studies

ROLE IN BMA IMAGING

Although dynamic contrast-enhanced MRI (DCE-MRI) does not directly assess BMA, it gives information on bone tissular vascular behavior. The exploration of bone marrow vascularization opens promising opportunities for the identification of imaging biomarkers in various BMA-associated disorders.

DIFFUSION-WEIGHTED IMAGING

PRINCIPLES

Diffusion-weighted imaging (DWI) is based on the study of water molecules movements within a given tissue. DWI is a sequence used frequently in daily practice. It relies primarily on a fast acquisition method, called echo planar imaging (EPI), repeated with different b values (usually between 0 and 1000 s/mm²). An apparent diffusion coefficient (ADC) map can be calculated and generated from these acquisitions. Each value on this parametric map describes best the movement of water molecules: lower values suggest a restricted range of motion, as in carcinologic conditions, where cellular marrow infiltration prevents water molecules from moving freely.

ADVANTAGES AND LIMITS

DWI is one of the most regularly used sequences in MRI. ADC maps are generated online and automatically, and measurements are straightforward.

However, it suffers from a poor spatial resolution and a few technical limitations which are especially encountered when exploring bone marrow with DWI. Diffusion sequences are particularly prone to magnetic susceptibility, more than in chemical-shift imaging. While parallel techniques and suppression pulses with reduced field of views decrease geometric distortion, scan times are longer and noisier than for other organs (15). Moreover, fat

Imaging bone marrow adiposity in human studies

suppression has to be applied to analyze accurately water. Spectral suppression techniques are usually employed, but insufficient to obtain accurate acquisitions, as glycerol and olefinic peaks are close to the water peak (68).

CLINICAL APPLICATIONS

Physiological studies show that the normal ADC ranges from 0.2 to $0.6 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, with yellow marrow regions having lower values due to the presence of larger adipocytes (15,69). ADC values have also been shown to be significantly and slightly positively correlated with BMD and vertebral marrow fat in postmenopausal women with osteoporosis, which was confirmed in other studies regarding BMD alone (69,70).

ROLE IN BMA IMAGING

As a result, by evaluating and quantifying water molecule restriction, DWI can be an indirect marker of bone marrow architecture but cannot assess directly BMA, and should be combined with other sequences to assess exhaustively bone composition.

OTHER ADVANCED MRI TECHNIQUES

Many advanced and complex MRI sequences, like $T2^*$ and $R2'$ mapping, diffusion tensor imaging and internal magnetic field gradient imaging, have been developed to provide quantitative or semi-quantitative information about various tissues. These sequences give key information about bone architecture. Although they are not suitable for routine practice and do not reflect directly BMA, they allow to consider more accurately the trabecular microarchitecture. We chose not to develop these techniques in this article because they were rarely reported in human studies evaluating bone marrow. However, they may take on more importance in the future literature, in association with other sequences assessing BMA (71–75).

CONCLUSION

Researchers interested in the assessment of BMA should be aware of the emergence of clinical imaging tools for evaluation and quantification. We assume that *in vivo* assessment of BMA may help to better understand BMA physiology and pathophysiological mechanisms involved in various bone marrow disorders. In patients with obesity, BMA assessment can also contribute to a better evaluation of the metabolic status: BMA changes may reflect potential bone fragility and/or a poor control of HbA1c if type 2 diabetes mellitus is present.

DECT and quantitative computed tomography methods, especially with high-resolution scans, are interesting tools, providing simultaneously both volumetric BMD and fat quantification. Yet, these techniques use ionizing radiation and provide little information concerning BMA.

MRI appears as the modality of choice when considering BMA studies involving humans. It does not use ionizing radiation and above all offers many possibilities to assess the bone marrow. MRI can also provide quantitative information about BMA, especially with chemical-shift imaging and ^1H -MRS sequences which are already available with most clinical MRI machines. It also allows precise anatomical study and gives precious information on bone marrow, such as its vascular properties. Because MRI is technically demanding, researchers planning to conduct BMA studies should collaborate with specialized musculoskeletal radiologists to determine what is possible and which protocol best meets their expectations. Scientists and radiologists should undertake further studies to improve BMA measurement accuracy.

Finally, image analysis in current radiology practice mainly focuses on the mineral compartment of bone tissue. By taking into account its organic part, BMA, assessment of bone strength and quality can become more pertinent, thanks to clever use of already available imaging modalities. The conjunction of these efforts should improve our understanding of BMA physiology and pathophysiological processes involving BMA.

REFERENCES

1. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*. 2014 Aug;384(9945):766–81.
2. Hardouin P, Rharass T, Lucas S. Bone Marrow Adipose Tissue: To Be or Not To Be a Typical Adipose Tissue? *Front Endocrinol*. 2016 Jun 30;7.
3. Rosen CJ, Ackert-Bicknell C, Rodriguez JP, Pino AM. Marrow Fat and the Bone Microenvironment: Developmental, Functional, and Pathological Implications. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2009;19(2):109–24.
4. Paccou J, Hardouin P, Cotten A, Penel G, Cortet B. The Role of Bone Marrow Fat in Skeletal Health: Usefulness and Perspectives for Clinicians. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Oct;100(10):3613–21.
5. Morris EV, Edwards CM. Bone Marrow Adipose Tissue: A New Player in Cancer Metastasis to Bone. *Front Endocrinol*. 2016 Jul 14;7.
6. Devlin MJ, Rosen CJ. The bone-fat interface: basic and clinical implications of marrow adiposity. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015 Feb;3(2):141–7.
7. Rantalainen T, Nikander R, Heinonen A, Cervinka T, Sievänen H, Daly RM. Differential effects of exercise on tibial shaft marrow density in young female athletes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 May;98(5):2037–44.
8. Bredella MA, Lin E, Gerweck AV, Landa MG, Thomas BJ, Torriani M, et al. Determinants of bone microarchitecture and mechanical properties in obese men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Nov;97(11):4115–22.
9. Veldhuis-Vlug AG, Rosen CJ. Clinical implications of bone marrow adiposity. *J Intern Med*. 2018 Feb;283(2):121–39.
10. Guglielmi G, Muscarella S, Bazzocchi A. Integrated Imaging Approach to Osteoporosis: State-of-the-Art Review and Update. *RadioGraphics*. 2011 Sep;31(5):1343–64.

11. Webber CE. The effect of fat on bone mineral measurements in normal subjects with recommended values of bone, muscle and fat attenuation coefficients. *Clin Phys Physiol Meas Off J Hosp Phys Assoc Dtsch Ges Med Phys Eur Fed Organ Med Phys*. 1987 May;8(2):143–58.
12. Kuiper JW, van Kuijk C, Grashuis JL, Ederveen AG, Schütte HE. 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 J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 1996;6(1):25–30.
13. Mazess RB, Trempe JA, Bisek JP, Hanson JA, Hans D. Calibration of dual-energy X-ray absorptiometry for bone density. *J Bone Miner Res*. 2009 Dec 3;6(8):799–806.
14. Dunnill MS, Anderson JA, Whitehead R. Quantitative histological studies on age changes in bone. *J Pathol Bacteriol*. 1967 Oct;94(2):275–91.
15. Karampinos DC, Ruschke S, Dieckmeyer M, Diefenbach M, Franz D, Gersing AS, et al. Quantitative MRI and spectroscopy of bone marrow. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2017 Jun 1;
16. Bredella MA, Daley SM, Kalra MK, Brown JK, Miller KK, Torriani M. Marrow Adipose Tissue Quantification of the Lumbar Spine by Using Dual-Energy CT and Single-Voxel (1)H MR Spectroscopy: A Feasibility Study. *Radiology*. 2015 Oct;277(1):230–5.
17. Lentle BC, Prior JC. Osteoporosis: What a clinician expects to learn from a patient's bone density examination. *Radiology*. 2003 Sep;228(3):620–8.
18. Burghardt AJ, Link TM, Majumdar S. High-resolution computed tomography for clinical imaging of bone microarchitecture. *Clin Orthop*. 2011 Aug;469(8):2179–93.
19. Peña JA, Thomsen F, Damm T, Campbell GM, Bastgen J, Barkmann R, et al. Bone-marrow densitometry: Assessment of marrow space of human vertebrae by single energy high resolution-quantitative computed tomography: Bone-marrow densitometry by CT. *Med Phys*. 2016 Jun 14;43(7):4174–83.
20. Knowles NK, Reeves JM, Ferreira LM. Quantitative Computed Tomography (QCT) derived Bone Mineral Density (BMD) in finite element studies: a review of the literature. *J Exp Orthop [Internet]*. 2016 Dec [cited 2017 Nov 30];3(1). Available from: <http://jeo-esska.springeropen.com/articles/10.1186/s40634-016-0072-2>
21. Gibbs JC, Brown ZM, Wong AKO, Craven BC, Adachi JD, Giangregorio LM. Measuring Marrow Density and Area Using Peripheral Quantitative Computed Tomography at the Tibia: Precision in Young and Older Adults and Individuals With Spinal Cord Injury. *J Clin Densitom Off J Int Soc Clin Densitom*. 2017 Mar 27;
22. Laval-Jeantet AM, Roger B, Bouysee S, Bergot C, Mazess RB. Influence of vertebral fat content on quantitative CT density. *Radiology*. 1986 May;159(2):463–6.

23. 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 Oct;22(10):799–810.
24. Goodsitt MM, Hoover P, Veldee MS, Hsueh SL. The composition of bone marrow for a dual-energy quantitative computed tomography technique. A cadaver and computer simulation study. *Invest Radiol.* 1994 Jul;29(7):695–704.
25. Arentsen L, Yagi M, Takahashi Y, Bolan PJ, White M, Yee D, et al. Validation of marrow fat assessment using noninvasive imaging with histologic examination of human bone samples. *Bone.* 2015 Mar;72:118–22.
26. Arentsen L, Hansen KE, Yagi M, Takahashi Y, Shanley R, McArthur A, et al. Use of dual-energy computed tomography to measure skeletal-wide marrow composition and cancellous bone mineral density. *J Bone Miner Metab.* 2017 Jul;35(4):428–36.
27. Rosenthal DI, Mayo-Smith W, Goodsitt MM, Doppelt S, Mankin HJ. Bone and bone marrow changes in Gaucher disease: evaluation with quantitative CT. *Radiology.* 1989 Jan;170(1 Pt 1):143–6.
28. Hui SK, Arentsen L, Sueblinvong T, Brown K, Bolan P, Ghebre RG, et al. A phase I feasibility study of multi-modality imaging assessing rapid expansion of marrow fat and decreased bone mineral density in cancer patients. *Bone.* 2015 Apr;73:90–7.
29. Chen Y, Ma HT, Liang L, Zhang C, Griffith JF, Leung P-C. A simulation study on marrow fat effect on biomechanics of vertebra bone. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf.* 2015;2015:3921–4.
30. Lespessailles E, Cortet B, Legrand E, Guggenbuhl P, Roux C. Low-trauma fractures without osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2017 Jun;28(6):1771–8.
31. Vogler JB, Murphy WA. Bone marrow imaging. *Radiology.* 1988 Sep;168(3):679–93.
32. Shen W, Gong X, Weiss J, Jin Y. Comparison among T1-weighted magnetic resonance imaging, modified dixon method, and magnetic resonance spectroscopy in measuring bone marrow fat. *J Obes.* 2013;2013:298675.
33. Wilson AJ, Hodge JC, Pilgram TK, Kang EH, Murphy WA. Prevalence of red marrow around the knee joint in adults as demonstrated on magnetic resonance imaging. *Acad Radiol.* 1996 Jul;3(7):550–5.
34. Gorgey AS, Poarch HJ, Adler RA, Khalil RE, Gater DR. Femoral bone marrow adiposity and cortical bone cross-sectional areas in men with motor complete spinal cord injury. *PM R.* 2013 Nov;5(11):939–48.
35. Maas M, Poll LW, Terk MR. Imaging and quantifying skeletal involvement in Gaucher disease. *Br J Radiol.* 2002 May 24;75(suppl_1):A13–24.

36. Dixon WT. Simple proton spectroscopic imaging. *Radiology*. 1984 Oct;153(1):189–94.
37. Buxton RB, Wismer GL, Brady TJ, Rosen BR. Quantitative proton chemical-shift imaging. *Magn Reson Med*. 1986 Dec;3(6):881–900.
38. Aue W, Lazeyras F, Terrier F. Quantitative proton chemical-shift imaging. *J Magn Reson* 1969. 1988 Mar;77(1):160–5.
39. Glover GH, Schneider E. Three-point Dixon technique for true water/fat decomposition with B₀ inhomogeneity correction. *Magn Reson Med*. 1991 Apr;18(2):371–83.
40. Le Ster C, Gambarota G, Lasbleiz J, Guillin R, Decaux O, Saint-Jalmes H. Breath-hold MR measurements of fat fraction, T₁, and T₂ * of water and fat in vertebral bone marrow. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2016 Sep;44(3):549–55.
41. Gee CS, Nguyen JTK, Marquez CJ, Heunis J, Lai A, Wyatt C, et al. Validation of bone marrow fat quantification in the presence of trabecular bone using MRI. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2015 Aug;42(2):539–44.
42. Elsayes KM, Mukundan G, Narra VR, Lewis JS, Shirkhoda A, Farooki A, et al. Adrenal Masses: MR Imaging Features with Pathologic Correlation. *RadioGraphics*. 2004 Oct;24(suppl_1):S73–86.
43. Ojanen X, Borra RJH, Havu M, Cheng SM, Parkkola R, Nuutila P, et al. Comparison of vertebral bone marrow fat assessed by 1H MRS and inphase and out-of-phase MRI among family members. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 2014 Feb;25(2):653–62.
44. Disler DG, McCauley TR, Ratner LM, Kesack CD, Cooper JA. In-phase and out-of-phase MR imaging of bone marrow: prediction of neoplasia based on the detection of coexistent fat and water. *Am J Roentgenol*. 1997 Nov;169(5):1439–47.
45. Zampa V, Cosottini M, Michelassi M, Ortori S, Bruschini L, Bartolozzi C. Value of opposed-phase gradient-echo technique in distinguishing between benign and malignant vertebral lesions. *Eur Radiol*. 2002 Jul;12(7):1811–8.
46. Zajick DC, Morrison WB, Schweitzer ME, Parellada JA, Carrino JA. Benign and malignant processes: normal values and differentiation with chemical shift MR imaging in vertebral marrow. *Radiology*. 2005 Nov;237(2):590–6.
47. Winfeld M, Ahlawat S, Safdar N. Utilization of chemical shift MRI in the diagnosis of disorders affecting pediatric bone marrow. *Skeletal Radiol*. 2016 Sep;45(9):1205–12.
48. Maas M, Hollak CEM, Akkerman EM, Aerts JMFG, Stoker J, Den Heeten GJ. 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 Oct;179(4):961–5.

49. Li G-W, Xu Z, Chen Q-W, Tian Y-N, Wang X-Y, Zhou L, et al. Quantitative evaluation of vertebral marrow adipose tissue in postmenopausal female using MRI chemical shift-based water-fat separation. *Clin Radiol*. 2014 Mar;69(3):254–62.

50. Baum T, Yap SP, Dieckmeyer M, Ruschke S, Eggers H, Kooijman H, et al. Assessment of whole spine vertebral bone marrow fat using chemical shift-encoding based water-fat MRI. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2015 Oct;42(4):1018–23.

51. Öz G, Alger JR, Barker PB, Bartha R, Bizzi A, Boesch C, et al. Clinical Proton MR Spectroscopy in Central Nervous System Disorders. *Radiology*. 2014 Mar;270:658–79.

52. Griffith JF, Yeung DKW, Chow SKK, Leung JCS, Leung PC. Reproducibility of MR perfusion and (1)H spectroscopy of bone marrow. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2009 Jun;29(6):1438–42.

53. Li X, Kuo D, Schafer AL, Porzig A, Link TM, Black D, 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 JMRI*. 2011 Apr;33(4):974–9.

54. Li G, Tang G, Liu Y, Tang R, Peng Y, Li W. MR spectroscopy and micro-CT in evaluation of osteoporosis model in rabbits: comparison with histopathology. *Eur Radiol*. 2012 Apr;22(4):923–9.

55. Rosenthal H, Thulborn KR, Rosenthal DI, Kim SH, Rosen BR. Magnetic susceptibility effects of trabecular bone on magnetic resonance imaging of bone marrow. *Invest Radiol*. 1990 Feb;25(2):173–8.

56. Dieckmeyer M, Ruschke S, Cordes C, Yap SP, Kooijman H, Hauner H, et al. The need for T₂ correction on MRS-based vertebral bone marrow fat quantification: implications for bone marrow fat fraction age dependence. *NMR Biomed*. 2015 Apr;28(4):432–9.

57. Bredella MA, Fazeli PK, Daley SM, Miller KK, Rosen CJ, Klibanski A, et al. Marrow fat composition in anorexia nervosa. *Bone*. 2014 Sep;66:199–204.

58. Baum T, Yap SP, Karampinos DC, Nardo L, Kuo D, Burghardt AJ, et al. Does vertebral bone marrow fat content correlate with abdominal adipose tissue, lumbar spine bone mineral density, and blood biomarkers in women with type 2 diabetes mellitus? *J Magn Reson Imaging*. 2012 Jan;35(1):117–24.

59. Patsch JM, Li X, Baum T, Yap SP, Karampinos DC, Schwartz AV, et al. Bone marrow fat composition as a novel imaging biomarker in postmenopausal women with prevalent fragility fractures. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2013 Aug;28(8):1721–8.

60. Budzik J-F, Lefebvre G, Forzy G, El Rafei M, Chechin D, Cotten A. Study of

proximal femoral bone perfusion with 3D T1 dynamic contrast-enhanced MRI: a feasibility study. *Eur Radiol*. 2014 Dec;24(12):3217–23.

61. Budzik J-F. Assessment of bone marrow perfusion with dynamic-contrast enhancement MRI [Internet] [Human health and pathology]. [Lille]: Lille 2 University of Health and Law; 2015. Available from: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01261678>
62. Ramalho M, Ramalho J. Gadolinium-Based Contrast Agents. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 2017 Nov;25(4):755–64.
63. Kanda T, Nakai Y, Oba H, Toyoda K, Kitajima K, Furui S. Gadolinium deposition in the brain. *Magn Reson Imaging*. 2016 Dec;34(10):1346–50.
64. Budzik J-F, Lefebvre G, Behal H, Vercluyte S, Hardouin P, Teixeira P, et al. Bone marrow perfusion measured with dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging is correlated to body mass index in adults. *Bone*. 2017 Jun;99:47–52.
65. Budzik J-F, Lefebvre G, Behal H, Vercluyte S, Hardouin P, Teixeira P, et al. Assessment of the zonal variation of perfusion parameters in the femoral head: a 3-T dynamic contrast-enhanced MRI pilot study. *Skeletal Radiol* [Internet]. 2017 Nov 15 [cited 2017 Dec 8]; Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00256-017-2802-7>
66. Zhu J, Zhang L, Wu X, Xiong Z, Qiu Y, Hua T, et al. Reduction of Longitudinal Vertebral Blood Perfusion and Its Likely Causes: A Quantitative Dynamic Contrast-enhanced MR Imaging Study of a Rat Osteoporosis Model. *Radiology*. 2017 Feb;282(2):369–80.
67. Ma HT, Lv H, Griffith JF, Li AFW, Yeung DKW, Leung J, et al. Perfusion and bone mineral density as function of vertebral level at lumbar spine. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf*. 2012;2012:3488–91.
68. Dieckmeyer M, Ruschke S, Eggers H, Kooijman H, Rummeny EJ, Kirschke JS, et al. ADC Quantification of the Vertebral Bone Marrow Water Component: Removing the Confounding Effect of Residual Fat. *Magn Reson Med*. 2016 Nov 8;
69. Dietrich O, Geith T, Reiser MF, Baur-Melnyk A. Diffusion imaging of the vertebral bone marrow. *NMR Biomed*. 2017 Mar;30(3).
70. Tang GY, Lv ZW, Tang RB, Liu Y, Peng YF, Li W, et al. Evaluation of MR spectroscopy and diffusion-weighted MRI in detecting bone marrow changes in postmenopausal women with osteoporosis. *Clin Radiol*. 2010 May;65(5):377–81.
71. Wehrli FW, Ford JC, Attie M, Kressel HY, Kaplan FS. Trabecular structure: preliminary application of MR interferometry. *Radiology*. 1991 Jun;179(3):615–21.
72. Wehrli FW, Hopkins JA, Hwang SN, Song HK, Snyder PJ, Haddad JG. Cross-sectional study of osteopenia with quantitative MR imaging and bone densitometry. *Radiology*. 2000 Nov;217(2):527–38.

Imaging bone marrow adiposity in human studies

73. Manenti G, Capuani S, Fanucci E, Assako EP, Masala S, Sorge R, et al. Diffusion tensor imaging and magnetic resonance spectroscopy assessment of cancellous bone quality in femoral neck of healthy, osteopenic and osteoporotic subjects at 3T: Preliminary experience. *Bone*. 2013 Jul;55(1):7–15.
74. Rebuzzi M, Vinicola V, Taggi F, Sabatini U, Wehrli FW, Capuani S. Potential diagnostic role of the MRI-derived internal magnetic field gradient in calcaneus cancellous bone for evaluating postmenopausal osteoporosis at 3T. *Bone*. 2013 Nov;57(1):155–63.
75. Majumdar S, Genant HK. In vivo relationship between marrow T2* and trabecular bone density determined with a chemical shift-selective asymmetric spin-echo sequence. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 1992 Apr;2(2):209–19.

FIGURES

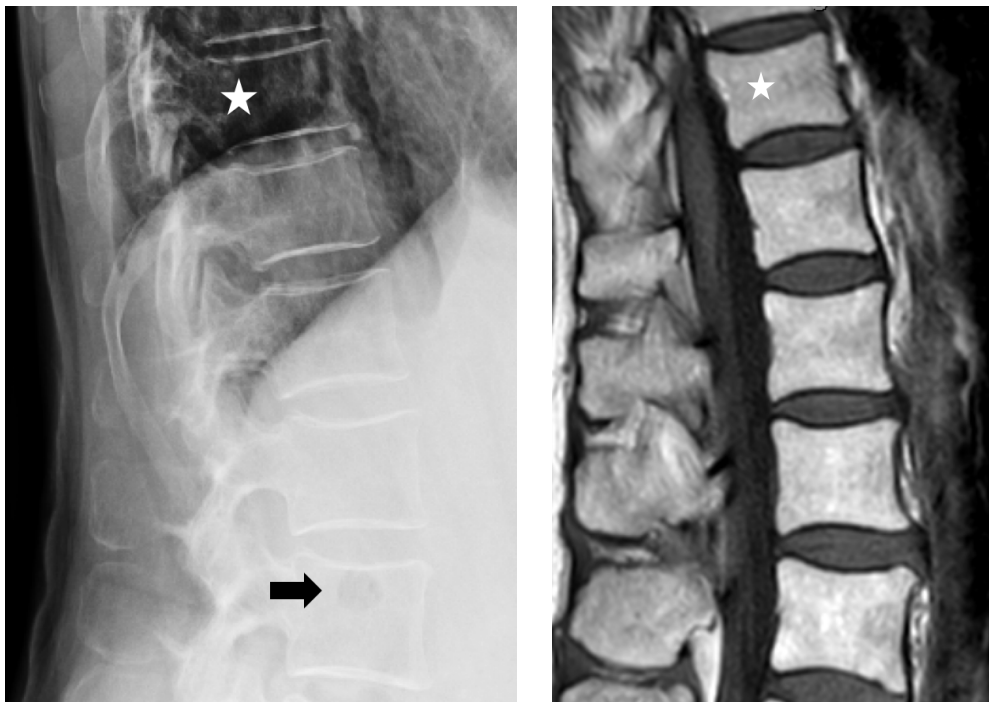


Figure 1 – Lateral view of the dorso-lumbar spine (left) and sagittal T1-weighted magnetic resonance imaging (MRI) acquisition of the corresponding region in the same patient (right). The 11th dorsal vertebra (white star) appears more radiolucent than the lumbar vertebrae due to the superimposition of the air in the chest and the visceral fat in the abdomen, despite similar bone marrow intensity on the MRI acquisition (right). Intestinal gases (black arrow) also modify the apparent vertebral density.



Figure 2 – Coronal T1-weighted MRI acquisition of the left hip of a 28-year-old woman with osteoporosis secondary to anorexia nervosa (top left), confirmed by DXA with a total hip Z-score estimated at -2.1 (top right). Identical acquisitions obtained from the left hip of a 28-year-old woman having no bone loss on DXA show less intense bone marrow fat in the proximal femur (bottom left, bottom right). Note the slight increase in radiolucency in the greater trochanter of the left hip in the anorexic patient (top right: white star).

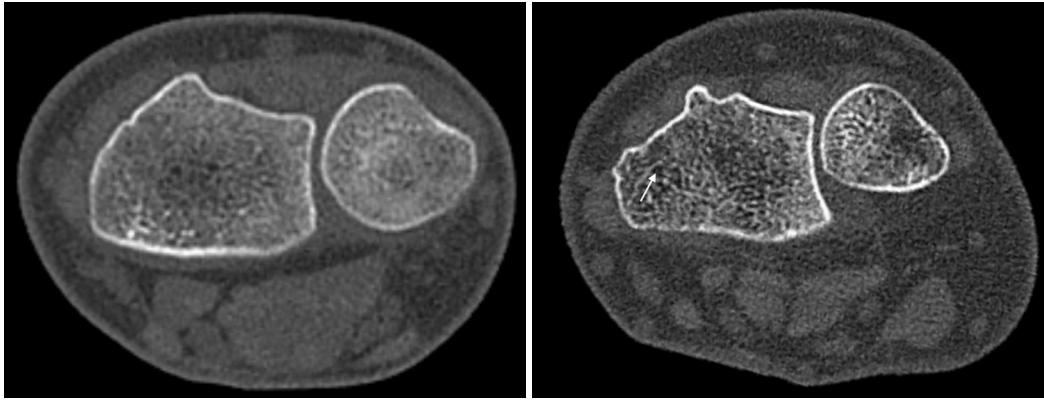


Figure 3 – High-resolution MDCT axial acquisition of the distal radius and ulna of a young (left) and a post-menopausal (right) woman. The inter-trabecular spaces appear as thin hypodense areas, and correspond to BMA-filled regions. They are more visible in the older woman with osteoporosis (left: white arrow).



Figure 4 – Coronal T1-weighted MRI acquisitions of the right hip of young women having decreasing proportions of red marrow fat in their femoral neck, concurrently with increasing yellow marrow fat content (top row). Red marrow (top left: white arrow) appears slightly hypointense while yellow marrow (top left: white star) appears hyperintense on acquisitions. Raw intensity measurements objectify lower values (bottom left, bottom middle) for red marrow fat than for yellow-dominant marrow fat (bottom right). Images were acquired on the same MRI scan, with the exact same parameters. a.u.: arbitrary unit.

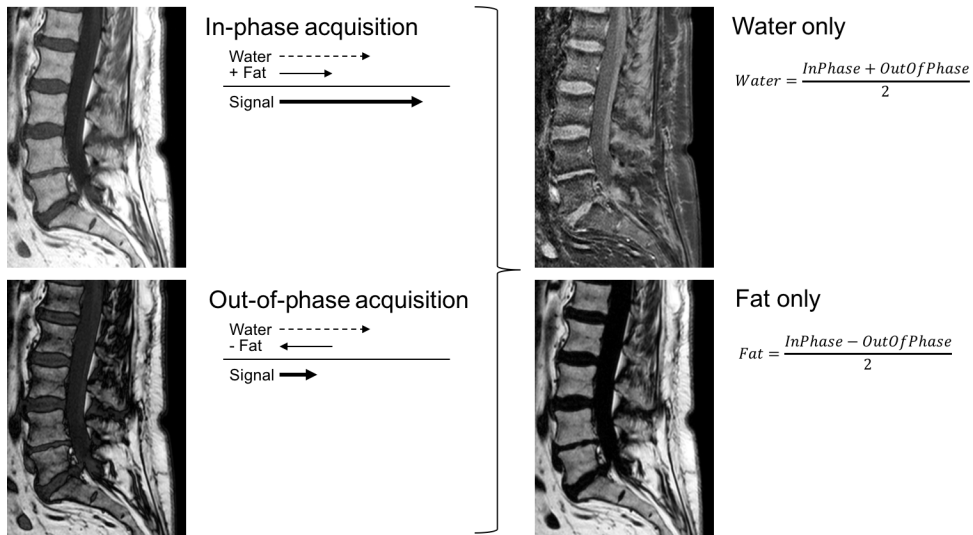


Figure 5 – Dixon technique for simple water and fat imaging. Two images are acquired when signals emitted from water and fat molecules are additive (in-phase acquisition) or subtractive (out-of-phase acquisition). Water and fat only images can be reconstructed following simple mathematical tools.

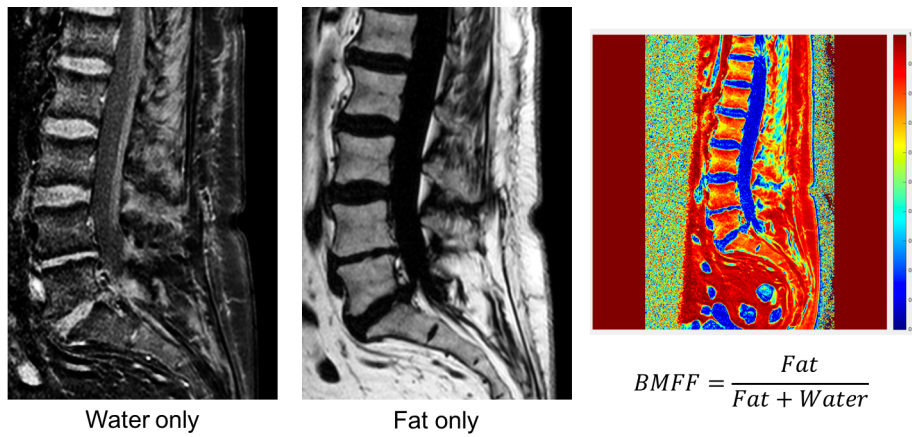


Figure 6 – Based on the images issued from Dixon techniques (water and fat only reconstructions), a bone marrow fat fraction (BMFF) map (on the right) can be generated. It is important to note that this fat fraction map is signal-weighted, depending on sequence and scan parameters, especially if no T2* correction is applied.

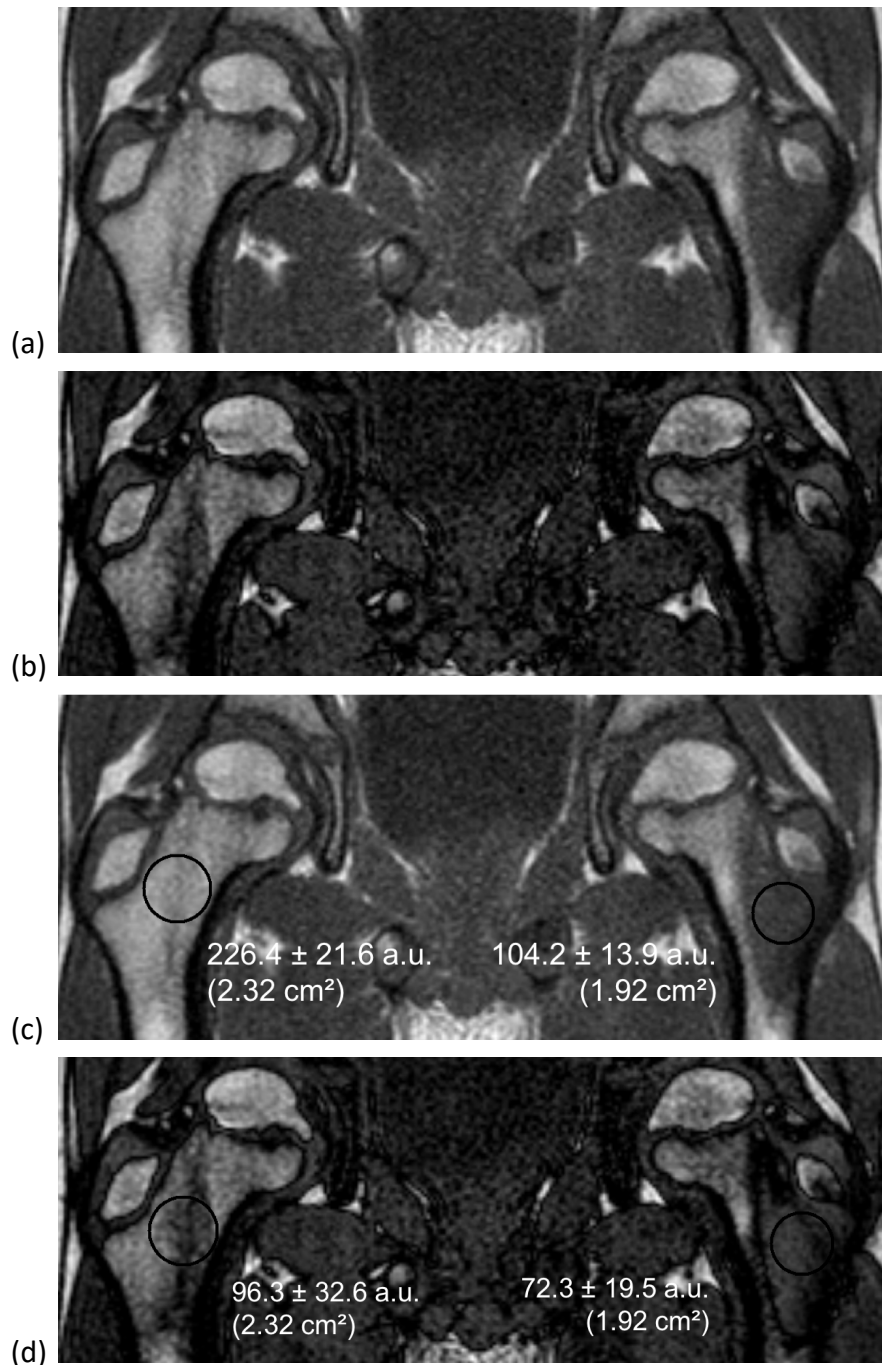


Figure 7 – Coronal T1-weighted in-phase (a, c) and out-of-phase (b, d) acquisitions of the hips of an 8-year-old boy with acute left proximal femoral osteomyelitis. Note the frank signal drop-out (more than 20%) in the proximal metaphysis of each femur (c, d) between in- and out-of-phase, which could be in favor of benignancy (and not a malignant tumor) according to some authors (43-47). a.u.: arbitrary unit.

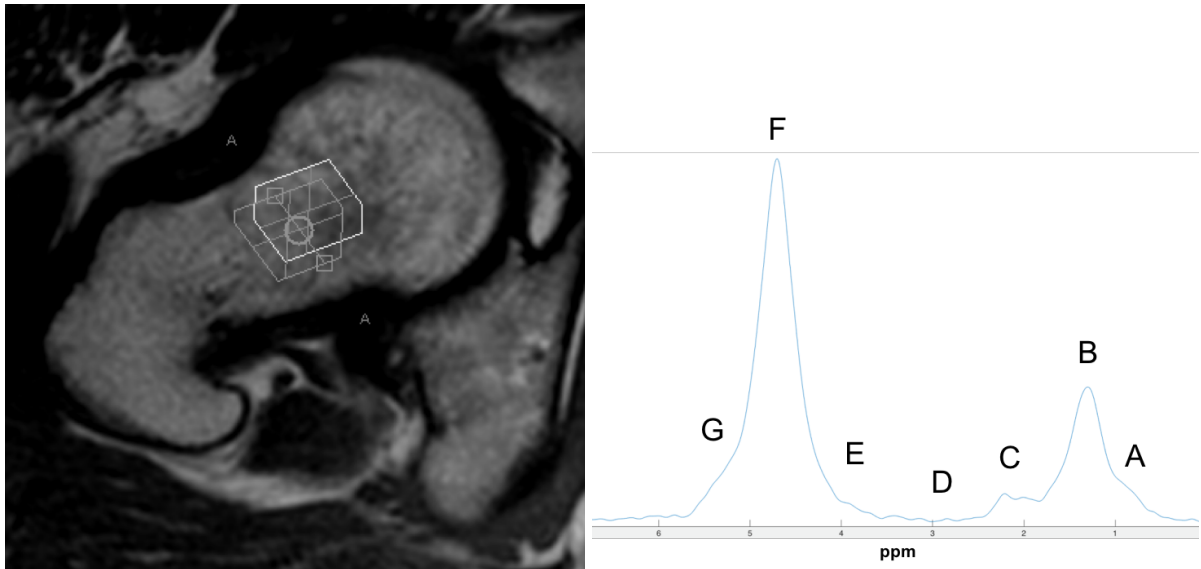


Figure 8 – Single-TE ^1H -MRS survey acquisition of the bone marrow of a right femoral neck (left). Many peaks can be identified on the spectrum (right). The main peak representing fat molecules is at 1.3 ppm (B: methylene and β -carboxyl groups), and the water peak is at 4.7 ppm (F). Many other peaks may be identified (A: methyl group; C: α -olefinic and α -carboxyl groups; D: diacyl group; E: glycerol; G: olefinic group).

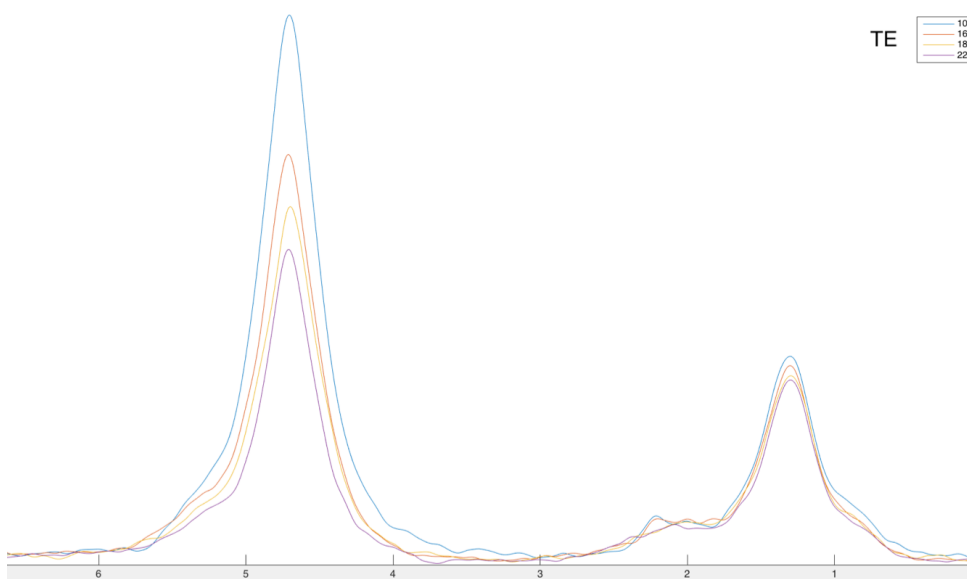


Figure 9 – ^1H -MRS acquisition of the bone marrow of a right femoral neck (same patient as Figure 8) acquired with different echo times (TE). The area under the curve below the water peak at 4.7 ppm varies differently compared to the area under the main fat peak at 1.3 ppm. To calculate the true proton density fat fraction, this variation depending on the T_2^* decay should be corrected.

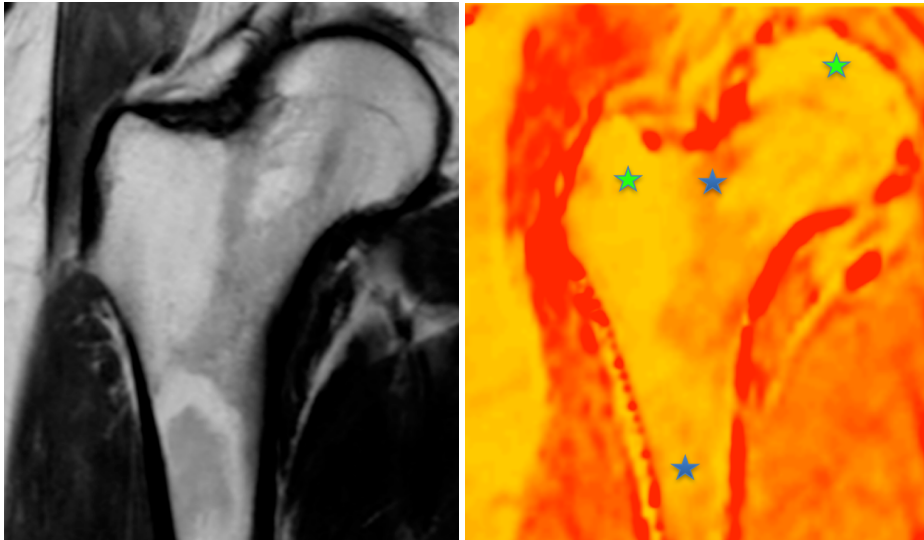


Figure 10 – T1-weighted MRI acquisition (left) and parametric map illustrating the area under the curve obtained from DCE-MRI analysis (right) of a right hip in a coronal plane. In the metaphysis and diaphysis (blue stars), values were higher compared to epiphyseal segments (femoral head and greater trochanter, green stars). These areas correspond respectively to red and yellow bone marrow, which contain different amounts of fat and water.

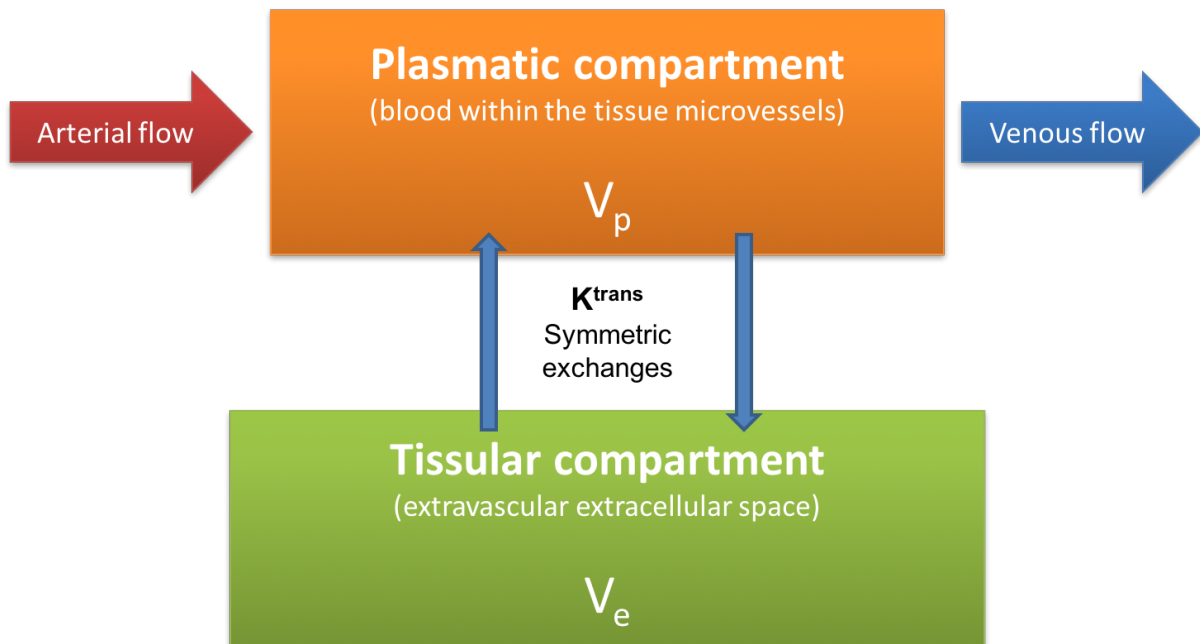


Figure 11 – Standard Tofts model used in DCE-MRI. The “simple” model neglects the plasmatic compartment, whereas the “extended” model takes into account both compartments. K^{trans} is the exchange parameter between the plasmatic and tissular compartments.

Original Article

Comparison of Regional Bone Marrow Adiposity Characteristics at the Hip of Underweight and Weight-Recovered Women with Anorexia Nervosa Using Magnetic Resonance Spectroscopy

BADR Sammy, MD, MSc^{1,2}

LEGROUX-GÉROT Isabelle, MD^{2,3}

VIGNAU Jean, MD^{2,4}

CHAUVEAU Christophe, PhD⁵

RUSCHKE Stefan, PhD⁶

KARAMPINOS Dimitrios C., PhD⁶

BUDZIK Jean-François, MD, PhD^{2,7}

CORTET Bernard, MD, PhD^{2,3}

COTTEN Anne, MD, PhD^{1,2}

¹ CHU Lille, Service de radiologie et imagerie musculosquelettique, F-59000 Lille, France

² Univ. Lille, EA 4490 - PMOI - Physiopathologie des Maladies Osseuses Inflammatoires, F-59000 Lille, France

³ CHU Lille, Service de rhumatologie, F-59000 Lille, France

⁴ CHU Lille, Service d'addictologie, F-59000 Lille, France

⁵ Univ. Littoral Côte d'Opale, EA 4490 - PMOI - Physiopathologie des Maladies Osseuses Inflammatoires, F-62200 Boulogne-sur-Mer, France

⁶ Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Klinikum rechts der Isar, Technical University of Munich, Ismaninger Str. 22, 81675 Munich, Germany.

⁷ Service d'Imagerie Médicale, Groupe Hospitalier de l'Institut Catholique de Lille / Université Catholique de Lille, F-59000 Lille, France

Corresponding author :

Dr. BADR Sammy

CHU Lille – Service de radiologie et imagerie musculosquelettique

Rue Émile Laine, F-59000 Lille, France

Email: sammy.badr@chru-lille.fr | Phone : +33 (0)3 20 44 61 03

Disclosures

DC Karampinos receives grant support from Philips Healthcare.

The other authors declare no conflict of interest in link with the present study.

Abstract

Bone marrow adiposity (BMA) is an underestimated tissue, with properties that may alter bone strength especially in diseases that fragilize bone such as anorexia nervosa. In the present study, we investigated the regional characteristics of BMA at the hip of 40 underweight and 36 weight-recovered anorexic women, along with 10 healthy women, using magnetic resonance spectroscopy at multiple anatomical subregions (acetabulum, femoral neck, proximal femoral diaphysis and greater trochanter) to measure bone marrow fat fraction (BMFF) and apparent lipid unsaturation levels (aLUL). Correlations between BMFF, aLUL, body fat percentage (BF), and bone mineral density (BMD) at the femoral neck and total hip, both measured using dual-energy X-ray absorptiometry, were assessed in anorexic patients. Whereas BMFF was significantly higher and aLUL significantly lower at the femoral neck of underweight and weight-recovered patients compared to controls (BMFF: $90.1\pm 6.7\%$ and $90.3\pm 7.5\%$ respectively versus $81.3\pm 8.1\%$; aLUL: $7.6\pm 1.4\%$ and $7.3\pm 1.3\%$ versus $9.2\pm 1.5\%$), BMFF and aLUL were not significantly different between the 2 subgroups of patients. Besides, three noteworthy features were observed between BMA and the other measured parameters in anorexic patients. First, synergic alterations of BMA were observed at all sites, with an inverse relationship between BMFF and aLUL ($\rho = -0.88$). Second, bone mineral compartment and BMA were associated, as a negative correlation between total hip BMD and BMFF was observed at all sites except the greater trochanter ($\rho = [-0.32;-0.29]$), as well as a positive correlation with aLUL at all sites except the proximal femoral diaphysis ($\rho = [0.25;0.37]$). Finally, we found a positive correlation between BF and BMFF at the femoral neck ($\rho = 0.35$), and a negative correlation between BF and aLUL at this same subregion ($\rho = -0.33$), which suggest a complex relationship between BMA and BF. Overall, BMA possesses regional specificities which may impair bone health, even after weight recovering.

Keywords: Bone marrow adiposity; Magnetic resonance spectroscopy; Dual-energy X-ray absorptiometry; Anorexia nervosa; Lipid unsaturation level

Introduction

Anorexia nervosa (AN) is an eating disorder occurring predominantly in women and characterized by an intense fear of gaining weight (1). The consequent substantial reduction of energy intake induces a hormonal imbalance responsible for multiple comorbidities, which worsen quality of life even in incomplete syndromes (2,3). Among these many complications, bone metabolism and its mineral composition are particularly altered, with a bone loss reported in more than half of the patients, potentially fostering fragility fractures (4,5).

At the cellular level, it is important to remind that osteoblasts and marrow adipocytes have a common progenitor, the skeletal stem cell, whose fate is highly influenced by hormones. In AN as well as in osteoporosis, the final lineage allocation is in favor of adipocytes over osteoblasts (6), which can lead to a paradoxical “bone obesity” that impairs bone resistance to mechanical stress (7). However, this simplistic view is complexified by the different subtypes that bone marrow adiposity (BMA) can have, the existence of regional variations corroborated by MRI or bone staining in histopathological works (8,9), and the underestimated importance of BMA composition. Indeed, several studies reported an alteration of BMA lipidic profile at the spine or on bone marrow samples obtained from iliac crest aspiration of postmenopausal women, with a decrease of lipid unsaturation levels (10–13). Patsch *et al.* even observed a significant association between prevalent fragility fractures and lower unsaturation levels, but not between spinal marrow fat content and fractures (14). Thus, while taking into consideration its spatial heterogeneity, BMA content and composition should be both assessed in order to better understand the physiopathological mechanisms that can promote region-specific skeletal complications in osteoporotic conditions.

In vivo, single-voxel proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS) is considered as a reference to explore BMA, as it is an accurate, reproducible and non-invasive tool that can both quantify BMA fat content and obtain a glimpse of its composition, respectively through the

measurement of bone marrow fat fraction (BMFF) and apparent lipid unsaturation levels (aLUL). Regarding AN, an increased marrow adiposity at the hip and an inverse correlation between saturation levels at the femoral diaphysis and spinal BMD have been reported using this technique, although these data were based on a limited number of subjects (15–17).

Finally, only scarce literature is available on BMA in weight-recovered patients with anorexia nervosa. After short-term partial weight recovering, an abnormal body fat distribution can remain in anorexic women, and osteopenia can persist even after disease recovery (18,19). Interestingly, even after weight normalization, anorexic women can still have an abnormal eating behavior (20). As dietary fat intake appears to play a role in bone health, affecting both BMA composition and bone mineral density (BMD) (21,22), weight recovery may not be sufficient to restore a normal BMA. In an ancillary analysis, Fazeli *et al.* did not observe significant differences in BMFF at the proximal femur between healthy controls, underweight and weight-recovered anorexic patients (23). However, for the authors, their study may suffer from insufficient statistical power to conclude this hypothesis.

Consequently, to efficiently evaluate bone health, BMA characteristics should be precisely depicted in a larger cohort of patients, through BMFF and aLUL measurements using ¹H-MRS at multiple sites. While focusing on multiple subregions of the hip, and with a special attention to the femoral neck, known to be a vulnerable site for fragility fractures, we aimed to compare the regional characteristics of BMA in underweight and weight-recovered anorexic women, along with age-matched healthy women as controls. The secondary objectives were to evaluate the relationship between BMA, body fat percentage and BMD at the total hip and femoral neck, both obtained using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA).

Materials and methods

Ethics

This study was approved by the institutional ethics committee and written informed consent was obtained from all patients (trial registration number: 2012-A01009-34).

Study Protocol

From January 2014 to June 2017, 80 women followed for anorexia nervosa in Lille University Hospital were investigated using MRI and DXA. Inclusion criteria were: (a) adult women aged between 18 and 35 years old; (b) anorexia nervosa diagnosed by a psychiatrist (V.J.), as defined by the *Diagnostic and Statistical Manual*, fourth edition (24); (c) French health care coverage. Exclusion criteria were: (a) pregnancy; (b) any MRI contraindication; (c) MR artifacts in the hip region; (d) hip prosthesis or history of hip trauma; (e) any musculoskeletal disease which cannot be related to anorexia nervosa.

For all subjects, age, weight, height, body mass index (BMI = weight in kilograms (kg) divided by the square of the height (m²)), smoking and alcohol were recorded. Evaluation of the physical activity was based on the European Vertebral Osteoporosis Study questionnaire: (1) light activity, mostly sedentary; (2) moderate activity involving standing and walking; (3) heavy activity with occasional carrying of heavy burdens and regular walking, and (4) very heavy physical activity involving regular heavy work or high-level sports (25). At the time of the MR examination, patients having an abnormal BMI (< 17.5 kg/m²) were included in the “underweight anorexia nervosa” group while patients with a normal BMI (≥ 17.5 kg/m²) were in the “weight-recovered anorexia nervosa” group. Duration since weight restoration of weight-recovered anorexic patients was defined as the amount of time between the first medical report specifying a BMI above 17.5 kg/m² and the MRI examination.

Finally, 3 women with corrupted MR acquisitions and 1 patient with insufficient DXA data were excluded, resulting in a final population of 76 patients.

Healthy volunteers

Proton spectroscopic data of 10 healthy volunteer women aged between 18 and 35 years old and with a normal BMI ($> 17.5 \text{ kg/m}^2$) were acquired in the exact same conditions as the anorexic patients. Controls were recruited following the local recommendations of the ethics committee. To prevent radiation exposure, no DXA was performed. For every volunteer, age, height, weight, and BMI were recorded. All subjects were asymptomatic with regular menses, no medical or psychiatric history, no smoking habits and had not any risk factor for osteoporosis nor received any drug that could alter bone marrow adiposity. Informed consent was also obtained for all volunteers.

MR Examination

MR examinations were achieved on a 3T full-body MR scanner (Ingenia, Philips Healthcare, The Netherlands) following the same protocol as previously described (26).

Women were lying supine, with a 32-channel cardiac coil covering the proximal femoral diaphyseal shaft and the acetabular roof. Scout acquisitions consisted in T1-weighted turbo spin echo sequences in the sagittal plane (repetition time (TR)/echo time (TE) = 715/20 ms; field of view (FOV) = 210 mm; slice thickness = 3.0 mm; gap = 0.8 mm; matrix = 258×288 pixels; turbo factor = 5 and acquisition time = 2 min 32 s), and in the coronal and axial planes (TR/TE = 544/20 ms; FOV = 385 mm; slice thickness = 3.0 mm; gap = 0.8 mm; matrix = 427×528 pixels; turbo factor = 4 and acquisition time = 1 min 17 s).

Volumes of interest (VOI) were placed in 4 subregions of the right hip, considered as independent from each other for the statistical analysis: (a) the acetabulum; (b) the femoral neck; (c) the proximal femoral diaphysis and (d) the greater trochanter. The 3-plane scout acquisitions were used to guide optimal positioning of the VOI in the trabecular bone, avoiding overlap with cortical and non-cancellous bone structures. The positioning was done by MRI

radiographers dedicated to imaging research protocols, under radiologist supervision, and a snapshot was saved for quality control (Figure 1).

A single-voxel proton magnetic resonance spectroscopy (^1H -MRS) technique was performed using a stimulated echo acquisition mode (STEAM) with the following parameters: voxel size = $12.5 \times 12.5 \times 12.5 \text{ mm}^3$; TR/TE = 5000/20 ms; NSA 32; mixing time 16 ms; spectral bandwidth = 2500 Hz; 2048 data points acquired; no water suppression; highest fat peak chosen to perform second order shimming and water peak manually selected to adjust frequency if necessary. Shimming procedures were employed to optimize spectral quality and maintain a mean full width at half maximum (FWHM) below 50 Hz. The global spectrum was automatically built from the acquisition of each coil channels. The acquisition time for each location was 2 min 50 s.

Bone marrow fat quantification

Spectra quality and VOI positioning were first evaluated before performing fat quantification. Acquisitions overlapping non-cancellous bone structures and/or spectra having large baseline distortions or unusual broadened peaks were discarded from the analysis to measure only signals coming from bone marrow. Based on this preliminary quality check, 20 acquisitions failed to meet the quality requirements among the 304 spectra (acetabulum: $n = 4$; femoral neck: $n = 6$; proximal femoral diaphysis: $n = 6$ and greater trochanter: $n = 4$).

Spectroscopic data were post-processed using house-built routines written in MatLab, version R2015b (MathWorks, Natick, MA, USA), optimized for BMFF and composition quantification (R.S., K.D.C.). An independent linewidth, constrained below 1.7 ppm, was assumed for the main fat peak (methylene, at 1.3 ppm), and used as a reference. The spectral location of the other fat peaks was allowed to vary by ± 0.02 ppm and the water location by ± 0.10 ppm. Using a pre-calibrated fat spectrum and these constraints, these scripts automatically fitted the

acquired spectroscopic data in the frequency domain, providing reproducible measurements for each acquisition.

The pre-calibrated fat spectrum contained the following peaks: $-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3-$ (methyl: 0.90 ppm; L₁), $-(\text{CH}_2)_n-$ (methylene: 1.30 ppm; L₂), $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-$ (β -carboxyl methylene: 1.59 ppm; L₃), $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (α -olefinic methylene: 2.00 ppm; L₄), $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ (α -carboxyl methylene: 2.25 ppm; L₅), $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (diallyl-methylene: 2.77 ppm; L₆), $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-$ (glycerol: 4.20 ppm; L₇), $-\text{CH}=\text{CH}-$ (olefinic double bond 5.3 ppm; UL). Water peak was defined at 4.67 ppm. BMFF was calculated as the percentage of fat signal relative to total signal intensity (fat + water). The apparent lipid unsaturation level (aLUL) was calculated as follows, using the olefinic peak (UL) as the most representative unsaturated lipid: $\text{aLUL} (\%) = \text{UL} / (\text{UL} + \sum \text{L}_{1-7})$.

Evaluation of bone mineral density and body composition

BMD of the spine, total left hip, left femoral neck and body fat percentage were assessed using DXA (Discovery W, Hologic). Except for 3 patients who already had a DXA scanner within the year (22, 50 and 84 days between the scan and the MR acquisition), all examinations (MR and DXA) were performed the same day.

Statistical Analysis

Statistical analysis was completed with SAS University Edition, version 9.04 (SAS Institute, Cary, NC, USA). The Shapiro-Wilk test was used to check for normality. Demographic characteristics were evaluated using one-way ANOVA with Tukey's post hoc tests and Student t-tests for quantitative variables, and chi-squared tests for categorical data. Comparisons of BMD, BMFF, and aLUL between sites and groups were performed using non-parametric tests (Mann-Whitney rank-sum or Kruskal-Wallis analyses followed by post hoc Dunn's tests (27)). Because a non-linear relationship was presumed between BMFF, aLUL, body fat percentage and BMD at the femoral neck and total hip, Spearman's rank-order method was used to

calculate correlation coefficients (ρ), adjusted for BMI and the amenorrhoeic status. Unless specified otherwise, all data were written in the form mean \pm standard deviation (p -value). A p -value below 0.05 was considered to be statistically significant.

Results

Population demography

Slightly more than half of the patients (52.6%, $n = 40$) had underweight anorexia nervosa, while 36 women had a BMI above 17.5 kg/m² at the moment of the MR examination and were considered as weight-recovered anorexic women. The mean age was respectively 23.3 \pm 5.1 and 24.7 \pm 5.0 years in both groups and was not significantly different from controls (25.0 \pm 2.9 years, $p = 0.39$). Healthy and weight-recovered anorexic women had a significantly higher BMI than underweight anorexic women (respectively 20.2 \pm 2.6 and 19.8 \pm 1.7 kg/m² versus 15.4 \pm 1.2 kg/m², $p < 0.0001$).

Among all anorexic patients, 21 women (27.6 %) reported binge-eating and purge episodes. Mean age of onset of anorexia nervosa was 17.6 \pm 4.2 years, with a mean disease duration of 5.0 \pm 4.1 years and age of onset of amenorrhea beginning later, at 19.5 \pm 4.9 years. Habits comprised of mild physical activity (mean EVOS score of 2.2 \pm 0.7) and 12 smokers (15.8%). No regular hard liquor consumption was declared by the participants.

Weight-recovered women with anorexia nervosa had a significantly higher body fat percentage and longer duration of anorexia nervosa compared to underweight patients (body fat percentage: 28.4% \pm 6.0 versus 18.8% \pm 4.9, $p < 0.0001$; duration of anorexia nervosa: 6.3 \pm 4.9 versus 3.9 \pm 2.7 years, $p = 0.001$). There were significantly less amenorrhoeic women in the weight-recovered group than in the underweight anorexia nervosa group (61.1% versus 82.5% respectively, $p = 0.04$). However, there was no significant difference regarding the duration of the amenorrhea (1.7 \pm 2.4 years in the weight-recovered group and 2.5 \pm 2.2 years

in the underweight group, $p = 0.13$). The mean duration since weight restoration was 1.5 ± 1.5 [0.0-7.6] years.

Total hip BMD was close to the significance threshold between patient groups, slightly higher in the weight-recovered group (0.81 ± 0.09 g/cm² versus 0.75 ± 0.14 g/cm², $p = 0.06$), whereas there were no significant differences concerning spinal BMD between underweight and weight-recovered women (respectively 0.83 ± 0.11 versus 0.88 ± 0.10 , $p = 0.11$). The other demographic characteristics were not significantly different between the 2 patient groups. Detailed characteristics are summarized in Table 1.

BMFF and aLUL values between groups

A marked decrease in water peak amplitude could be visible on MR spectra in underweight anorexic women compared to healthy women (Figure 2). Mean BMFF values were significantly higher at the femoral neck of underweight or weight-recovered anorexic women compared to healthy women (respectively $90.1 \pm 6.7\%$ or $90.3 \pm 7.5\%$ versus $81.3 \pm 8.1\%$, $p < 0.01$; Table 2 and Figure 3A).

Conversely, mean aLUL values were significantly lower at the femoral neck of underweight or weight-recovered anorexic women compared to healthy women (respectively $7.6 \pm 1.4\%$ or $7.3 \pm 1.3\%$ versus $9.2 \pm 1.5\%$, $p < 0.01$; Table 2 and Figure 3B).

BMFF and aLUL values between subregions

Mean BMFF and aLUL values were significantly different between subregions (Kruskal-Wallis analysis, $p < 0.0001$) but with patterns depending on the patient group.

In underweight anorexic women, BMFF at the acetabulum was significantly lower than BMFF at the other subregions ($75.8 \pm 10.1\%$ versus $90.1 \pm 6.7\%$ or $89.6 \pm 11.1\%$ or $92.5 \pm 10.9\%$ for the femoral neck, proximal femoral diaphysis, and greater trochanter respectively). In weight-recovered anorexic women, BMFF was significantly different between all site-pairs, except between the proximal femoral diaphysis and femoral neck. Finally, in healthy women, BMFF

at the acetabulum was significantly lower than BMFF at the greater trochanter or proximal femoral diaphysis ($68.1 \pm 7.4\%$ versus $94.4 \pm 3.3\%$ or $85.1 \pm 12.2\%$ respectively), and the greater trochanter had higher values than BMFF at the femoral neck ($81.3 \pm 12.2\%$) (Table 2 and Figure 3A).

Regarding aLUL patterns, underweight and weight-recovered patients had significantly higher mean values at the acetabulum compared to the other subregions. In contrast, healthy women also had significantly higher mean aLUL values at the acetabulum compared with the greater trochanter or proximal femoral diaphysis ($12.7 \pm 2.5\%$ versus $7.1 \pm 1.4\%$ or $8.4 \pm 2.4\%$ respectively), but not with the femoral neck ($9.2 \pm 1.5\%$) (Table 2 and Figure 3B).

Relation between BMFF, aLUL, and BMD in anorexic women

A strong negative correlation between aLUL and BMFF was observed, with a Spearman's rank-order coefficient of -0.88 when pooling all subregions, and coefficients comprised between -0.89 and -0.74 when considering individually each region ($p < 0.0001$; Table 3 and Figure 4A). This correlation remained strong when analyzing independently each subgroup ($p < 0.0001$; Tables 4 and 5). In comparison, a strong negative correlation between aLUL and BMFF was also observed in healthy women ($\rho = -0.92$, $p < 0.0001$; Figure 4B).

Among all patients with anorexia nervosa, and after controlling for BMI and amenorrhoeic status, significant negative correlations between BMFF and total hip BMD were observed in the acetabulum, femoral neck (Figure 5) and proximal femoral diaphysis (Spearman's coefficients of -0.30, -0.32 and -0.29 respectively, $p < 0.05$; Table 3). However, in the subgroup analysis, a significant negative correlation between BMFF and total hip BMD was observed only in the proximal femoral diaphysis of underweight patients ($\rho = -0.36$, $p = 0.04$; Table 4) and at the acetabulum and femoral neck of weight-recovered patients (respectively $\rho = -0.42$ and $\rho = -0.41$, $p < 0.05$; Table 5). A significant positive correlation was also observed between aLUL and total hip BMD at the acetabulum, femoral neck and greater trochanter (respectively

$\rho = 0.37$, $\rho = 0.33$ and $\rho = 0.25$, $p < 0.05$) (Table 3). In underweight anorexic patients, a positive correlation was statistically significant only in the proximal femoral diaphysis and the greater trochanter (respectively $\rho = 0.41$ and $\rho = 0.44$, $p < 0.05$; Table 4), whereas in weight-recovered patients, only measurements at the femoral neck remained significant ($\rho = 0.41$, $p = 0.03$; Table 5).

Finally, no statistically significant association was highlighted between BMD at the femoral neck and BMFF or aLUL at this location (Table 3 and Figure 5).

Relation between BMA and body fat percentage in anorexic women

Regarding BMFF, a moderate positive correlation with body fat percentage was only found at the femoral neck when pooling all anorexic patients ($\rho = 0.35$, $p < 0.01$) (Table 3 and Figure 5), whereas it was close to significance in weight-recovered women for the same location ($\rho = 0.34$, $p = 0.06$; Table 5). In underweight anorexic women, a significant positive correlation was observed at the femoral neck and the acetabulum (respectively $\rho = 0.41$ and $\rho = 0.45$, $p = 0.01$; Table 4).

Similarly, with respect to aLUL, a negative correlation with body fat percentage was observed at the femoral neck when pooling all anorexic patients or considering only weight-recovered anorexic women (respectively $\rho = -0.33$ and $\rho = -0.37$, $p < 0.05$; Figure 5) (Tables 3 and 5). In underweight patients, a significant negative correlation was only observed at the acetabulum ($\rho = -0.42$, $p = 0.01$; Table 4).

Discussion

BMA has features that can be imaged and subsequently become interesting imaging biomarkers. To understand better this underestimated tissue, we investigated the regional characteristics of BMA at the hip of anorexic patients, assessing both its quantitative importance and its unsaturation levels, respectively through BMFF and aLUL measurements using $^1\text{H-MRS}$. Interestingly, whereas we observed significantly higher BMFF values and

lower aLUL at the femoral neck of anorexic patients compared to healthy adults, we did not find any significant differences between underweight and weight-recovered anorexic patients, regardless of the subregion. The strong inverse relationship we found between BMFF and aLUL, along with the discrete different regional patterns of BMA and close relationship between BMA and BMD, also suggest bone alterations that may foster fragility fractures. These last observations are in agreement with previous works focused on the hip or the spine of anorexic women (15,26).

Regional characteristics of bone marrow adiposity at the hip

As defined in the *Diagnostic and Statistical Manual*, altered nutritional intake is a key characteristic of anorexia nervosa (24). The extreme depletion of body fat which occurs in these patients is associated with an increase in fracture risk and profound changes in bone composition and microarchitecture, such as in weight-bearing bones like the tibia where an enlargement of trabecular spacing has been reported (28,29). In a nationwide register study, Vestergaard et al. reported a significant increased fracture risk of the femoral neck of women with anorexia nervosa, with an incidence rate ratio of 7.17 (95% confidence limits = 3.36 – 15.3) compared to 3.49 (1.50 – 8.11) in the spine (5). An increase in BMFF was observed after sleeve gastrectomy surgery, a bariatric intervention which may have negative effects on skeletal health and promote fractures (30,31). These results suggest that the mineral and non-mineral bone compartments must reach an equilibrium to maintain bone strength. Subsequently, the understanding of the regional variations of BMFF is of prime importance to dissect the pathological mechanisms that precede skeletal complications in energy-intake restriction conditions and those that may limit skeletal recovery after weight-restoration.

Additionally, BMA is a complex entity, functionally distinct from other adipose tissues. In rodents, two skeletal adipocyte subpopulations from proximal and distal tibia were identified, with different cellular properties (8). Histologically, regions with low hematopoiesis and high

lipid unsaturation (usually known as “yellow marrow”) contrast with areas with active hematopoiesis and low lipid unsaturation (“red marrow”) that may be more prone to physiopathological changes, age and hormonal fluctuations (8,32,33). Although differences can be visible on T1-weighted MR sequences, slight variations in BMA composition may go undetected. As a result, we used ¹H-MRS to obtain a more accurate snapshot of BMA content and composition at multiple anatomical subregions of the hip. VOI positioning was standardized to obtain reproducible and comparable measurements while covering a relatively large volume (2 mL) of the spongy bone.

In our study, we demonstrated regional increasing values of BMFF as follows: acetabulum < proximal femoral diaphysis \approx femoral neck < greater trochanter, with discrete regional variations depending on the disease status and weight recovering. Even though the highest amount of BMA was observed in the greater trochanter, this region of the hip is the least prone to loading forces. On the contrary, the femoral neck is more exposed to axial compression. In anorexic patients, we reported higher BMFF values in this subregion compared to controls, in addition to an inverse relationship between BMFF and total hip BMD. Although the exact physiopathological mechanisms cannot be determined, as ¹H-MRS cannot discriminate intra from extracellular lipids, our results might explain in part the greater occurrence of fractures at this location (5).

Following weight recovery in patients with AN, BMD in the hip progressively returns to a normal value despite a persistently elevated fracture risk remaining up to 10 years after diagnosis (4,5,29,34). Fazeli *et al.* did not find any difference regarding BMFF at the hip of healthy subjects, underweight and weight-recovered anorexic women (23). In contrast, we observed an altered BMA profile at the femoral neck of anorexic women compared to controls, but not between underweight and weight-recovered patients. This finding is of importance as it raises two points that might contribute to the enduring fracture risk. First, weight recovery may

not be sufficient to restore a normal BMA. In our study, weight-recovered patients, who restored only recently their BMI (with an average of 1.5 years since weight normalization) still had an abnormal eating behavior, and 61.1% of them were amenorrhoeic, two parameters which also affect bone metabolism. Moreover, as DHEA + estrogen/progestin administration can stop disease-related changes in marrow composition in women with anorexia nervosa, persistence of an abnormal BMA may be indicative of a remaining hormonal dysfunction that lasts even after weight recovery (35). Second, BMA appeared to have regional differences that may foster region-specific skeletal complications. We reported significant changes in BMA at the femoral neck of anorexic women compared to healthy subjects, but not in the other anatomical sites. As a result, BMA could recover differently between the different subregions of the hip. In particular, these differential variations might evolve at the expense of the femoral neck, where we reported an abnormally remaining accumulation of marrow adiposity in weight-recovered women compared to healthy subjects. Vajapeyam *et al.* also reported site-specific variations of BMA characteristics in the distal femoral diaphysis of adolescent girls with anorexia nervosa, following administration of DHEA + estrogen/progestin medication or placebo (35). These data bolster the existence of region-specific patterns of BMA, and the need of taking into consideration the exact location assessed, especially in longitudinal studies.

Interestingly, in our study, we did not observe a statistically significant association between BMFF at the femoral neck and BMD at this same location, contrasting with data in the literature (9). Two reasons might partly explain the absence of statistical significance. First, the femoral neck is more prone to variability related to patient positioning and has a significantly higher precision error than the total hip. Therefore, inherent biases might affect statistical comparisons. Secondly, we observed a negative correlation between these two parameters in the subgroup analysis regarding weight-recovered anorexic women ($\rho = -0.35$, $p = 0.07$), and an almost null Spearman's rank-order correlation coefficient in the underweight group ($\rho = -$

0.08, $p = 0.65$). Consequently, the evolution of bone marrow adiposity and bone mineral density probably depends on multiple factors including disease recovery and might reach a plateau in low weight anorexic women.

Whereas these region-specific characteristics reflect the variable quantitative importance of BMA, its lipidic profile, assessed through the aLUL, showed less variability at the hip. Mean aLUL values were higher at the acetabulum than the greater trochanter, femoral neck and proximal femoral diaphysis in anorexic women. In contrast, aLUL at the femoral neck of healthy women remained significantly lower compared to anorexic women. Yeung *et al.* suggested that changes in BMA composition may impair bone strength, after observing a comparable reduction in unsaturated lipids in the lumbar spine of osteoporotic patients (10).

Finally, we found a negative correlation between BMFF and aLUL in all subregions. As it was observed in both anorexic and healthy women, the phenomenon appears not to be disease-specific. However, the strength of this correlation has not a straightforward meaning, as methodological and physiological explanations may mingle together. First, T_2 value of bone marrow water is known to be inversely correlated with bone marrow proton-density fat fraction (PDFF) (36) and T_2 changes of bone marrow lipids can also emerge with an increasing BMI (35). As we measured T_2 -weighted fat fractions, the increasing overestimation of observed BMFF might therefore comprise a T_2 effect. Nevertheless, decreased unsaturated and increased saturated lipid levels have also been described in bone conditions where fat accumulation was reported (10,37). Because high content of saturated fatty acids may induce a secretion of pro-inflammatory cytokines (such as IL-6), which have also been observed in adults with AN (37,38), a synergic effect of an increased adiposity and altered BMA composition might thus arise above a certain threshold and play an active role in the impairment of bone health, weakening bone strength and fostering fragility fractures in underweight and weight-recovered anorexic women.

Relation between marrow adiposity and body composition

DXA easily provides body composition parameters, such as body fat percentage. In our study, we observed a significant and positive but moderate correlation between this last parameter and BMFF at the femoral neck of anorexic patients. However, this result contrasts with other studies, which reported a negative correlation between BMA and other fat depots (15). The explanation remains unclear, but two critical elements may intervene in these discrepancies.

First, the technique used to assess body composition may potentially lead to different results. Although DXA is acceptable and well correlated with body composition in AN, CT and MRI have a higher level of precision to assess separately subcutaneous and visceral adipose tissues, even if it comes at a greater cost (39). Fazeli *et al.* reported a positive correlation between BMA and body fat percentage in the femoral epiphysis using DXA (23). On the other hand, Bredella *et al.* found a significant negative correlation between marrow fat content in the femoral metaphysis and diaphysis based on an MR-approach to evaluate body composition, although no statistical significance was found in the femoral epiphysis (15). Second, the underweight and weight-recovered anorexic patients were seeking nutritional management help at our institution, which may have had an impact on BMA.

Nonetheless, regarding BMA composition, we found that aLUL at the femoral neck was significantly and negatively correlated with body fat percentage in our study. Previous studies also reported negative correlations between marrow composition and body fat compartments, such as the subcutaneous and visceral adipose tissues assessed by MRI (16).

Consequently, correlations between BMA and body composition are partially conflicting with the literature, underlying the importance of a standardized methodology and reinforcing the idea that the relation between these two entities is probably multifactorial and might evolve with different rates following disease recovery.

Limitations

Our study has four main limitations. First, the cross-sectional design does not allow to make any assumptions about causality. Moreover, as our inclusion criteria included anorexic women followed in our institution, patients belonged to a treatment-seeking population. To limit these confounding factors, correlations were adjusted for BMI and the amenorrhoeic status, known to be a predictive factor of change in BMD during follow-up (40).

Second, there is only a limited number of controls, as the main goal of our study was to assess bone marrow adiposity in several regions at the hip of anorexic patients. However, this number is similar to other studies (15,17), and we selected gender- and age-matched volunteers to improve comparison accuracy. Moreover, although there was neither personal or familial medical history, nor clinical evidence of osteopenia, we did not assess hip BMD in the control group.

Third, ¹H-MRS is an advanced technique which is sensitive to artifacts. Approximately 7% of our acquisitions did not pass quality control. Besides, by using single-TE ¹H-MRS sequences, no T₂ correction was applied (41) and the reported BMFF is affected by T₂-weighting effects, especially since BMI had been proved to be an effect modifier of T₂ relaxation times of water and lipids (35,36,42). The same applies to the apparent lipid unsaturation level measurements, whose effect may also be driven by J-modulations (42). However, all examinations were performed in the same MR scanner and in the exact same conditions, which allowed comparison between groups. Regarding DXA, body composition was not adjusted for body water, which can also be responsible for variations in anorexic women (39).

Finally, even if ¹H-MRS is considered as the gold standard to assess BMA in vivo, this imaging modality cannot discriminate abnormal fatty deposition from red to yellow bone marrow reconversion. Further studies are required to better depict the pathological mechanisms underlying BMA accumulation in patients with anorexia nervosa. Parametric maps provided by

sequences like quantitative chemical-shift sequences can also be a way to improve the analysis of bone marrow adiposity in diseases such as AN, allowing the evaluation of regional variations.

Conclusion

Our study highlighted alterations in BMA at the femoral neck of young women with AN compared to healthy subjects, which could also be observed in weight-restored anorexic patients. By investigating the regional characteristics of BMA in these women, we could also depict discrete regional patterns and significant correlations between BMFF, aLUL, total hip BMD, and BF. Our data suggest a slow-evolving marrow fat profile, with regional specificities, and alterations that may last even after weight recovery, impair bone health and potentially contribute to hip fractures, especially at the femoral neck. To conclude, the assessment of BMA characteristics at this peculiar location could be useful in examining the long-term fracture risk for such patients.

References

1. Steinhausen H-C, Jensen CM. Time trends in lifetime incidence rates of first-time diagnosed anorexia nervosa and bulimia nervosa across 16 years in a danish nationwide psychiatric registry study: time trends in incidence rates of eating disorders. *Int J Eat Disord.* 2015 Nov;48(7):845–50.
2. Smink FRE, van Hoeken D, Hoek HW. Epidemiology of Eating Disorders: Incidence, Prevalence and Mortality Rates. *Curr Psychiatry Rep.* 2012 Aug;14(4):406–14.
3. Zipfel S, Giel KE, Bulik CM, Hay P, Schmidt U. Anorexia nervosa: aetiology, assessment, and treatment. *Lancet Psychiatry.* 2015 Dec;2(12):1099–111.
4. Zipfel S. Osteoporosis in Eating Disorders: A Follow-Up Study of Patients with Anorexia and Bulimia Nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Nov 1;86(11):5227–33.

5. Vestergaard P, Emborg C, Støving RK, Hagen C, Mosekilde L, Brixen K. Fractures in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa, and other eating disorders-A nationwide register study: Eating Disorders and Fracture. *Int J Eat Disord*. 2002 Nov;32(3):301–8.
6. Devlin MJ, Rosen CJ. The bone-fat interface: basic and clinical implications of marrow adiposity. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015 Feb;3(2):141–7.
7. Karampinos DC, Ruschke S, Gordijenko O, Grande Garcia E, Kooijman H, Burgkart R, et al. Association of MRS-Based Vertebral Bone Marrow Fat Fraction with Bone Strength in a Human In Vitro Model. *J Osteoporos*. 2015;2015:1–8.
8. Scheller EL, Doucette CR, Learman BS, Cawthorn WP, Khandaker S, Schell B, et al. Region-specific variation in the properties of skeletal adipocytes reveals regulated and constitutive marrow adipose tissues. *Nat Commun*. 2015 Aug 6;6:7808.
9. Cohen A, Shen W, Dempster DW, Zhou H, Recker RR, Lappe JM, et al. Marrow adiposity assessed on transiliac crest biopsy samples correlates with noninvasive measurement of marrow adiposity by proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) at the spine but not the femur. *Osteoporos Int*. 2015 Oct;26(10):2471–8.
10. Yeung DKW, Griffith JF, Antonio GE, Lee FKH, Woo J, Leung PC. Osteoporosis is associated with increased marrow fat content and decreased marrow fat unsaturation: a proton MR spectroscopy study. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2005 Aug;22(2):279–85.
11. Cordes C, Baum T, Dieckmeyer M, Ruschke S, Diefenbach MN, Hauner H, et al. MR-Based Assessment of Bone Marrow Fat in Osteoporosis, Diabetes, and Obesity. *Front Endocrinol*. 2016 Jun 27;7.
12. Li X, Shet K, Xu K, Rodríguez JP, Pino AM, Kurhanewicz J, et al. Unsaturation level

- decreased in bone marrow fat of postmenopausal women with low bone density using high resolution magic angle spinning (HRMAS) ¹H NMR spectroscopy. *Bone*. 2017 Dec;105:87–92.
13. Martel D, Leporq B, Bruno M, Regatte RR, Honig S, Chang G. Chemical shift-encoded MRI for assessment of bone marrow adipose tissue fat composition: Pilot study in premenopausal versus postmenopausal women. *Magn Reson Imaging*. 2018 Nov;53:148–55.
 14. Patsch JM, Li X, Baum T, Yap SP, Karampinos DC, Schwartz AV, et al. Bone marrow fat composition as a novel imaging biomarker in postmenopausal women with prevalent fragility fractures. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2013 Aug;28(8):1721–8.
 15. Bredella MA, Fazeli PK, Miller KK, Misra M, Torriani M, Thomas BJ, et al. Increased bone marrow fat in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Jun;94(6):2129–36.
 16. Bredella MA, Daley SM, Kalra MK, Brown JK, Miller KK, Torriani M. Marrow Adipose Tissue Quantification of the Lumbar Spine by Using Dual-Energy CT and Single-Voxel (1)H MR Spectroscopy: A Feasibility Study. *Radiology*. 2015 Oct;277(1):230–5.
 17. Bredella MA, Fazeli PK, Daley SM, Miller KK, Rosen CJ, Klibanski A, et al. Marrow fat composition in anorexia nervosa. *Bone*. 2014 Sep;66:199–204.
 18. El Ghoch M, Calugi S, Lamburghini S, Dalle Grave R. Anorexia Nervosa and Body Fat Distribution: A Systematic Review. *Nutrients*. 2014 Sep 23;6(9):3895–912.
 19. Ward A, Brown N, Treasure J. Persistent osteopenia after recovery from anorexia nervosa. *Int J Eat Disord*. 1997 Jul;22(1):71–5.

20. Mayer LES, Schebendach J, Bodell LP, Shingleton RM, Walsh BT. Eating behavior in anorexia nervosa: Before and after treatment. *Int J Eat Disord*. 2012 Mar;45(2):290–3.
21. Corwin RL, Hartman TJ, Maczuga SA, Graubard BI. Dietary Saturated Fat Intake Is Inversely Associated with Bone Density in Humans: Analysis of NHANES III. *J Nutr*. 2006 Jan 1;136(1):159–65.
22. During A, Penel G, Hardouin P. Understanding the local actions of lipids in bone physiology. *Prog Lipid Res*. 2015 Jul;59:126–46.
23. Fazeli PK, Bredella MA, Freedman L, Thomas BJ, Breggia A, Meenaghan E, et al. Marrow fat and preadipocyte factor-1 levels decrease with recovery in women with anorexia nervosa. *J Bone Miner Res*. 2012 Sep;27(9):1864–71.
24. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision (DSM-IV-TR)*. 4th ed. Vol. 1. Arlington, VA: American Psychiatric Association; 2000.
25. Silman AJ, O’Neill TW, Cooper C, Kanis J, Felsenberg D. Influence of physical activity on vertebral deformity in men and women: results from the European Vertebral Osteoporosis Study. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 1997 May;12(5):813–9.
26. Pansini VM, Monnet A, Salleron J, Penel G, Migaud H, Cotten A. Reproducibility of ¹H MR spectroscopy of hip bone marrow at 3 Tesla. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2012 Dec;36(6):1445–9.
27. Elliott AC, Hynan LS. A SAS® macro implementation of a multiple comparison post hoc test for a Kruskal–Wallis analysis. *Comput Methods Programs Biomed*. 2011

Apr;102(1):75–80.

28. Frølich J, Hansen S, Winkler LA-D, Andresen AK, Hermann AP, Støving RK. The Role of Body Weight on Bone in Anorexia Nervosa: A HR-pQCT Study. *Calcif Tissue Int.* 2017 Jul;101(1):24–33.
29. Vestergaard P, Emborg C, Støving RK, Hagen C, Mosekilde L, Brixen K. Patients with eating disorders. A high-risk group for fractures. *Orthop Nurs.* 2003 Oct;22(5):325–31.
30. Yu EW. Bone metabolism after bariatric surgery. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2014 Jul;29(7):1507–18.
31. Bredella MA, Greenblatt LB, Ejazi A, Torriani M, Yu EW. Effects of Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy on bone mineral density and marrow adipose tissue. *Bone.* 2017;95:85–90.
32. Scheller EL, Cawthorn WP, Burr AA, Horowitz MC, MacDougald OA. Marrow Adipose Tissue: Trimming the Fat. *Trends Endocrinol Metab.* 2016 Jun;27(6):392–403.
33. Hardouin P, Rharass T, Lucas S. Bone Marrow Adipose Tissue: To Be or Not To Be a Typical Adipose Tissue? *Front Endocrinol.* 2016 Jun 30;7.
34. Lucas AR, Melton LJ, Crowson CS, O’Fallon WM. Long-term Fracture Risk Among Women With Anorexia Nervosa: A Population-Based Cohort Study. *Mayo Clin Proc.* 1999 Oct;74(10):972–7.
35. Vajapeyam S, Ecklund K, Mulkern RV, Feldman HA, O’Donnell JM, DiVasta AD, et al. Magnetic resonance imaging and spectroscopy evidence of efficacy for adrenal and gonadal hormone replacement therapy in anorexia nervosa. *Bone.* 2018;110:335–42.

36. Dieckmeyer M, Ruschke S, Cordes C, Yap SP, Kooijman H, Hauner H, et al. The need for T₂ correction on MRS-based vertebral bone marrow fat quantification: implications for bone marrow fat fraction age dependence. *NMR Biomed*. 2015 Apr;28(4):432–9.
37. Pino AM, Rodríguez JP. Is fatty acid composition of human bone marrow significant to bone health? *Bone*. 2019 Jan;118:53–61.
38. Misra M, Klibanski A. Endocrine consequences of anorexia nervosa. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014 Jul;2(7):581–92.
39. Bredella MA, Ghomi RH, Thomas BJ, Torriani M, Brick DJ, Gerweck AV, et al. Comparison of DXA and CT in the Assessment of Body Composition in Premenopausal Women With Obesity and Anorexia Nervosa. *Obesity*. 2010 Nov;18(11):2227–33.
40. Legroux-Gérot I, Vignau J, d’Herbomez M, Flipo R-M, Cortet B. Predictive factors of change in BMD at 1 and 2 years in women with anorexia nervosa: a study of 146 cases. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 2012 Dec;23(12):2855–61.
41. Karampinos DC, Ruschke S, Dieckmeyer M, Diefenbach M, Franz D, Gersing AS, et al. Quantitative MRI and spectroscopy of bone marrow. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2018;47(2):332–53.
42. Yahya A, Fallone BG. T(2) determination of the J-coupled methyl protons of lipids: In vivo illustration with tibial bone marrow at 3 T. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 2010 Jun;31(6):1514–21.

Figure Legends

Table 1 – Clinical characteristics (mean values \pm standard deviation; [min – max] for BMI and duration since weight restoration) and comparisons between underweight (BMI < 17.5 kg/m²) and weight-recovered (BMI ≥ 17.5 kg/m²) women with anorexia nervosa, along with healthy women as controls. *: One-way ANOVA test with Tukey’s post hoc comparisons showing significant differences (p -value < 0.05) between underweight anorexic women and the other groups but not between weight-recovered anorexic women and healthy women. Significant values are shown in bold (red).

Table 2 – Bone marrow fat fraction (BMFF) and apparent lipid unsaturation levels (aLUL) in anorexic patients and healthy women. Values (mean values \pm standard deviation) with the same letter are significantly different (p -value < 0.05). *: Kruskal-Wallis analysis with post hoc Dunn’s tests highlighted significant differences between healthy women and the other groups but not between underweight and weight-recovered anorexic patients. Significant values are shown in bold (red).

Table 3 – Spearman’s rank-order correlation coefficients at 4 subregions of the hip of all women with anorexia nervosa (underweight and weight-recovered anorexic patients), between bone marrow fat fraction (BMFF), apparent lipid unsaturation levels, total hip bone mineral density (BMD), BMD at the femoral neck and body fat percentage, adjusted for body mass index and amenorrhoeic status. Significant values are shown in bold (red).

Table 4 – Spearman’s rank-order correlation coefficients at 4 subregions of the hip of underweight anorexic women, between bone marrow fat fraction (BMFF), apparent lipid unsaturation levels, total hip bone mineral density (BMD), BMD at the femoral neck and body fat percentage, adjusted for body mass index and amenorrhoeic status. Significant values are shown in bold (red).

Table 5 – Spearman’s rank-order correlation coefficients at 4 subregions of the hip of weight-recovered anorexic women, between bone marrow fat fraction (BMFF), apparent lipid unsaturation levels, total hip bone mineral density (BMD), BMD at the femoral neck and body fat percentage, adjusted for body mass index and amenorrhoeic status. Significant values are shown in bold (red).

Figure 1 – Positioning of volume of interests (VOI) on the coronal scout acquisitions, in the acetabulum (A), the femoral neck (B), the proximal femoral diaphysis (C), and the greater trochanter (D). To avoid overlap with cortical and non-cancellous structures, the positioning was also checked on axial and sagittal scout acquisitions (not shown).

Figure 2 – Single-voxel proton magnetic resonance spectroscopy of an underweight anorexic woman (A), showing a low water peak at 4.67 ppm (black arrow) and a high methylene peak at 1.3 ppm (asterisk), which result in a high bone marrow fat fraction (93.3%). In contrast, the water peak is higher and more visible in a healthy woman (B), resulting in a lower and normal bone marrow fat fraction (82.0%). Both spectra were acquired at the femoral neck, avoiding overlap with cortical bone and non-cancellous structures.

Figure 3 – Mean bone marrow fat fractions (BMFF) (A) and apparent lipid unsaturation levels (aLUL) (B) at 4 subregions of the hip of anorexic and healthy women. Error bars indicate standard error. Asterisks show significant differences regarding BMFF or aLUL between anorexic and healthy women.

Figure 4 – Strong negative correlation between bone marrow fat fraction and apparent lipid unsaturation levels in the hip of anorexic women (A) and healthy women (B) suggesting a close relationship between bone marrow adiposity unsaturation profile and its quantitative importance. r_s : global Spearman’s rank-order coefficient (pooling all subregions), adjusted for BMI and amenorrhoeic status.

Figure 5 – Correlations between bone marrow fat fraction (BMFF) or apparent lipid unsaturation levels (aLUL), and total hip bone mineral density (BMD) or body fat percentage, at the femoral neck of women with anorexia nervosa. Negative correlations were found between BMFF and total hip BMD as well as aLUL and body fat percentage, whereas a significant positive correlation and a positive trend were found between BMFF and body fat percentage, and aLUL and total hip BMD. Spearman’s rank-order correlation coefficients (r_s) and significance (p -value) are indicated, as well as linear regression curves to show trends.

	WOMEN WITH ANOREXIA NERVOSA		HEALTHY WOMEN	p-value
	UNDERWEIGHT	WEIGHT-RECOVERED		
N	40	36	10	—
AGE (YEARS)	23.3 ± 5.1	24.7 ± 5.0	25.0 ± 2.9	0.39
BODY MASS INDEX (KG/M ²)	15.4 ± 1.2 [12.6-17.4]	19.8 ± 1.7 [17.7-23.4]	20.2 ± 2.6 [17.6-26.6]	<0.0001*
BODY FAT PERCENTAGE (%)	18.8 ± 4.9	28.4 ± 6.0	—	<0.0001
SPINE BMD (G/CM ²)	0.83 ± 0.11	0.88 ± 0.10	—	0.11
TOTAL HIP BMD (G/CM ²)	0.75 ± 0.14	0.81 ± 0.09	—	0.06
BMD AT THE FEMORAL NECK (G/CM ²)	0.67 ± 0.12	0.71 ± 0.09	—	0.21
AGE OF ONSET OF ANOREXIA (YEARS)	18.1 ± 4.6	17.0 ± 3.6	—	0.23
DURATION OF ANOREXIA (YEARS)	3.9 ± 2.7	6.3 ± 4.9	—	0.001
DURATION SINCE WEIGHT RESTORATION (YEARS)	—	1.5 ± 1.5 [0.0-7.6]	—	—
AMENORRHOEIC PATIENTS	82.5% (n=33)	61.1% (n=22)	—	0.04
AGE OF ONSET OF AMENORRHEA (YEARS)	19.4 ± 4.8	19.6 ± 5.2	—	0.86
DURATION OF AMENORRHEA (YEARS)	2.5 ± 2.2	1.7 ± 2.4	—	0.13
BINGE-EATING EPISODES	20.0% (n=8)	36.1% (n=13)	—	0.12
SMOKING	15.0% (n=6)	16.7% (n=6)	—	0.84
HARD LIQUOR CONSUMPTION	0	0	—	—
PHYSICAL ACTIVITY (EVOS SCORE)	2.0 ± 0.6	2.4 ± 0.6	—	0.07

Table 1 – Clinical characteristics (mean values ± standard deviation; [min–max] for BMI and duration since weight restoration) and comparisons between underweight (BMI < 17.5 kg/m²) and weight-recovered (BMI ≥ 17.5 kg/m²) women with anorexia nervosa, along with healthy women as controls. *: One-way ANOVA test with Tukey’s post hoc comparisons showing significant differences (p-value < 0.05) between underweight anorexic women and the other groups but not between weight-recovered anorexic women and healthy women. Significant values are shown in bold (red).

		WOMEN WITH ANOREXIA NERVOSA		HEALTHY WOMEN	<i>p</i> -value
		UNDERWEIGHT	WEIGHT-RECOVERED		
<i>BMFF (%)</i>	ACETABULUM	75.8 ± 10.1 ^{a,b,c}	72.2 ± 10.3 ^{d,e,f}	68.1 ± 7.4 ^{ij}	0.08
	FEMORAL NECK	90.1 ± 6.7 ^a	90.3 ± 7.5 ^{d,g}	81.3 ± 8.1 ^k	<0.01*
	PROXIMAL FEMORAL DIAPHYSIS	89.6 ± 11.1 ^b	90.5 ± 7.2 ^{e,h}	85.1 ± 12.2 ⁱ	0.29
	GREATER TROCHANTER	92.5 ± 10.9 ^c	96.6 ± 1.5 ^{f,g,h}	94.4 ± 3.3 ^{jk}	0.18
<i>aLUL (%)</i>	ACETABULUM	10.9 ± 2.3 ^{l,m,n}	11.1 ± 1.7 ^{o,p,q}	12.7 ± 2.5 ^{r,s}	0.17
	FEMORAL NECK	7.6 ± 1.4 ^l	7.3 ± 1.3 ^o	9.2 ± 1.5	<0.01*
	PROXIMAL FEMORAL DIAPHYSIS	7.7 ± 2.0 ^m	7.3 ± 1.3 ^p	8.4 ± 2.4 ^r	0.46
	GREATER TROCHANTER	7.1 ± 1.6 ⁿ	6.5 ± 0.8 ^q	7.1 ± 1.4 ^s	0.18

Table 2 – Bone marrow fat fraction (BMFF) and apparent lipid unsaturation levels (aLUL) in anorexic patients and healthy women. Values (mean values ± standard deviation) with the same letter are significantly different (*p*-value < 0.05). *: Kruskal-Wallis analysis with post hoc Dunn’s tests highlighted significant differences between healthy women and the other groups but not between underweight and weight-recovered anorexic patients. Significant values are shown in bold (red).

A: BMFF	ACETABULUM		FEMORAL NECK		PROXIMAL FEMORAL DIAPHYSIS		GREATER TROCHANTER	
	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value
TOTAL HIP BMD	-0.30	0.01	-0.32	0.01	-0.29	0.02	-0.22	0.08
BMD AT THE FEMORAL NECK	—	—	-0.20	0.12	—	—	—	—
APPARENT LIPID UNSATURATION LEVELS	-0.89	<0.0001	-0.80	<0.0001	-0.74	<0.0001	-0.79	<0.0001
BODY FAT PERCENTAGE	0.22	0.07	0.35	<0.01	0.19	0.12	0.06	0.61

B: APPARENT LIPID UNSATURATION LEVELS								
	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value
TOTAL HIP BMD	0.37	<0.01	0.33	<0.01	0.22	0.08	0.25	0.04
BMD AT THE FEMORAL NECK	—	—	0.20	0.12	—	—	—	—
BODY FAT PERCENTAGE	-0.23	0.06	-0.33	<0.01	-0.18	0.15	-0.12	0.32

Table 3 – Spearman’s rank-order correlation coefficients at 4 subregions of the hip of all women with anorexia nervosa (underweight and weight-recovered anorexic patients), between bone marrow fat fraction (BMFF), apparent lipid unsaturation levels, total hip bone mineral density (BMD), BMD at the femoral neck and body fat percentage, adjusted for body mass index and amenorrhoeic status. Significant values are shown in bold (red).

A: BMFF	ACETABULUM		FEMORAL NECK		PROXIMAL FEMORAL DIAPHYSIS		GREATER TROCHANTER	
	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value
TOTAL HIP BMD	-0.24	0.15	-0.24	0.17	-0.36	0.04	-0.23	0.18
BMD AT THE FEMORAL NECK			-0.08	0.65				
APPARENT LIPID UNSATURATION LEVELS	-0.88	<0.0001	-0.81	<0.0001	-0.75	<0.0001	-0.87	<0.0001
BODY FAT PERCENTAGE	0.45	0.01	0.41	0.01	0.25	0.15	0.07	0.69
B: APPARENT LIPID UNSATURATION LEVELS								
	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value
TOTAL HIP BMD	0.31	0.07	0.25	0.14	0.41	0.02	0.44	0.01
BMD AT THE FEMORAL NECK			0.10	0.57				
BODY FAT PERCENTAGE	-0.42	0.01	-0.29	0.09	-0.27	0.12	-0.17	0.32

Table 4 – Spearman’s rank-order correlation coefficients at 4 subregions of the hip of underweight anorexic women, between bone marrow fat fraction (BMFF), apparent lipid unsaturation levels, total hip bone mineral density (BMD), BMD at the femoral neck and body fat percentage, adjusted for body mass index and amenorrhoeic status. Significant values are shown in bold (red).

A: BMFF	ACETABULUM		FEMORAL NECK		PROXIMAL FEMORAL DIAPHYSIS		GREATER TROCHANTER	
	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value
TOTAL HIP BMD	-0.42	0.02	-0.41	0.03	-0.18	0.34	-0.17	0.35
BMD AT THE FEMORAL NECK			-0.35	0.07				
APPARENT LIPID UNSATURATION LEVELS	-0.87	<0.0001	-0.80	<0.0001	-0.72	<0.0001	-0.72	<0.0001
BODY FAT PERCENTAGE	0.06	0.76	0.34	0.06	0.11	0.58	0.24	0.19
B: APPARENT LIPID UNSATURATION LEVELS								
	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value	ρ	<i>p</i> -value
TOTAL HIP BMD	0.28	0.15	0.41	0.03	-0.05	0.79	-0.13	0.50
BMD AT THE FEMORAL NECK			0.34	0.08				
BODY FAT PERCENTAGE	-0.04	0.85	-0.37	0.04	-0.03	0.89	-0.14	0.47

Table 5 – Spearman’s rank-order correlation coefficients at 4 subregions of the hip of weight-recovered anorexic women, between bone marrow fat fraction (BMFF), apparent lipid unsaturation levels, total hip bone mineral density (BMD), BMD at the femoral neck and body fat percentage, adjusted for body mass index and amenorrhoeic status. Significant values are shown in bold (red).

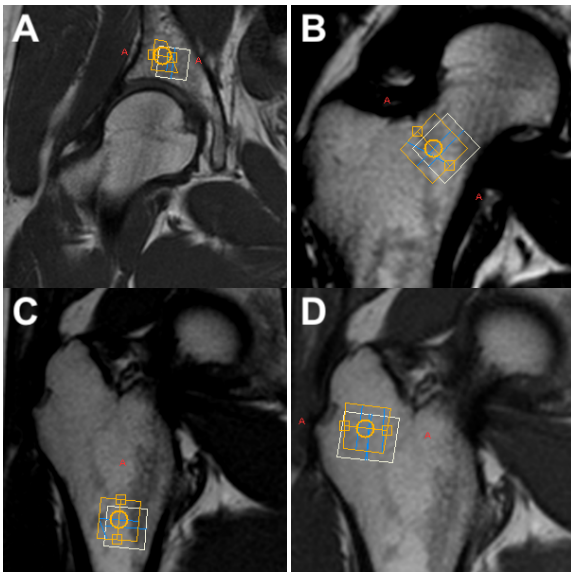


Figure 1 – Positioning of volume of interests (VOI) on the coronal scout acquisitions, in the acetabulum (A), the femoral neck (B), the proximal femoral diaphysis (C), and the greater trochanter (D). To avoid overlap with cortical and non-cancellous structures, the positioning was also checked on axial and sagittal scout acquisitions (not shown).

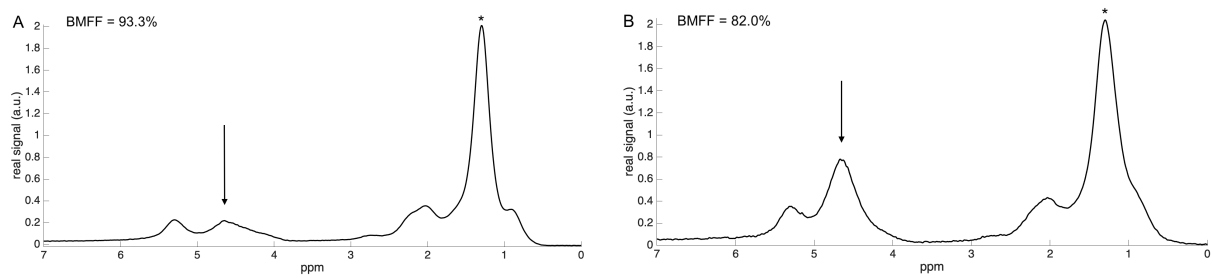


Figure 2 – Single-voxel proton magnetic resonance spectroscopy of an underweight anorexic woman (A), showing a low water peak at 4.67 ppm (black arrow) and a high methylene peak at 1.3 ppm (asterisk), which result in a high bone marrow fat fraction (93.3%). In contrast, the water peak is higher and more visible in a healthy woman (B), resulting in a lower and normal bone marrow fat fraction (82.0%). Both spectra were acquired at the femoral neck, avoiding overlap with cortical bone and non-cancellous structures.

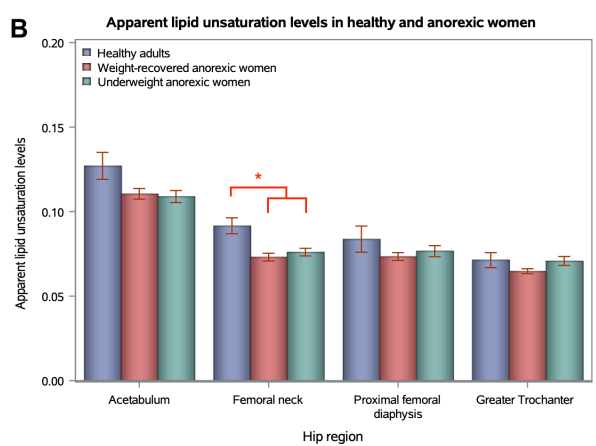
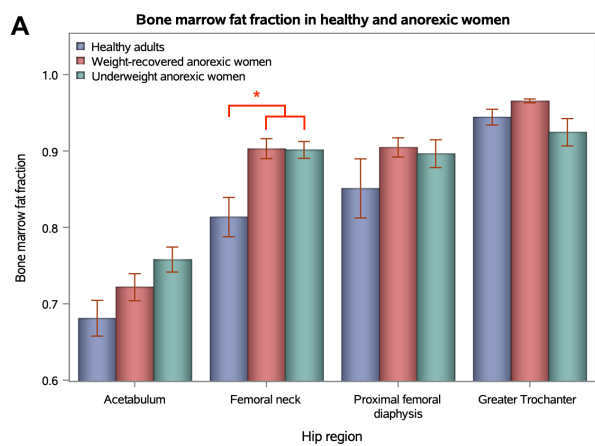


Figure 3 – Mean bone marrow fat fractions (BMFF) (A) and apparent lipid unsaturation levels (aLUL) (B) at 4 subregions of the hip of anorexic and healthy women. Error bars indicate standard error. Asterisks show significant differences regarding BMFF or aLUL between anorexic and healthy women.

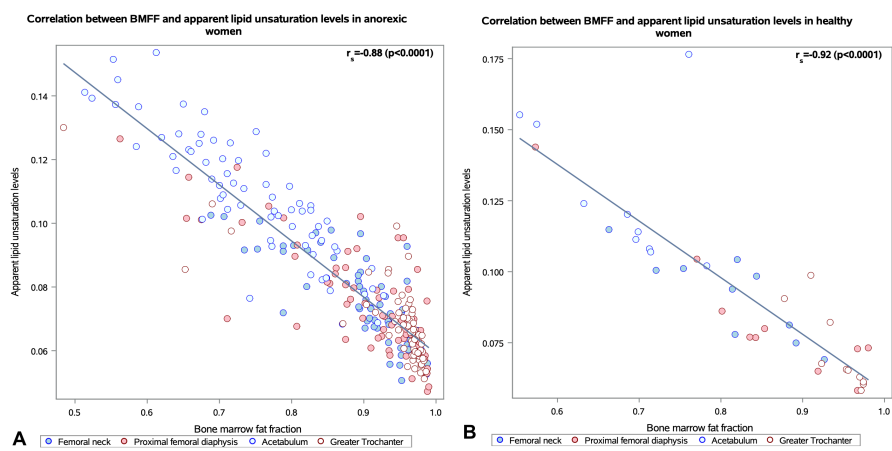


Figure 4 – Strong negative correlation between bone marrow fat fraction and apparent lipid unsaturation levels in the hip of anorexic women (A) and healthy women (B) suggesting a close relationship between bone marrow adiposity unsaturation profile and its quantitative importance. r_s : global Spearman’s rank-order coefficient (pooling all subregions), adjusted for BMI and the amenorrhoeic status.

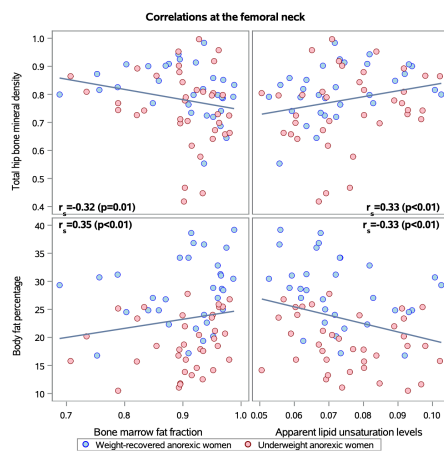


Figure 5 – Correlations between bone marrow fat fraction (BMFF) or apparent lipid unsaturation levels (aLUL), and total hip bone mineral density (BMD) or body fat percentage, at the femoral neck of women with anorexia nervosa. Negative correlations were found between BMFF and total hip BMD as well as aLUL and body fat percentage, whereas a significant positive correlation and a positive trend were found between BMFF and body fat percentage, and aLUL and total hip BMD. Spearman’s rank-order correlation coefficients (r), and significance (p -value) are indicated, as well as linear regression curves to show trends.

CURRICULUM VITAE

FORMATION

- NOVEMBRE 2018 **Chef de clinique — Assistant des hôpitaux**
— Centre Hospitalier et Régional Universitaire de Lille
Service de radiologie et imagerie musculosquettique
Chef de service: PROFESSEUR ANNE COTTEN
- NOVEMBRE 2018 **Diplôme Inter-Universitaire de Statistique Appliquée**
— CESAM, Université Paris-Sorbonne
MENTION BIEN
- NOVEMBRE 2015 **Diplôme d'État de Docteur en Médecine**
— Université de Lille
Spécialité "Radiodiagnostic et imagerie médicale"
- JUILLET 2007 **Master 2 Recherche Biologie Intégrative et Physiologie**
— Université Pierre et Marie Curie, Paris VI
Spécialité "Neurosciences"
MENTION BIEN
- JUILLET 2003 **Baccalauréat Scientifique**
— Académie de La Réunion
Spécialité "Sciences de la Vie et de la Terre"
MENTION TRÈS BIEN

DISTINCTIONS HONORIFIQUES

- JUIN 2018 **Prix ESSR/ISS de la meilleure communication scientifique orale**
Assessment of scapholunate joint laxity using speckle tracking echography: comparison with ligament status on CT arthrography.
Annual meeting of the European Society of Musculoskeletal Radiology. 2018; Amsterdam, Pays-Bas
- JUIN 2005 **Lauréat de l'École de l'INSERM — Fondation Liliane Bettencourt**
Classé 7ème ex-aequo.
École de l'INSERM – Liliane Bettencourt. 2005 ; Paris, France

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

- 2019 **Joint effusion and bone outlines of the knee: radiographic/MRI correlation.**
Jacques T, Badr S, Michelin P, Lefèbvre G, Dartus J, Cotten A.
MRI Clinics. 2019 (accepted manuscript).
- Impact of the rise of artificial intelligence in radiology: What do radiologists think?**
Waymel Q, Badr S, Demondion X, Cotten A, Jacques T.
Diagn Interv Imaging. 2019 Jun;100(6):327–36.

Comparison of regional bone marrow adiposity characteristics at the hip of underweight and weight-recovered women with anorexia nervosa using magnetic resonance spectroscopy.

Badr S, Legroux-Gerot I, Vignau J, Chauveau C, Ruschke S, Karampinos DC, Budzik J-F, Cortet B, Cotten A.
Bone. 2019 May 27.

2018 **Sacroiliac joints: anatomical variations on MR images.**

El Rafei M, Badr S, Lefebvre G, Machuron F, Capon B, Flipo R-M, Cotten A.
Eur Radiol. 2018 Dec;28(12):5328–37.

Dynamic contrast-enhanced MRI perfusion of normal muscle in adult hips: Variation of permeability and semi-quantitative parameters.

El Rafei M, Teixeira PAG, Norberciak L, Badr S, Cotten A, Budzik J-F.
Eur J Radiol. 2018 Nov;108:92–8.

2017 **Quantitative analysis of scapholunate diastasis using stress speckle-tracking sonography: a proof-of-concept and feasibility study.**

Teixeira PAG, Badr S, Hossu G, Lefebvre G, Abou Arab W, Blum A, Cotten A.
Eur Radiol. 2017 Dec;27(12):5344–51.

Contrast-enhanced 3T MR Perfusion of Musculoskeletal Tumours: T1 Value Heterogeneity Assessment and Evaluation of the Influence of T1 Estimation Methods on Quantitative Parameters.

Teixeira PAG, Leplat C, Chen B, De Verbizier J, Beaumont M, Badr S, Cotten A, Blum A.
Eur Radiol. 2017 Dec;27(12):4903–12.

Conventional Radiology in Crystal Arthritis: Gout, Calcium Pyrophosphate Deposition, and Basic Calcium Phosphate Crystals.

Jacques T, Michelin P, Badr S, Nasuto M, Lefebvre G, Larkman N, Cotten A.
Radiol Clin North Am. 2017 Sep;55(5):967–84.

Trauma Imaging of the Acute Cervical Spine.

Berritto D, Pinto A, Michelin P, Demondion X, Badr S.
Semin Musculoskelet Radiol. 2017 Jul;21(3):184–98.

Altered signal intensity of active enhancing inflammatory lesions using post-contrast double inversion recovery MR sequence.

Hodel J, Badr S, Outteryck O, Lebert P, Chechin D, Benadjaoud MA, Pruvo J-P, Vermersch P, Leclerc X.
Eur Radiol. 2017 Feb;27(2):637–41.

- 2015 **Orexin-dependent activation of layer VIb enhances cortical network activity and integration of non-specific thalamocortical inputs.**
Hay YA, Andjelic S, Badr S, Lambolez B.
Brain Struct Funct. 2015 Nov;220(6):3497–512.
- 2014 **Dual-energy contrast-enhanced digital mammography in routine clinical practice in 2013.**
Badr S, Laurent N, Regis C, Boulanger L, Lemaille S, Poncelet E.
Diagn Interv Imaging. 2014 Mar;95(3):245–58.
- 2009 **Glutamatergic nonpyramidal neurons from neocortical layer VI and their comparison with pyramidal and spiny stellate neurons.**
Andjelic S, Gallopin T, Cauli B, Hill EL, Roux L, Badr S, Hu E, Tamas G, Lambolez B.
J Neurophysiol. 2009 Feb;101(2):641–54.

OUVRAGES

- 2019 **Monographie SIMS 2019 : La Hanche.**
HANCHE INFLAMMATOIRE PÉRI-ARTICULAIRE.
Cotten A , Badr S, Morel V, Henry S, Hanckowiak J, Jacques T.
Sauramps Médical; 2019.
- 2017 **Imagerie musculosquelettique : pathologies locorégionales.**
CHAPITRE 17 : AUTRES AFFECTIONS RACHIDIENNES
Andoulsi S, El Rafei M, Badr S, Lefèbvre G, Boutry N, Cotten A.
CHAPITRE 18 : PATHOLOGIES OSSEUSES DE LA HANCHE
Badr S, Boutry N, Paccou J, Migaud H, Cotten A.
2^{ème} édition. *Elsevier Masson*; 2017.

THÈSE D'EXERCICE

- 2015 **Séquence en double inversion-récupération et sclérose en plaques : principes et place dans le protocole IRM.**
Sous la direction du Professeur Jérôme Hodel, la présidence du Professeur Jean-Pierre Pruvo et la présence des Professeurs Patrick Vermersch et Xavier Leclerc.
Université Lille 2 Droit et Santé. 2015 ; Lille, France.

COMMUNICATIONS ORALES

- 2019 **Évaluation par spectroscopie IRM des caractéristiques régionales de l'adiposité médullaire à la hanche de patientes suivies pour anorexie mentale.**
Badr S, Legroux-Gerot I, Vignau J, Chauveau C, Ruschke S, Karampinos DC, Budzik J-F, Cortet B, Cotten A.
Journées Thématiques de la Société d'Imagerie Musculo-Squelettique.
Juin 2019; Issy-les-Moulineaux, France.

- 2018 **Assessment of scapholunate joint laxity using speckle tracking echography: comparison with ligament status on CT arthrography.**
Badr S, Teixeira PAG, Jacques T, Lefebvre G, Blum A, Cotten A.
Annual meeting of the European Society of Musculoskeletal Radiology.
Juin 2018; Amsterdam, Pays-Bas.
- Bone marrow adiposity assessed by 3T MR-spectroscopy in the hip of women with anorexia nervosa.**
Badr S, Pansini VM, Legroux-Gérot I, Vignau J, Stefan R, Karampinos DC, Chauveau C, Cortet B, Cotten A.
European Congress of Radiology. Mars 2018; Vienne, Autriche.
- 2013 **Imagerie de ventilation au krypton : corrélation avec les EFR dans la BPCO.**
Molinari F, Badr S (orateur), Tacelli N, Faivre JB, Benoit Wallaert, Rémy-Jardin M.
Journées Françaises de Radiologie. Octobre 2013; Paris, France.

COMMUNICATIONS ORALES SUR INVITATION

- 2019 **Hanche inflammatoire péri-articulaire.**
Cotten A (oratrice), Badr S, Morel V, Henry S, Hanckowiak J, Jacques T.
Journées Thématiques de la Société d'Imagerie Musculo-Squelettique.
Juin 2019; Issy-les-Moulineaux, France.
- 2018 **Assessment of scapholunate joint laxity using speckle tracking echography: comparison with ligament status on CT arthrography.**
Badr S (orateur invité), Teixeira PAG, Jacques T, Lefebvre G, Blum A, Cotten A.
45th Annual meeting of the International Skeletal Society. Septembre 2018; Berlin, Allemagne.
- Imaging bone marrow adiposity in human studies: What is inside my toolbox? A radiologist's point of view.**
Badr S (orateur invité)
Annual meeting of the International Bone Marrow Adiposity Society.
Août 2018; Lille, France.
- 2017 **Symposium Hitachi : Premiers retours sur le « Speckle Tracking » : une application potentielle pour l'instabilité scapholunaire ?**
Badr S (orateur invité)
Journées Françaises de Radiologie. Octobre 2017; Paris, France.
- Évaluation du diastasis scapholunaire par échographie de suivi des marqueurs acoustiques (« speckle tracking ») : principes techniques et retour d'expérience.**
Badr S (orateur invité)
Congrès annuel de la Société Française de Médecine Physique et Réadaptative. Octobre 2017; Nancy, France.

ACTIVITÉS DE MODÉRATION (SUR INVITATION)

2018 **Brain tumors : pre-treatment.**

Badr S, Wang M.

Annual meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine. Juin 2018; Paris, France.

POSTERS ÉLECTRONIQUES

2019 **Évaluation par spectroscopie IRM des caractéristiques régionales de l'adiposité médullaire à la hanche de patientes suivies pour anorexie mentale.**

Badr S, Legroux-Gérot I, Vignau J, Chauveau C, Ruschke S, Karampinos DC, Budzik JF, Cortet B, Cotten A.

21^{èmes} Journées Françaises de Biologie des Tissus Minéralisés. Juin 2019; Boulogne-sur-Mer, France.

2011 **Angiomammographie en pratique clinique en 2011.**

Badr S, Laurent N, Claebots C, Régis C, Boulanger L, Lemaille S, Poncelet E.

Journées Françaises de Radiologie. Octobre 2011; Paris, France.

CHALLENGE — INTELLIGENCE ARTIFICIELLE

2018 **Data Challenge – Forum d'Intelligence Artificielle.**

Badr S, Leroy A, Dumas E, Tizon X, Hayoun Y.

Journées Françaises de Radiologie. Octobre 2018; Paris, France.