

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Utilisation de la spectroscopie par résonance magnétique pour la détection et la gradation de la stéatose hépatique

par

Martin Ruel

Institut de génie biomédical

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de maîtrise en sciences appliquées
de génie biomédical
Option imagerie et instrumentation

Avril 2008

© Martin Ruel, 2008



Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Utilisation de la spectroscopie par résonance magnétique pour la détection et la gradation
de la stéatose hépatique

présenté par :

Martin Ruel

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Beaudoin, Gilles, président-rapporteur
Boulangier, Yvan, directeur de recherche
Tang, An, membre du jury

Résumé

Le but de ce projet de recherche est de trouver une méthode non invasive pour quantifier la stéatose hépatique. Cette méthode consiste à comparer différentes techniques d'imagerie par résonance magnétique (IRM) et de spectroscopie par résonance magnétique (SRM) avec l'analyse histopathologique par catégories et par segmentation. Dix-sept patients diagnostiqués avec une stéatose par analyse histopathologique et dix-sept volontaires ont subi un examen de spectroscopie par résonance magnétique (SRM) du foie, en plus d'examen d'imagerie pondérée par diffusion (IPD) et d'imagerie double-écho (IDÉ) en phase/hors phase. Les patients ont également subi un prélèvement sanguin pour dosages biochimiques reliés à la fonction hépatique. Un algorithme de segmentation d'images a aussi été développé pour mesurer la fraction de graisse par segmentations de photos de lames de biopsies hépatiques numérisées. Les ratios lipides/(lipides+eau) (RLLE) mesurés par SRM ont montré la meilleure discrimination entre les patients et les sujets contrôles tandis que les résultats d'IPD ne montrent aucune discrimination. Les résultats de corrélations entre les différentes techniques ont été les meilleures entre les résultats de SRM et d'IDÉ, mais aussi entre les résultats d'IDÉ et de fraction de gras par segmentation. Les résultats obtenus montrent l'efficacité des méthodes utilisées, ce qui peut être utile pour le diagnostic clinique et le suivi des patients avec une stéatose hépatique.

Mots-clés : Stéatose, foie, spectroscopie par résonance magnétique, imagerie par résonance magnétique, imagerie double-écho, imagerie pondérée par diffusion.

Abstract

The aim of this project is to find a noninvasive method to quantify liver steatosis. This method consists of comparing different magnetic resonance imaging (MRI) and magnetic resonance spectroscopy (MRS) techniques with histopathological analysis by grades and by segmentation. Seventeen patients diagnosed with steatosis by histopathologic analysis and seventeen control subjects underwent localized ^1H -MR spectroscopy (MRS), dual-echo in phase/out of phase and diffusion-weighted MRI exams. An algorithm was developed to measure the fat fraction by segmentation of the histopathology images. The lipid/(lipid+water) ratios measured by MRS showed the best discrimination between steatosis patients and control subjects whereas DWI results showed no discrimination. Correlations between results of different techniques were best between MRS and dual echo imaging data but were also good between dual echo imaging and histology segmentation results. The results obtained show the effectiveness of the methods used, which can be useful for clinical diagnosis of patients with liver disease.

Keywords : steatosis, liver, magnetic resonance spectroscopy, magnetic resonance imaging, dual-echo imaging, diffusion-weighted imaging

Table des matières

Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures	xi
Liste des abréviations.....	xvii
Remerciements.....	xxii
INTRODUCTION.....	1
1. L'ENJEU DU PROJET	5
1.1. Brève physiologie du foie	5
1.2. La stéatose hépatique : une maladie répandue	11
1.2.1. La méthode d'évaluation de la stéatose : l'histopathologie.....	12
1.2.2. Pathogenèse.....	15
1.2.2.1. La résistance à l'insuline : le premier coup.....	17
1.2.2.2. L'abus d'alcool : une autre forme de premier coup	18
1.2.2.3. La lipotoxicité : le deuxième coup.....	19
1.2.2.4. L'obésité.....	21
1.2.3. La méthode de prélèvement du tissu : la biopsie	22
1.2.4. Les autres méthodes de diagnostic	23
1.3. La spectroscopie par résonance magnétique (SRM).....	24
1.3.1. Historique de la résonance magnétique.....	24
1.3.2. Les principes physiques de la résonance magnétique	26
1.3.2.1. La source du signal.....	26
1.3.2.2. La précession.....	27
1.3.2.3. L'origine du signal : la résonance	30
1.3.2.4. Le comportement du signal.....	34
1.3.2.5. Les échos de signal.....	38
1.3.3. Les principes physiques de la SRM	41
1.3.3.1. La méthode d'acquisition du signal SRM	42
1.3.3.2. La transformée de Fourier et les spectres de RM.....	45
1.4. L'imagerie par résonance magnétique (IRM).....	47
1.4.1. Le codage et la formation des images	47
1.4.1.1. La sélection de tranches	48

1.4.1.2.	L'encodage de phase	48
1.4.1.3.	L'encodage en fréquences.....	49
1.4.1.4.	Le plan de Fourier	50
1.4.2.	L'imagerie pondérée par diffusion (IPD)	52
1.4.3.	L'imagerie double écho (IDÉ).....	57
1.5.	Hypothèses de travail et objectifs du projet	59
1.5.1.	L'efficacité de la SRM dans la détection et la quantification lipidique.....	59
1.5.2.	L'IPD et son apport dans l'évaluation de la fibrose.....	62
1.5.3.	L>IDÉ et la quantification lipidique	64
1.5.4.	L'évaluation de l'histopathologie hépatique comme outil de diagnostic.....	66
2.	MATÉRIEL ET MÉTHODES	70
2.1.	Sujets impliqués	70
2.1.1.	Critères d'inclusion	70
2.1.2.	Critères d'exclusion	70
2.2.	Analyse histopathologique	71
2.3.	Utilisation de bioessais.....	72
2.4.	Paramètres de la SRM.....	75
2.5.	Paramètres de l'IRM.....	77
2.5.1.	Paramètres de l'IPD	77
2.5.2.	Paramètres de l>IDÉ	78
2.5.3.	Utilisation de l'IGÉ et la surcharge en fer	79
2.6.	Analyse des données	79
3.	RÉSULTATS	81
3.1.	Profil des sujets de l'étude.....	81
3.2.	Résultats de résonance magnétique.....	82
3.2.1.	Analyse des groupes témoins et expérimentaux	82
3.2.2.	Comparaison entre la moyenne des trois voxels et la surface totale.....	88
3.3.	Bioessais.....	88
3.3.1.	Valeurs d'ALT	90
3.3.2.	Bilan lipidique en fonction des données de SRM	90
3.3.3.	Bilan lipidique en fonction des données d>IDÉ	91
3.3.4.	Corrélation entre les paramètres de RM mesurant la graisse hépatique	92

3.4.	Histopathologie	96
3.4.1.	Analyse des données de RM en fonction d'une échelle de stéatose.....	96
3.4.2.	Quantité de stéatose issue de l'algorithme de segmentation d'images	98
3.4.3.	Concordance entre le pourcentage de stéatose et les données algorithmiques 100	
3.4.4.	Fibrose et inflammation	101
4.	DISCUSSION	102
4.1.	Corrélations des méthodes non-invasives	103
4.1.1.	Le lien clé : la convergence entre la SRM et l'IDÉ	103
4.2.	Corrélations avec les paramètres histologiques	104
4.3.	Corrélations avec les paramètres biochimiques	106
4.3.1.	Bilan lipidique.....	106
4.4.	Analyse du grade et stade de stéatose	106
4.5.	Analyse des caractéristiques anthropométriques	107
4.6.	Évaluation de la distribution spatiale graisseuse.....	107
4.6.1.	Analyse des diagrammes de surface intervoxels.....	107
4.6.2.	Comparaison des moyennes vs la surface totale	108
4.6.3.	Mise en contexte avec les résultats de la littérature	109
4.7.	Explications possibles des données non significatives	109
4.7.1.	Le cas des valeurs aberrantes et extrêmes.....	109
4.7.2.	Le cas des valeurs négatives de l'effet T_2^*	110
4.7.3.	Facteurs liés à l'IPD	110
4.7.4.	La concordance interobservateur de l'histopathologie	110
4.7.5.	Puissance statistique.....	111
4.8.	Limites de l'étude.....	111
4.8.1.	Caractéristiques liées à l'âge et au sexe	111
4.8.2.	Rigidité des contraintes des critères d'inclusion	112
4.8.3.	Mouvements du foie et matériel.....	112
4.9.	Implications cliniques de la SRM	113
4.10.	Perspectives futures du projet	113
5.	CONCLUSION.....	115
	BIBLIOGRAPHIE	I

ANNEXE 1 : Dérivation de l'équation de Larmor	I
ANNEXE 2 : La transformée de Fourier	IV
ANNEXE 3 : Le déplacement chimique.....	VI
ANNEXE 4: Le couplage scalaire	IX
ANNEXE 5: La segmentation automatique des vacuoles de graisse dans des coupes histologiques du foie	XII

Liste des tableaux

Tableau I : Gradation de la nécroinflammation de la SHNA selon l'échelle de Brunt (Brunt <i>et al.</i> , 1999)	14
Tableau II : Stadification de la stéatose selon l'échelle de Brunt (Brunt <i>et al.</i> , 1999)	15
Tableau III : Les principaux noyaux atomiques utilisés en SRM clinique et leurs paramètres (Cox, 1996).	42
Tableau IV : Les quatre types d'images extraites d'une séquence IDÉ avec leur interprétation respective	58
Tableau V : Liste des principales complications liées à la biopsie hépatique et leur incidence en pourcentage (Sheela <i>et al.</i> , 2005).....	68
Tableau VI : Les marqueurs biochimiques clés dans les systèmes hépatiques et leur fonction (Giannini <i>et al.</i> , 2005).....	74
Tableau VII: Caractéristiques démographiques et résultats de RM, moyennes et seuil de signification au test <i>t</i> indépendant de Student des paramètres évalués pour les sujets recrutés	81
Tableau VIII: Résultats de l'ANOVA à un facteur de trois niveaux (voxels) pour les variables de RM ayant servi à évaluer la quantité de graisse dans le foie de tout l'échantillon ($n = 34$)	86
Tableau IX : Test de Student sur la différence de moyennes des valeurs observées de chaque variable de RM pour chacun des voxels avec comme critère l'appartenance au groupe témoin ou patients	87
Tableau X : Analyse de corrélation linéaire bivariée afin de tester la reproductibilité entre deux voxels de la méthode de SRM, d'IDÉ et d'IPD chez tous les sujets.....	88
Tableau XI: Paramètres biochimiques mesurés chez les patients atteints de stéatose et leur valeur normale de référence	89
Tableau XII: Corrélations de l'activité de l'ALT sanguine et les variables de RM	90
Tableau XIII: Corrélations linéaires bivariées significatives du bilan lipidique avec les données spectroscopiques (valeurs moyennes des RLLE).....	90
Tableau XIV : Corrélations linéaires bivariées significatives du bilan lipidique avec les données d'IDÉ (valeurs moyennes des FG).....	92

Tableau XV : Matrice de Tukey illustrant les différences de moyennes pairées significatives entre chaque catégorie de la variable « échelle de stéatose » lorsque comparée à la moyenne des trois voxels de SRM (après une transformation de racine carrée)	97
Tableau XVI : Corrélation entre les données de RM et le taux de graisse calculé par un algorithme de segmentation d'images.....	98

Liste des figures

- Figure 1 : Positionnement anatomique du foie (Mennecier, 2000)..... 5
- Figure 2 : Représentation du lobule hépatique classique et portal (Cabana, 2001). 7
- Figure 3 : Schéma de l'espace porte hépatique constitué de la veine porte (VP), de l'artère hépatique (AH) et d'un canalicule biliaire (CB). Source : (Mennecier, 2000). 8
- Figure 4 : Portion détaillée du lobule hépatique. La circulation sanguine est centripète alors que la circulation biliaire est centrifuge (Cabana, 2001). 9
- Figure 5 : L'acinus hépatique est l'unité fonctionnelle du foie et sert à identifier les diverses atteintes histologiques diagnostiquées par le pathologiste. La zone 1 est appelée périportale et elle contient une forte concentration en oxygène. À l'opposé, la zone 3 est pauvre en oxygène. 10
- Figure 6 : Organigramme illustrant la terminologie hiérarchisée de la stéatose hépatique. 12
- Figure 7 : Principales voies métaboliques impliquées dans la stéatohépatite. La résistance à l'insuline provoque une plus grande absorption des acides gras exogènes et une plus grande production d'acides gras endogènes (premier coup), conduisant au deuxième coup, la peroxydation lipidique (Angulo, 2002). 16
- Figure 8 : Schéma du dérèglement métabolique découlant de l'abus d'alcool. Trois endroits de la cellule sont visés : la mitochondrie, le réticulum endoplasmique et le cytosol. Le fer de bas poids moléculaire est de type Fe^{2+} ou Fe^{3+} , mais sans que ce dernier ne soit lié à des transferrines ou ferritines (protéines de transport) (Sergent *et al.*, 2001). 19
- Figure 9 : Réactions de la peroxydation lipidique, principal facteur de l'inflammation hépatique. Les lipides (LH) réagissent avec l'hydroxyle radicalaire (OH^{\cdot}) pour former des lipides radicalaires (L^{\cdot}) qui réagissent avec l'oxygène pour former des lipides peroxydés (LOOH)..... 20
- Figure 10 : Représentation classique d'un dipôle. Le moment magnétique de spin μ est un vecteur qui possède une direction et une magnitude. Le dipôle tourne autour de cet axe. 27
- Figure 11 : La précession. Le dipôle tourne sur lui-même selon un moment magnétique μ . Sous l'influence du champ magnétique principal B_0 , le dipôle effectuera un mouvement conique autour de l'axe B_0 . Ce mouvement conique aura une vitesse

angulaire ω_0 , aussi appelée *fréquence de Larmor*, s'exprimant en radians par seconde (rad s^{-1}). 28

Figure 12 : La loi de Boltzmann régit la distribution des populations de spin dans les niveaux énergétiques. Le graphe illustre la variation de l'énergie des niveaux de spin avec le champ magnétique principal B_0 . Dans l'équation, n signifie la population de spins à un niveau d'énergie donné ($\pm \frac{1}{2}$), k est la constante de Boltzmann, T est la température absolue exprimée en degrés Kelvin et ΔE est la différence d'énergie entre les deux états d'énergie, soit les moments magnétiques de spin I_z 29

Figure 13 : Sans champ magnétique externe B_0 , les dipôles ne sont pas alignés et sont disposés aléatoirement dans l'espace. La magnétisation survient lorsque les dipôles sont alignés dans un champ magnétique externe B_0 . Elle résulte d'une tendance nette où un plus grand nombre de dipôles vont s'aligner dans le sens parallèle ($+$ $\frac{1}{2}$) plutôt que l'inverse. La très grande densité en protons dans le corps humain, surtout dans la molécule d'eau, causera une amplification du phénomène qui est facilement mesurable par l'appareil. La figure de droite illustre la phase aléatoire de six dipôles lorsqu'il y a absence d'excitation par radiofréquence..... 30

Figure 14 : Mécanique vectorielle du dipôle. Lorsque le spin est soumis à une force provenant du champ magnétique B_1 , son moment magnétique de spin μ se met à basculer dans un nouveau plan de l'espace, le plan transverse (XY). Le vecteur de magnétisation M peut alors être décomposé en deux composantes orthogonales, soit M_Z et M_{XY} . L'angle (α) que forme le vecteur M avec l'axe du plan longitudinal (YZ) se nomme angle de nutation. 32

Figure 15 : Évolution temporelle du vecteur de magnétisation M lorsqu'il est soumis à une onde RF excitatrice de 90 degrés. En A, le vecteur M est à sa position d'origine et il y a absence de l'onde RF. En B, l'onde RF est émise dans la direction de l'axe x , ce qui cause le basculement complet du vecteur M dans le plan transverse XY . La composante orthogonale M_Z est donc nulle et la composante $M_{XY} = M$. En C, tout juste après que l'onde RF cesse d'être appliquée, le vecteur M revient graduellement à son état d'origine dans le plan longitudinal YZ . En D, le vecteur M est presque revenu à son état initial. La composante $M_Z \approx M$ et M_{XY} tend vers zéro. 33

Figure 16 : Le signal de précession libre (*Free Induction Decay*) est une onde sinusoïdale s'estompant avec le temps selon une courbe exponentielle régie par T_2^* , le temps de

relaxation spin-spin plus l'effet de l'inhomogénéité du champ magnétique externe. Le déphasage graduel des spins, aussi appelé effet *spin-spin*, cause la diminution très rapide de la magnétisation transverse (M_{XY}), ce qui entraîne une diminution de l'amplitude de l'onde sinusoïdale en fonction du temps s'écoulant après l'impulsion de 90 degrés. 35

Figure 17 : Constantes de relaxation longitudinales (T_1) et transversales (T_2), les deux solutions aux équations différentielles de Bloch décrivant l'évolution de la magnétisation dans le temps..... 36

Figure 18 : La séquence spin-écho. Une impulsion initiale de 90 degrés génère une FID. Après un laps de temps, l'émission d'une nouvelle impulsion de 180 degrés cause un inversement des moments magnétiques μ de chaque spin. Cette inversion va provoquer un retour en phase des spins, générant un nouveau signal, l'écho de spin. Le temps entre le FID original et l'écho de spin se nomme le temps d'écho (TE) et correspond à deux fois τ (la durée entre les deux impulsions RF)..... 39

Figure 19: L'écho de gradient utilise un champ magnétique supplémentaire dans lequel les fréquences vont varier linéairement, causant un déphasage contrôlé et accéléré des spins. Le FID décroîtra donc selon le paramètre T_2^* , ce qui va accélérer le processus global d'acquisition du signal. L'onde RF initiale (HF) est la plupart du temps inférieure à 90 degrés. L'écho est à son maximum lorsque l'intégrale du gradient positif correspond à celle du gradient négatif. 40

Figure 20 : La séquence PRESS est utilisée largement en SRM pour circonscrire la ROI : le voxel. En haut, la séquence PRESS double-écho. En bas, la formation du voxel. En A, un gradient de sélection de tranches G_z , à amplitude variable, déphase et rephase les spins; combiné à une impulsion RF de 90 degrés, un FID est généré. En B, un gradient G_y , perpendiculaire à l'axe Y, sélectionne une zone rectiligne d'épaisseur définie à l'intérieur de la tranche; l'impulsion de 180 degrés génère ensuite un premier écho de spin après un rephasage. En C, un troisième gradient G_x , perpendiculaire à l'axe X, est généré, suivi d'une nouvelle impulsion de 180 degrés. Cette impulsion permet de délimiter une nouvelle zone rectiligne croisant la première, toujours à l'intérieur de la tranche sélectionnée par le G_z . En D, un deuxième écho de spin est généré. Cet écho est lu par l'antenne réceptrice de l'appareil qui est alors mis sous tension. L'écho est

- ainsi le FID émis uniquement par les spins contenus dans le voxel (ou la ROI) à cibler (Bottomley, 1984). 44
- Figure 21: Spectre de résonance magnétique du proton, soit le graphe de l'intensité (en ordonnée) versus le DC (en abscisse) illustrant le nombre de noyaux résonnant dans divers environnements chimiques. Chaque groupement chimique forme un pic de résonance. 47
- Figure 22 : La formation de l'image à partir du plan de Fourier. Les données fréquentielles situées au centre de l'espace k sont basses, avec de grandes amplitudes. Il y a donc un très fort contraste, mais sans netteté dans l'image. Les données fréquentielles situées en périphérie de l'espace k donnent lieu à des variations très abruptes de l'intensité sur une très petite surface. Ce sont en grande partie les contours de l'image. Combinées, ces deux régions donnent une image ayant une résolution fine avec un contraste élevé. 51
- Figure 23 : La combinaison d'impulsions RF et les gradients de diffusion utilisés dans l'IPD (Kremer *et al.*, 2007). 54
- Figure 24: Séquence EPI utilisée dans l'IPD. RF : impulsion excitatrice; GM : gradient de sélection en fréquences; GS : gradient de sélection de tranches; GP : gradient de sélection de la phase; G_{Diff} : gradient de diffusion; Δ : intervalle entre les deux gradients de diffusion; d : durée du gradient de diffusion; TE : temps d'écho; $t_{EPI/2}$: maximum de l'écho EPI (Bammer, 2003). 56
- Figure 25: Diagramme de surfaces comparant les valeurs de RLLE dans chacun des trois voxels placés dans le foie, ainsi que pour la moyenne des trois voxels pour les patients atteints de stéatose et pour les sujets contrôles. Chaque rectangle représente la variance pour chaque variable, et les extrémités des barres latérales représentent les valeurs minimum et maximum. La barre centrale contenue dans le rectangle est la médiane. L'étoile représente un cas extrême décrété par le logiciel. Le chiffre réfère au numéro du sujet. 82
- Figure 26 : Diagramme de surfaces comparant les valeurs de FG mesurées par IDÉ dans chacun des trois voxels placés dans le foie, ainsi que pour la moyenne des trois voxels et pour une ROI correspondant à l'aire totale du foie. 84

- Figure 27 : Diagramme de surfaces comparant les valeurs de CDA mesurées par IPD dans chacun des trois voxels placés dans le foie, ainsi que pour la moyenne des trois voxels et pour une ROI correspondant à l'aire totale du foie. 85
- Figure 28: Diagramme en nuage de points illustrant la relation entre les valeurs de cholestérol sanguin et les données spectroscopiques des RLLE moyens calculés dans le foie. Les chiffres représentent les numéros de patient. *R Sq Linear* = coefficient R^2 de linéarité. 91
- Figure 29 : Diagramme en nuage de points illustrant la relation entre les valeurs de cholestérol sanguin et les données d'IDÉ des FG moyennes calculées dans le foie. Les chiffres représentent les numéros de patient. *R Sq Linear* = coefficient R^2 de linéarité. 93
- Figure 30 : Diagramme en nuage de points illustrant la très forte corrélation entre les valeurs moyennes de RLLE et celles de FG issues des trois voxels pour les 17 patients ayant participé à l'étude. FG = moyenne de fraction de gras corrigée en T_2^* ; RLLE = moyenne des rapports lipides/(lipides+eau) corrigés en T_2^* ; *R Sq Linear* = coefficient R^2 de linéarité. 94
- Figure 31: Graphe de Bland & Altman illustrant le degré d'accord entre les variables de SRM (la moyenne des RLLE pour trois voxels) et d'IDÉ (la moyenne des FG pour trois ROI ayant les mêmes coordonnées que les voxels). Les étiquettes correspondent aux numéros des patients. La borne supérieure représente la moyenne + 2 X l'écart-type σ 95
- Figure 32: Diagramme de surface montrant la dispersion des valeurs observées du RLLE moyennées des trois voxels en fonction d'une échelle de stéatose arbitraire subdivisée en quatre sous-groupes de gradation. 96
- Figure 33 : Corrélation entre les données spectroscopiques de RLLE et le taux de graisse calculé par un algorithme de segmentation d'images. Les chiffres représentent les numéros de patients. RLLE = moyenne des rapports lipides/eau; *R Sq Linear* = coefficient R^2 de linéarité. 99
- Figure 34 : Corrélation entre la fraction de gras mesurée par IDÉ et la fraction de gras calculée par un algorithme de segmentation d'images histologiques. Les chiffres représentent les numéros de patients. FG = moyenne des FG des trois voxels; *R Sq Linear* = coefficient R^2 de linéarité. 100

Figure 35: Graphe de Bland et Altman montrant la surestimation de la méthode conventionnelle d'estimation du pourcentage de stéatose par les pathologistes en comparaison avec la méthode de segmentation.	101
Figure 36: Schéma représentant le résultat d'une transformée de Fourier	V
Figure 37: Conventions de l'axe du déplacement chimique δ	VIII
Figure 38: Le couplage AX_2 , où 2 spins de protons H_X résonnent dans le voisinage d'un troisième, le proton H_A . Le spectre sera composé d'un triplet (résonance du spin H_A) et d'un doublet (résonance du spin H_X).	X
Figure 39: Le triangle de Pascal se construit en additionnant les deux entiers adjacents d'une ligne horizontale, pour ensuite placer le résultat entre ces deux entiers, une ligne en dessous. Chaque ligne représente l'arrangement des amplitudes relatives de chaque multiplet au sein du pic de résonance d'un noyau ayant n spins dans son voisinage. .	XI
Figure 40: Motif d'éclairage extrait après avoir séparé les composantes de variations spatiales d'éclairage de celles des teintes des objets.	XII
Figure 41: Image monochrome corrigée après l'extraction des variations spatiales de l'éclairage.	XIII
Figure 42: Image des vacuoles lipidiques segmentées. Le pourcentage de graisse se calcule en faisant le rapport entre la somme des surfaces des vacuoles segmentées et la surface totale de l'échantillon.	XIII

Liste des abréviations

μ : moment quantique de spin

$\mu\text{g/L}$: microgramme par litre

$\mu\text{mol/L}$: micromole par litre

^{12}C : carbone-12

^{16}O : oxygène-16

^{31}P : phosphore-31

ADH : alcool déshydrogénase

ADN : acide désoxyribonucléique

ALT : alanine aminotransférase

ANOVA : test d'analyse de variance (*Analysis of Variance*)

AST : aspartate aminotransférase

ATP : adénosine triphosphate

b : facteur b de diffusion

B_0 : champ magnétique principal

B_1 : champ radiofréquentiel

CDA : coefficient de diffusion apparent

CHESS : séquence sélective au déplacement chimique (*CHEmical Shift Selective*)

CHUM : Centre hospitalier de l'Université de Montréal

CPI-975 : inhibiteur de la carnitine palmitoyltransférase 975

CSI : imagerie par déplacement chimique (*Chemical Shift Imaging*)

CYP2E1 : cytochrome P450 2E1

DC : déplacement chimique

ddl : degrés de liberté

EAO : espèces activées de l'oxygène

EPI : séquence d'imagerie écho-planaire

ÉT : écart-type

F : statistique F de l'ANOVA

FFT : transformation de Fourier rapide (*Fast Fourier Transform*)

FG : fraction de graisse ou de gras
FID : signal de précession libre (*Free Induction Decay*)
FLD : stéatopathies (*fatty liver diseases*)
 G : gradient
g/L : gramme par litre
 G_F : gradient de lecture
GGT : γ -glutamyl transpeptidase
GLUT4 : glucose transporter 4
 G_P : gradient d'encodage de phase
 G_S : gradient de sélection de coupe
HBA1C : hémoglobine A1C
HDL : lipoprotéines à haute densité (*high density lipoproteins*)
HE : hématoxyline éosine
HNÉ : hydroxynonéal
Hz : Hertz
 I : numéro quantique de spin
ICC : coefficient intra-classe
IDÉ : imagerie double écho
IL-8 : interleukine-8
IMC : indice de masse corporelle
IPD : imagerie pondérée par diffusion
IRM : imagerie par résonance magnétique
 J : constante de couplage
 k : constante de correction
LDL : lipoprotéines à basse densité (*low density lipoproteins*)
 M : magnétisation
MDA : malondialdéhyde
mmol/L : millimoles par litre
ms : millisecondes
 M_Y : magnétisation transverse
 M_Z : magnétisation longitudinale

n : taille de l'échantillon

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide (forme réduite)

N_{ex} : nombre d'excitations

NP_y : nombre de pas d'encodage de phase

p : degré de signification statistique

PAL : phosphatase alcaline

PMN : polymorphonucléaires

ppm : parties par millions

PRESS : séquence résolue en points spatiaux (*Point REsolved Spectroscopy Sequence*)

PROBE SV : protocole de SRM monovoxel du proton pour le cerveau (*PROton Brain spectroscopy Exam / Single Voxel*)

R Sq Linear : coefficient R^2 de linéarité

r : coefficient de Pearson

rad s⁻¹ : radian par seconde

RF : radio-fréquence

RLLE : rapport lipides/(lipides+eau)

RM : résonance magnétique

RNI : ratio normalisé international

ROI : région d'intérêt (region of interest)

SA : stéatopathie alcoolique

SHA : stéatohépatite alcoolique

SHNA : stéatohépatite non alcoolique

SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise

SNA : stéatopathie non alcoolique

SNR : ratio signal/bruit (signal-to-noise ratio)

SOME : système d'oxydation microsomial de l'éthanol

SPGR : séquence d'écho de gradients ultrarapides avec destruction de l'aimantation transversale résiduelle (*SPoiled Gradient-Recalled dual-echo sequence*)

SRM : spectroscopie par résonance magnétique

STEAM : séquence en mode d'échos stimulés (*STimulated Echo Acquisition Mode*)

T : Tesla

T_1 : temps de relaxation longitudinal
 T_2 : temps de relaxation transverse
TA : temps d'acquisition
TDM : tomodensitométrie
TE : temps d'écho
TF : Transformée de Fourier
TF2D : transformée de Fourier en deux dimensions
TGF- β : facteur de croissance transformant bêta
TMS : tétraméthylsilane
TNF- α : facteur de nécrose tumorale alpha
TR : temps de répétition
U/L : unités par litre
VLDL : lipoprotéines à très basse densité (*very low density lipoproteins*)
XD : xanthine déshydrogénase
XO : xanthine oxydase
XY : plan transverse
YZ : plan longitudinal
 α : angle de nutation OU seuil de signification statistique
 γ : facteur gyromagnétique
 δ : échelle de déplacement chimique
 ΔE : variation d'énergie
 κ : coefficient kappa de Cohen
 ν_c : fréquence de résonance de l'eau
 ν_g : fréquence de résonance du gras
 σ : constante de blindage
 τ_c : temps de corrélation
 Φ : variation de phase
 ω : fréquence de Larmor
 ω_0 : vitesse angulaire

Je dédie ce mémoire à mon père, qui a toujours su comment déplacer des montagnes.

Remerciements

Ce mémoire de maîtrise est l'aboutissement d'un travail long et, je l'admets, parfois ardu qui a nécessité une bonne dose de persévérance et de motivation. Jamais je n'aurais pu y arriver sans l'aide de personnes généreuses de leur temps et de leur compétence.

Je commence d'emblée par remercier mon directeur de maîtrise, M. Yvan Boulanger, Ph.D. Sa constante présence, ses judicieux conseils, sa rigueur et son sens de la précision font en sorte que j'ai pu accomplir des pas de géants et apprendre les bases et les rudiments du milieu de la recherche. Rien de tout ce qui apparaît dans ces pages n'aurait pu exister sans sa présence. Par le fait même, je remercie Abdesslem Khiat, Ph.D., assistant de recherche au laboratoire de résonance magnétique de l'Hôpital Saint-Luc du CHUM, pour son aide pratique et ses conseils. Merci également à Martin Viau, M.D. M.Sc., étudiant de M. Boulanger, sans qui je n'aurais pu connaître l'existence de ce milieu de recherche. Merci également à Gaspard d'Assignies, M.D., pour ses judicieux conseils et son sens de l'innovation et de la rigueur. Merci aussi à Mourad Amara, M.Sc.A., pour ses conseils et ses explications sur les principes physiques de la résonance magnétique.

Je tiens à souligner l'extrême gentillesse et la grande générosité de l'équipe du Centre de résonance magnétique recherche de l'Hôpital Saint-Luc du CHUM, à commencer par la secrétaire de résonance magnétique division recherche, madame Louise Angrignon. Son éternelle bonne humeur, son expérience et sa grande délicatesse m'ont beaucoup apporté. Merci aussi à l'équipe de techniciens en radiologie, menée de main de maître par Claude Bureau, ancien t.r. et maintenant Josée Tremblay, t.r. Leur grande expertise contribue à la rigueur des résultats de ma recherche. Merci aux radiologues Luigi Lepanto, M.D., et à An Tang, M.D., ainsi qu'à l'hépatologue Marc Bilodeau, M.D., pour leur disponibilité. Merci également au pathologiste Bich Nguyen, M.D., pour ses conseils sur l'analyse histopathologique et pour avoir fourni les lames de biopsie. Un remerciement tout spécial va à Assia Belblidia, assistante de recherche, pour son implication assidue au recrutement des patients. Merci aussi à Katia Monteilhet, secrétaire en enseignement au Département de radiologie, pour ses services.

Je tiens évidemment à remercier du fond du cœur mes amis pour leurs encouragements de tous les instants. Merci à Liliane, Geneviève, Jérôme et Véronique pour leur soutien inconditionnel. Merci à tous mes collègues musiciens pour leur énergie incroyable, particulièrement Maryse, Karine et Marilou pour leur présence, leur écoute et leur empathie dans les moments difficiles.

Un merci final va à ma sœur Mélanie, ma mère Diane et mon père Claude. Sans leur encouragement de tous les instants, le point final à la dernière page de ce manuscrit n'aurait jamais pu y figurer.

INTRODUCTION

De tous les organes du corps humain, le foie constitue la glande endocrine et exocrine la plus volumineuse en plus d'être essentielle dans le processus de digestion. Le métabolisme, surtout de nature lipidique, y joue un rôle très important. La majeure partie des lipides logés dans le foie sont relâchés dans la circulation sanguine lorsque le corps a besoin d'énergie de manière prolongée. Le foie synthétise alors des lipoprotéines afin de transporter les triglycérides aux tissus périphériques.

L'apport alimentaire a pour fonction de fournir les lipides et autres éléments dont le corps a besoin en ressources énergétiques et autres. Le foie module alors cet apport en énergie en relâchant dans la circulation sanguine des lipoprotéines dont les lipides seront métabolisés par les différents types de cellules des tissus périphériques. Le foie permet donc d'assurer un équilibre entre la quantité de lipides qui entrent dans le corps et la quantité qui est éliminée du corps lors de la combustion des lipides par les cellules pour en libérer l'énergie nécessaire.

Dans le spectre des pathologies hépatiques, la stéatose représente le dysfonctionnement le plus répandu dans la population. Directement liée à l'alimentation, elle entraîne une augmentation de la quantité de triglycérides présente au sein du foie. Asymptomatique, elle peut, dans la plupart des cas, aboutir à des maladies hépatiques plus sérieuses comme la cirrhose ou le cancer du foie. Les origines de la stéatose hépatique sont multifactorielles et elle peut soit causer une pathologie ou en être la conséquence. L'absence de symptômes au stade précoce de la maladie souligne toute l'importance de diagnostiquer la stéatose à temps afin de pouvoir mettre un frein à la dégradation de la fonction hépatique.

Ceci étant dit, le diagnostic de la stéatose s'effectue conventionnellement par une analyse histopathologique d'un échantillon de tissu extrait du parenchyme, comme il sera expliqué, par biopsie stéréotaxique. Cependant, bien que largement reconnue par les cliniciens, cette méthode est invasive, provoque un inconfort certain et comporte des risques pour le patient. Il est donc impératif de développer des méthodes de diagnostic sensibles et spécifiques pour la stéatose mais non invasives et incluant un échantillon de tissu plus représentatif du volume de foie total que celui extrait par la biopsie.

Dans cette optique, le domaine des méthodes de détection non invasives offre plusieurs alternatives. Une d'entre elles, la résonance magnétique (RM), offre l'avantage de pouvoir aller chercher des informations autant d'ordre morphologique (aspect anatomique d'organes et de tissus), que sur la composition des tissus (quantité de signal émise par divers types de molécules biochimiques). L'imagerie par résonance magnétique (IRM) permet de répondre au premier objectif alors que la spectroscopie par résonance magnétique (SRM) permet de répondre au deuxième. Combinées, ces deux techniques offrent un potentiel de détection de la stéatose hépatique qui mérite une analyse plus rigoureuse.

Ce mémoire de maîtrise présente donc l'analyse de l'utilisation de la SRM afin de détecter et grader la stéatose hépatique. L'objectif global de ce projet de recherche consiste à détecter la stéatose le plus précisément possible afin de pouvoir parvenir à une quantification ayant un lien significatif avec les résultats histopathologiques. D'un point de vue clinique, l'étude vise à comparer trois techniques de résonance magnétique non invasives, fiables, facilement reproductibles et surtout sans risque pour le patient. Les techniques de résonance magnétique utilisées sont la SRM, l'IRM pondérée par diffusion (IPD) et l'IRM double écho (IDÉ). Les résultats seront corrélés avec la méthode de détection faisant consensus actuellement dans le milieu médical, c'est-à-dire l'analyse histopathologique d'un échantillon prélevé par biopsie, ainsi qu'avec les résultats du bilan biochimique détaillé du patient suite à des prélèvements sanguins.

La démarche entreprise pour concevoir, reproduire et valider la méthode sera exposée et détaillée de la façon suivante:

1. Le premier chapitre précise l'enjeu du projet et résume les connaissances actuelles. Par souci de clarté, cette section sera scindée en quatre blocs:
 - a. Le premier bloc traitera de la stéatose hépatique du point de vue pathologique, en définissant la maladie, en exposant les mécanismes métaboliques impliqués, en présentant l'histopathologie comme technique standardisée de diagnostic et en exposant brièvement les autres méthodes utilisées pour la détection de la stéatose en milieu clinique;
 - b. Le second bloc traitera de la méthode non invasive de détection étudiée dans ce projet, soit la SRM. En guise d'introduction, un bref historique de la mé-

- thode sera présenté, suivi des principes physiques incontournables reliés à la résonance magnétique. Ce portrait théorique permettra par la suite de s'attarder plus précisément aux notions physiques propres à la SRM et qui la distinguent de l'IRM;
- c. Le troisième bloc s'attardera sur les deux techniques d'IRM, l'IPD et l'IDÉ, servant à quantifier le gras dans le tissu hépatique. Ces deux méthodes combinées pourraient permettre d'augmenter la sensibilité du test;
 - d. Pour terminer, le premier chapitre se conclut avec les deux hypothèses principales du projet présentées selon l'objectif global de diagnostiquer la stéatose hépatique de façon non invasive.
2. Le deuxième chapitre porte sur la démarche méthodologique employée pour mettre au point le procédé ainsi que les principaux paramètres techniques à prendre en compte pour garantir une qualité optimale du signal. Ce chapitre traitera des principaux aspects suivants:
- a. Les sujets de l'étude, soit les sujets contrôles (dont les résultats seront comparés avec ceux des patients) et les patients;
 - b. L'analyse histopathologique mise en œuvre dans ce projet sera ensuite détaillée, avec une emphase sur la méthode de quantification du gras, l'échelle de critères histologiques pour grader la stéatose et la fibrose et l'enjeu de la biopsie dans le diagnostic;
 - c. L'analyse des données de résonance magnétique qui seront corrélées avec celles des bioessais d'échantillons sanguins et celles d'histopathologie. Les principaux bioessais consistent au bilan lipidique (triglycérides, lipoprotéines de type HDL et LDL, cholestérol), et aux protéines aminotransférases. Les fonctions de ces bioessais seront analysées en détail;
 - d. Par la suite, la méthode d'acquisition sera exposée en plusieurs blocs, soit la mise au point et le développement de la méthode d'acquisition, ainsi que les paramètres techniques de la SRM et de l'IRM;
 - e. Finalement, ce deuxième chapitre se conclura avec la présentation de la méthode statistique pour analyser les données en question.
3. Les principaux résultats seront exposés dans le troisième chapitre. Les résultats des techniques non invasives de résonance magnétique seront d'abord énumérés, ainsi

que les résultats provenant des échantillons de bioessais sanguins. Suivront les résultats de l'histopathologie.

4. L'avant-dernier chapitre traitera de l'interprétation de ces résultats. L'objectif consiste à souligner les corrélations les plus pertinentes permettant de confirmer ou infirmer la justesse du diagnostic non invasif, suite à la présentation de ces corrélations dans le chapitre des résultats.
5. Le dernier chapitre reprendra les aspects les plus significatifs du projet afin de souligner et mettre en perspective l'impact clinique de cette étude de recherche, ainsi que d'illustrer les principales perspectives futures qui permettront d'implanter la méthode, le cas échéant, dans des études de cas cliniques.

1. L'ENJEU DU PROJET

Dans ce premier chapitre, l'aspect théorique sera présenté en quatre volets, soit la pathologie étudiée, la technique non invasive utilisée pour le diagnostic, les techniques d'appoint servant à valider le test de détection et, finalement, la présentation des hypothèses de travail servant de guide de direction à ladite recherche.

1.1. Brève physiologie du foie

Le foie est l'organe le plus volumineux de l'organisme. Situé dans la portion supérieure de l'abdomen (sous le diaphragme, dans l'hypocondre droit et l'épigastre, consulter la Figure 1), il joue un rôle primordial dans le métabolisme, en plus de détoxifier l'organisme. Contrairement à d'autres organes, le foie est irrigué par deux vaisseaux sanguins : la veine porte, amenant les nutriments digérés de l'intestin grêle, et l'artère hépatique, qui amène du sang fraîchement chargé d'oxygène afin d'acheminer ce gaz essentiel aux cellules hépatiques pour métaboliser les nutriments.

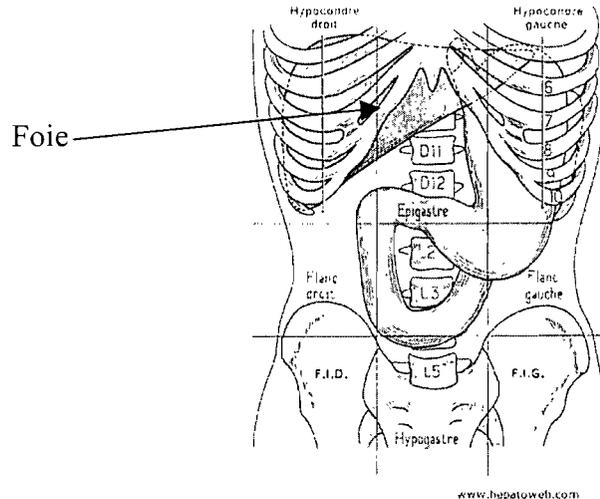


Figure 1 : Positionnement anatomique du foie (Menecier, 2000).

Expliquer en détail toutes les voies métaboliques existant dans le foie dépasse le cadre de ce travail, mais il est primordial de passer en revue la structure tissulaire de cet organe puisque cet élément de base sert au pathologiste à diagnostiquer les principales pathologies hépatiques, notamment la stéatose. Ainsi, la structure du parenchyme hépatique

sain sera brièvement présentée, suivie du rôle de cette structure dans le maintien des fonctions assumées par le foie.

À la base, le foie est composé de cellules appelées hépatocytes. Ces cellules sont spécialisées dans de multiples fonctions : métabolisme alimentaire, détoxification des substances exogènes et synthèse de la bile. Cette substance sert à émulsifier les graisses dans l'intestin grêle afin de faciliter la digestion. Le foie est donc une glande qui possède une double fonction, à la fois endocrine (synthèse d'enzymes et de protéines sanguines) et exocrine (bile), assurée entièrement par les hépatocytes.

La structure du tissu hépatique est conçue entièrement pour faciliter le transport des substances dans la circulation sanguine et digestive. Le foie est, avec les poumons, le seul organe à recevoir du sang à la fois riche et pauvre en oxygène. La veine porte transporte le sang des veines mésentériques rempli de substances nutritives, mais pauvres en oxygène provenant de l'intestin grêle jusqu'au foie. D'autre part, l'artère hépatique s'occupe de livrer aux hépatocytes l'oxygène nécessaire pour assurer leurs fonctions.

Le parenchyme hépatique peut être décortiqué selon deux points de vue différents, structural et fonctionnel. L'unité structurale classique est appelée lobule hépatique (Figure 2). Il est en forme de polyèdre hexagonal qui contient trois éléments : l'espace porte à chaque sommet du polyèdre, la veinule centrolobulaire (veinule hépatique terminale) en plein centre du lobule et les travées d'hépatocytes ou murailles hépatocytaires, qui partent de la périphérie du lobule pour converger vers la veine centrolobulaire.

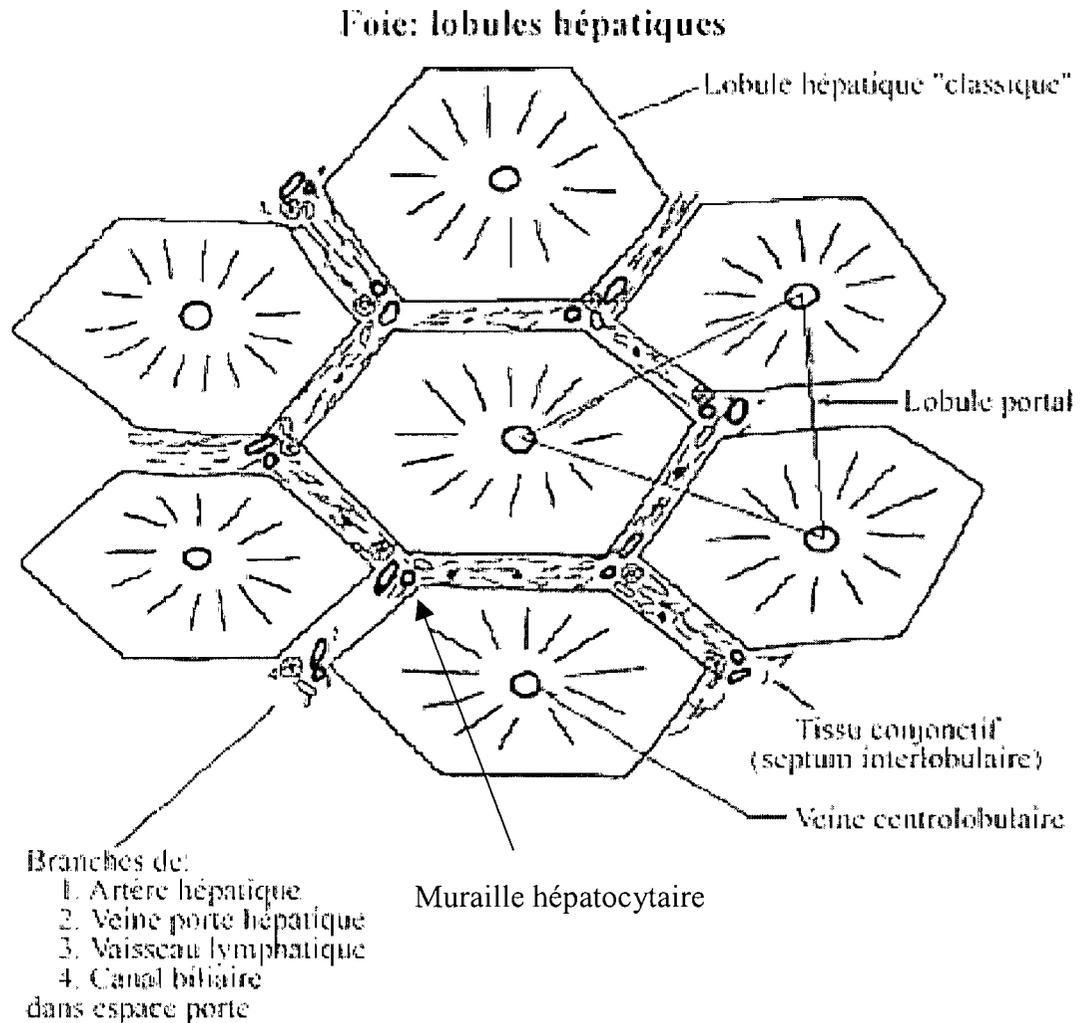


Figure 2 : Représentation du lobule hépatique classique et portal (Cabana, 2001).

L'espace porte est composé de trois éléments qui sont soutenus dans un tractus de tissu conjonctif plus ou moins bien délimité : une branche de la veine porte et de l'artère hépatique, ainsi qu'un canalicule biliaire (Figure 3). Les murailles hépatocytaires sont séparées par de très minces espaces anastomosés appelés sinusoides, lieu dans lequel s'effectue l'échange de substances nutritives et d'oxygène. Ainsi, le sang riche en nutriments et en oxygène se dirige suivant une force centripète vers la veinule hépatique centrolobulaire alors que la bile est expulsée du lobule suivant une force centrifuge vers le canalicule biliaire de l'espace porte (Figure 4). En tout temps, les hépatocytes sont en contact avec les sinusoides par leur surface latérale, des deux côtés.

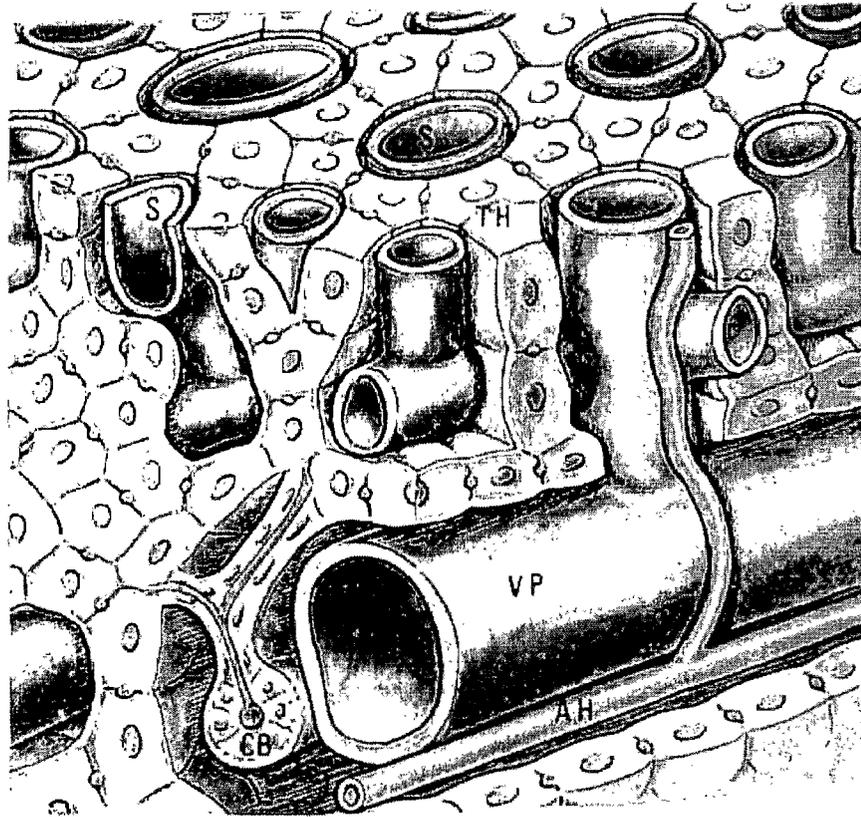


Figure 3 : Schéma de l'espace porte hépatique constitué de la veine porte (VP), de l'artère hépatique (AH) et d'un canalicule biliaire (CB). Source : (Mennecier, 2000).

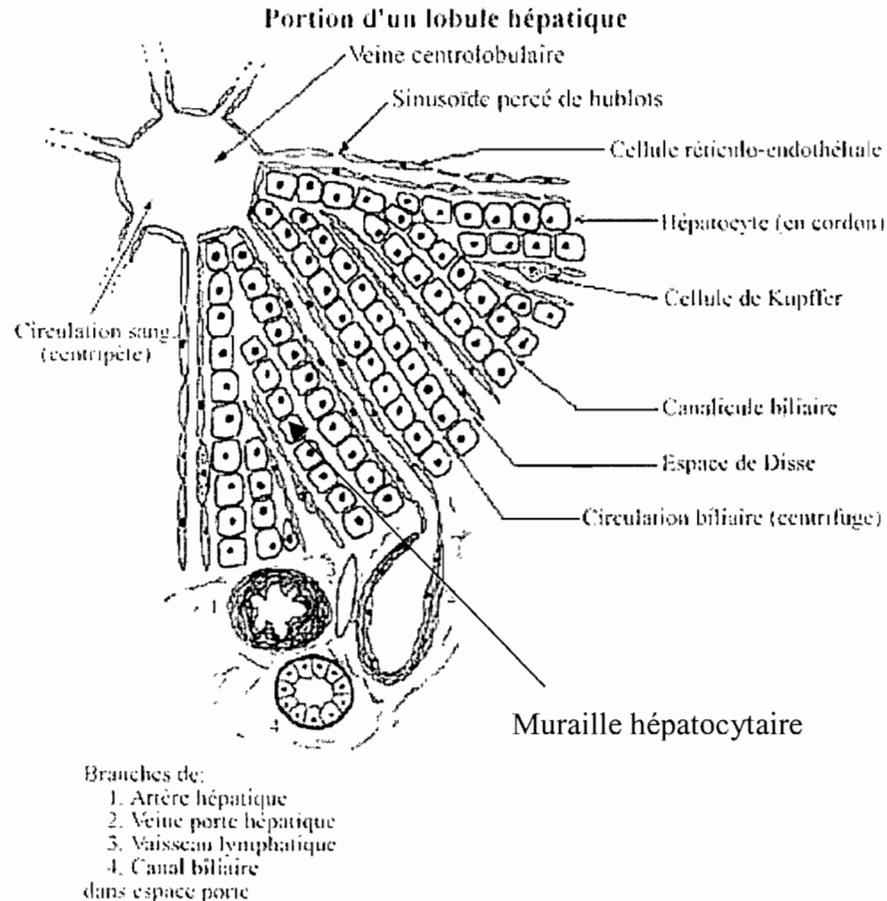


Figure 4 : Portion détaillée du lobule hépatique. La circulation sanguine est centripète alors que la circulation biliaire est centrifuge (Cabana, 2001).

Une autre unité, cette fois-ci fonctionnelle, vient peu à peu remplacer la conception classique du lobule. Les pathologistes utilisent désormais la dénomination d'acinus pour diagnostiquer les maladies hépatiques. Cette structure, moins bien délimitée que le lobule classique, contient deux veinules centrolobulaires aux extrémités et un espace porte en son centre. Sa forme s'apparente donc à un grain de raisin. Les hépatocytes contenus à l'intérieur de l'acinus sont subdivisés en trois zones, chacune représentant un apport fixe en oxygène (Figure 5). La zone 1 est située autour de l'espace porte et est appelée périportale. Elle contient la plus importante quantité d'oxygène. La zone 3 quant à elle est située autour des veinules hépatiques terminales et est par conséquent pauvre en oxygène. La zone 2 sépare les deux autres zones et elle détient un apport intermédiaire en oxygène. Les acini forment ainsi des agglomérats en trois dimensions qui s'apparentent plus à une représentation fonctionnelle du foie qu'à une structure en tant que telle. En réalité, le parenchyme hépatique est

lisse et régulier. Le réseau d'acini est plus approprié pour représenter la fonction des hépatocytes alors que les lobules, eux, se rapprochent plus de la structure.

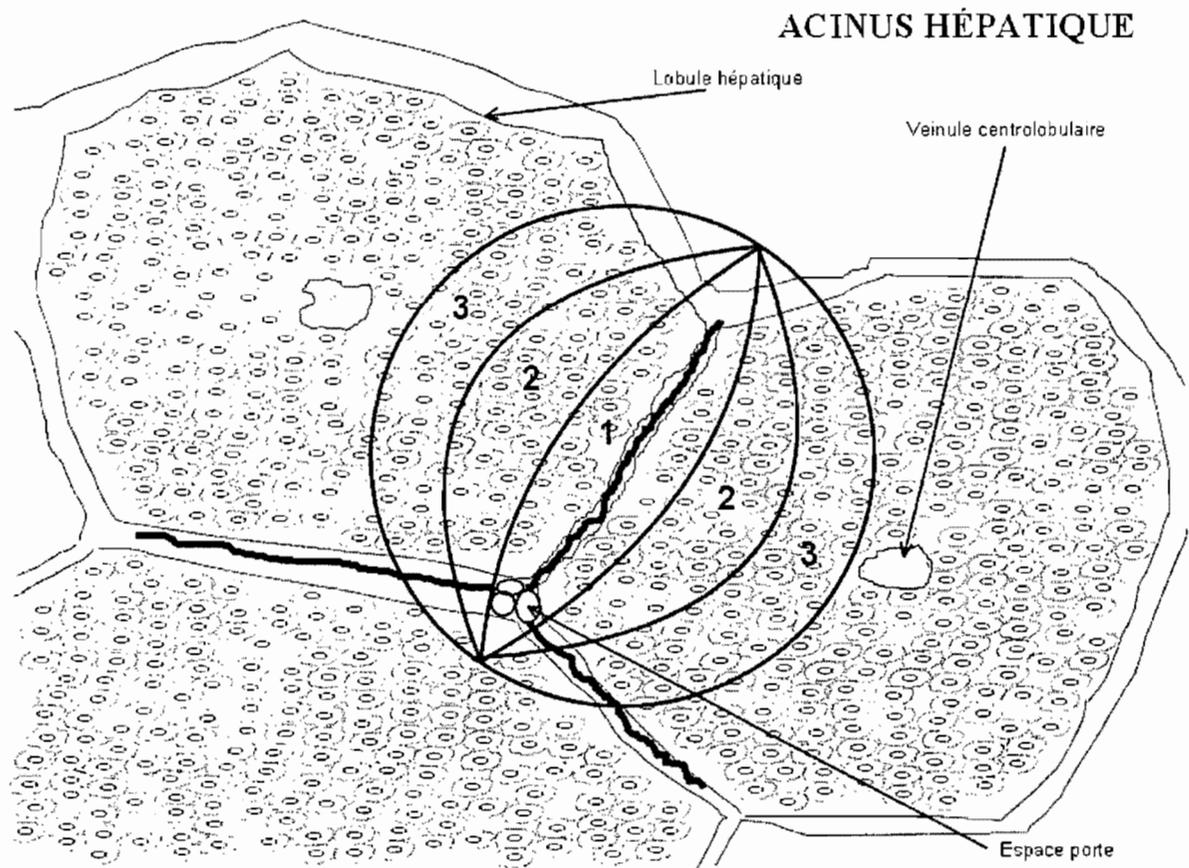


Figure 5 : L'acinus hépatique est l'unité fonctionnelle du foie et sert à identifier les diverses atteintes histologiques diagnostiquées par le pathologiste. La zone 1 est appelée périportale et elle contient une forte concentration en oxygène. À l'opposé, la zone 3 est pauvre en oxygène.

1.2. La stéatose hépatique : une maladie répandue

Il y a environ 4500 ans, les premières observations de surcharge en graisse du foie étaient observées en Égypte ancienne. Les oies quittant le froid vers le sud lors de leur migration avaient un foie plus volumineux et gorgé de graisse. Les Égyptiens préparaient un plat de ces foies d'oies qui s'est transmis jusqu'à la Rome ancienne, où les adeptes de ce repas farcissaient le foie avec des figues séchées nommées *ficatum*, l'origine étymologique du mot « foie » (Larrey, 2003; Larrey, 2003).

Ainsi, la stéatose fait référence à une surcharge en graisses, principalement en triglycérides, dans le foie. Ces foyers de lipides peuvent être focalisés ou diffus à la grandeur du parenchyme, et ils sont présents dans un pourcentage extrêmement variable. Sur le plan médical, la stéatose hépatique fait partie d'un ensemble de pathologies regroupées sous le terme « stéatopathies » (*fatty liver diseases*) (Ratziu et Poynard, 2003). Deux types ont été définis selon l'origine de la maladie, soit la stéatopathie non alcoolique et la stéatopathie alcoolique. La première catégorie est beaucoup plus répandue au sein de la population, soit entre 17 % et 33 % de la population américaine (Farrell et Larter, 2006).

Avant de continuer, il est primordial de distinguer les nuances qui sont utilisées en clinique pour distinguer les caractéristiques histologiques qui représentent l'évolution de la pathologie. La terminologie employée repose sur le concept de la théorie des « coups multiples » (*the multi hit model*) qui sera détaillée dans la prochaine section, car elle est fortement liée aux modifications cellulaires ayant lieu lors de l'accumulation de graisse dans le foie (Te Sligte *et al.*, 2004).

La Figure 6 présente un organigramme des différents types de stéatopathies et leur terminologie en français et en anglais. Les abréviations présentées seront utilisées dans le texte et le lecteur est invité à s'y référer au besoin. Il est important de mettre l'accent sur cette hiérarchie, car chaque terme réfère à des aspects histologiques précis.

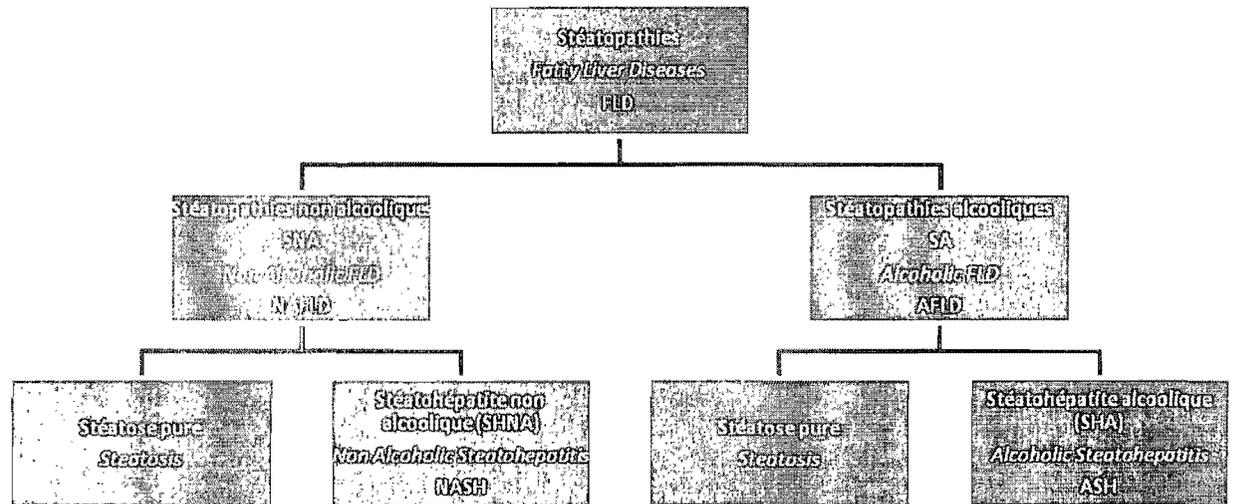


Figure 6 : Organigramme illustrant la terminologie hiérarchisée de la stéatose hépatique.

1.2.1. La méthode d'évaluation de la stéatose : l'histopathologie

L'histopathologie est la méthode servant à évaluer et caractériser la stéatose. Selon cette méthode, la stéatose évolue selon le modèle des « coups multiples » (*the multi-hit model*). Cette théorie proposée pour la première fois en 1998 met en relief l'induction, par les triglycérides accumulés dans les hépatocytes, du phénomène de l'inflammation qui déclenchera à plus ou moins long terme la fibrose du parenchyme et ultimement, la mort des cellules (Day et James, 1998). Durant cette évolution, l'aspect macroscopique du tissu change complètement de morphologie. Cette transformation, très facilement détectable au microscope, permet donc de diagnostiquer le type de stéatose en question.

La théorie des coups multiples souligne l'importance de la *gradation* de la pathologie : la stéatose, après un certain point, devient néfaste pour les cellules hépatiques et cause leur destruction. Ce point de non-retour devient réalité lorsque la cellule subit un stress oxydatif soutenu et intense qui dérèglera ses mécanismes métaboliques. Toutefois, avant d'exposer les grandes lignes de ce dérèglement cellulaire, il faut d'abord expliquer quels sont, au niveau macroscopique et tissulaire, les changements observables qui permettent aux pathologistes d'établir un diagnostic fiable.

Le premier coup survient lorsque l'hépatocyte accumule des lipides au sein de son cytoplasme. Ces lipides sont très facilement visibles au trichrome de Masson ou à l'héματοxyline/éosine, qui sont deux types de colorants se fixant aux organelles cellulaires. Ainsi, le pathologiste peut définir la stéatose selon deux approches. La première consiste à compter le nombre d'hépatocytes contenant des gouttelettes lipidiques dans l'échantillon, et ainsi établir un pourcentage relatif des cellules atteintes par rapport à l'ensemble des cellules. La sensibilité de cette quantification peut atteindre jusqu'à 5 % si le pathologiste y met le maximum de précision. Bien entendu, au strict point de vue des besoins cliniques, il est inutile de se préoccuper d'un tel niveau de précision, et il est très courant que le pathologiste utilise quatre pourcentages approximatifs de stéatose seulement, soit 25, 50, 75 ou 100 %. La deuxième approche consiste à établir le pourcentage de l'espace occupé par les gouttelettes lipidiques en surface ou en volume, ce qui tient compte de la quantité de gras présente au lieu du nombre de cellules parenchymateuses atteintes. Les deux approches seront considérées dans ce projet.

Toutefois, il est insuffisant de diagnostiquer une stéatose seulement par le biais d'une quantification de graisse. L'aspect qualitatif de la stéatose doit aussi être pris en considération, surtout lorsque survient le deuxième coup, soit la stéatohépatite. Les lipides accumulés dans les hépatocytes déclenchent une inflammation et plusieurs phénomènes visibles au microscope apparaissent. Toujours dans un souci hiérarchique, le pathologiste utilise une échelle de gradation et de stadification pour classer la sévérité de la stéatohépatite. Dans le cas de la SHNA, l'échelle de Brunt est utilisée (Brunt *et al.*, 1999). Bien que d'autres systèmes de classification existent, cette échelle fait actuellement consensus auprès des hépatologues et des pathologistes du milieu médical. Cette échelle consiste en un système de classement qui prend en considération la quantité de lipides, l'inflammation et les indices biologiques qui sont présents lorsque l'échantillon est analysé. Les tableaux I et II dressent le portrait de ce système de classification. L'échelle de Brunt repose sur deux types de classification. Le premier type de classification consiste au degré de nécroinflammation (Tableau I), qui regroupe les facteurs de l'aspect anormal des hépatocytes et de leur gonflement, du type vésiculaire de stéatose (macro/micro vésiculaire) ainsi que l'inflammation associée à la présence accrue de triglycérides. Le degré de nécroinflammation comprend trois niveaux. Le deuxième type de classification consiste à la stadification de la stéatose

(Tableau II), qui se traduit par l'évolution de la fibrose résultant de l'inflammation soutenue du parenchyme. Ce deuxième type se subdivise en quatre échelons.

Tableau I : Gradation de la nécroinflammation de la SHNA selon l'échelle de Brunt (Brunt *et al.*, 1999)

Faible, grade 1	Stéatose principalement microvésiculaire présente dans plus de 66 % du tissu prélevé par biopsie; présence occasionnelle d'hépatocytes gonflés dans la zone 3; concentration dispersée de lymphocytes polymorphonucléaires (PMN) intra acinaires.
Modérée, grade 2	Stéatose de n'importe quel degré; gonflement évident des hépatocytes dans la zone 3; lymphocytes PMN intra acinaires pouvant être associés à de la fibrose péricellulaire en zone 3; inflammation chronique portale et intra acinaire observable, faible à modérée.
Sévère, grade 3	Stéatose panacinaire; gonflement et anomalie évidente des hépatocytes, principalement en zone 3; inflammation intra acinaire observable par des lymphocytes associés à des hépatocytes gonflés avec faible inflammation chronique et des lymphocytes PMN désordonnés; inflammation chronique portale faible à modérée, mais non marquée.

Tableau II : Stadification de la stéatose selon l'échelle de Brunt (Brunt *et al.*, 1999)

Stade 1	Fibrose périsinusoïdale/péricellulaire de zone 3 présente localement ou de façon extensive.
Stade 2	Fibrose périsinusoïdale/péricellulaire de zone 3 avec fibrose périportale présente localement ou de façon extensive.
Stade 3	Fibrose périsinusoïdale/péricellulaire de zone 3 avec fibrose périportale formant des septa présente localement ou de façon extensive.
Stade 4	Cirrhose.

1.2.2. Pathogenèse

La stéatose hépatique se produit à la suite d'un déséquilibre du mécanisme de maintien des triglycérides à l'intérieur du foie et dans la circulation sanguine, favorisant l'accumulation de graisse dans les hépatocytes. Ce déséquilibre est déclenché à la suite d'une cascade d'événements dans le métabolisme des acides gras à l'intérieur des hépatocytes. Cette section passera en revue l'essentiel de ces mécanismes afin de faciliter la compréhension des principaux agents biochimiques responsables de cette pathologie.

Beaucoup de recherches en cours tentent de déterminer les causes exactes de la stéatose hépatique. La tâche est compliquée, car la stéatose est souvent elle-même un symptôme découlant d'une autre pathologie. Ainsi, plusieurs mécanismes pathologiques sont identiques à ceux associés à des maladies plus connues. Cependant, les spécialistes s'accordent pour dire que deux d'entre eux sont cruciaux dans le déclenchement d'une stéatose : le diabète et l'obésité. Alors que le diabète repose sur une carence d'insuline, l'obésité est associée au rôle que tiennent les adipocytes dans la régulation de leur propre production. En conséquence, il est important aujourd'hui de considérer les adipocytes (surtout ceux situés dans la graisse méésentérique) comme des cellules graisseuses endocrines qui régissent les voies métaboliques (via la voie autocrine) plutôt qu'une simple cible métabolique. En effet, la cellule est capable de synthétiser des hormones qui auront une très

importante influence sur l'équilibre lipidique hépatique (Neuschwander-Tetri et Caldwell, 2003).

Un autre élément dont il est très important de tenir compte est le fait que les manifestations histopathologiques d'une stéatopathie sont les mêmes, peu importe l'origine alcoolique ou non alcoolique de la maladie. Les dérèglements en matière de métabolisme selon la prise ou non d'alcool vont donc partager des mécanismes communs pour aboutir à la similarité de caractéristiques visibles lors de l'analyse histopathologique (Day, 2002).

Avant de discuter plus en détail des différents types de stéatose, il importe de résumer le rôle de l'insuline dans le diabète et l'obésité, deux maladies dont la prévalence, au fil des décennies, s'est accrue de manière foudroyante dans la population occidentale. La Figure 7 ci-dessous, représentant un schéma des voies métaboliques impliquées dans le déclenchement de la stéatohépatite, sert de référence pour mieux comprendre les étapes évolutives de la maladie.

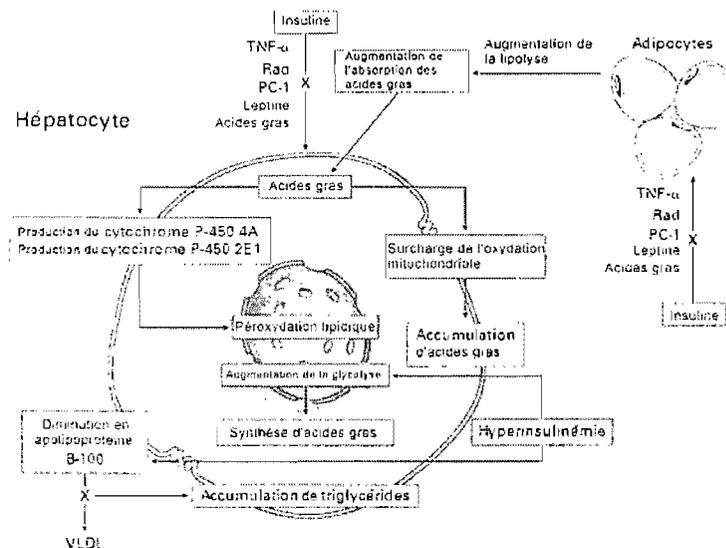


Figure 7 : Principales voies métaboliques impliquées dans la stéatohépatite. La résistance à l'insuline provoque une plus grande absorption des acides gras exogènes et une plus grande production d'acides gras endogènes (premier coup), conduisant au deuxième coup, la peroxydation lipidique (Angulo, 2002).

1.2.2.1. La résistance à l'insuline : le premier coup

L'insuline est une hormone sécrétée par le pancréas qui contrôle la glycémie. Dans le cas du diabète, l'insuline est l'agent causal de la maladie, soit par une production déficiente du pancréas, soit par un déficit du nombre de ses récepteurs : ces derniers ne peuvent plus recevoir le message hormonal adéquatement. Deux grandes classes de diabète existent donc cliniquement. Le diabète de type 1 ou diabète juvénile est provoqué par la réaction auto-immune qui vise la cellule bêta ou Langerhans du pancréas, cellules qui fabriquent l'insuline. Il y a donc absence totale de l'hormone chez le malade. Ce type de diabète peut apparaître entre l'âge de quelques mois et 35 ans, d'où son appellation de diabète juvénile. Son pic d'apparition survient à la puberté. Le diabète de type 2, aussi appelé diabète sucré ou diabète *mellitus*, quant à lui, est de loin le plus répandu. La malnutrition, l'obésité et des prédispositions d'ordre génétique en sont les principales causes. Le diabète de type 2 est donc celui dont il sera question lorsqu'on parlera de stéatose. De manière plus précise, l'insuline est responsable du « premier coup » du syndrome stéatopathique, causant une importante élévation des niveaux d'acides gras et de triglycérides dans les tissus adipeux, de même que dans le tissu hépatique (McCullough, 2006).

En fait, bien peu d'éléments sont connus quant à la chaîne d'événements qui mène du stade d'accumulation de graisse (stéatose simple) à celui de stéatohépatite, quoique les cas d'hyperinsulinémie sont omniprésents (Agarwal et Sharma, 2005). L'insuline joue un rôle majeur dans l'absorption et le métabolisme des lipides dans le foie. Elle régule au minimum neuf voies métaboliques postréceptrices (en aval du récepteur cellulaire de l'insuline). Il semblerait que ce soit une suractivation d'une de ces voies qui soit la cause du dérèglement plutôt qu'une malformation du récepteur. Cette hypothèse n'a pas encore été confirmée avec certitude (Neuschwander-Tetri et Caldwell, 2003). La phosphorylation de la tyrosine kinase est la cible de l'insuline. Une modification du site de phosphorylation par un défaut de synthèse du récepteur cause la résistance. La tyrosine est remplacée par une sérine au niveau du site de phosphorylation de l'enzyme, ce qui bloque la voie de signalisation intracellulaire permettant aux récepteurs-canaux GLUT4, spécialisés dans la captation de glucose, de le faire pénétrer dans la cellule (McCullough, 2006). L'insuline a comme deuxième cible le tissu adipeux qui, sous son action, provoque la lipolyse des lipides et une

synthèse *de novo* d'acides gras libres dans le foie. Ces acides gras libres, en trop grande concentration, iront déclencher la cascade enzymatique causant la défaillance de la cascade GLUT4 expliquée précédemment (Te Slighte *et al.*, 2004). Le système de synthèse et de dégradation de lipides entre le foie et le tissu adipeux devient vite surchargé, et le foie ne peut plus se débarrasser des acides gras qu'il fabrique. Ces acides gras en excès dans les hépatocytes seront responsables du « deuxième coup », le stress oxydatif.

1.2.2.2. L'abus d'alcool : une autre forme de premier coup

Un autre facteur d'ordre alimentaire, en plus de l'obésité, entre en ligne de compte dans le développement de la stéatose. Il s'agit de l'alcool. La découverte de cet agent pathologique a été effectuée en 1963 par Di Luzio, qui a démontré qu'en injectant des antioxydants à des rats intoxiqués à l'éthanol, la stéatose disparaissait (Sergent *et al.*, 2001). Là encore, il y a un déséquilibre entre les activités métaboliques oxydatives et réductrices (dans l'optique de paier les électrons libres afin de diminuer la très forte réactivité des espèces chimiques). Dans le foie, le métabolisme alcoolique est régi par deux éléments. L'alcool déshydrogénase (ADH) est responsable des réactions de réduction des agents oxydants. À l'opposé, l'oxydation est effectuée par le système d'oxydation microsomial de l'éthanol (SOME), situé dans le réticulum endoplasmique des cellules, dans lequel se trouve un enzyme clé, le cytochrome P450 2E1 (CYP2E1), qui produit les agents oxydants (Lieber, 2004).

Ainsi, l'abus d'alcool perturbe le métabolisme normal dans trois endroits de la cellule, à savoir la mitochondrie, le réticulum endoplasmique (SOME) et le cytosol de l'hépatocyte (Figure 8). Dans ce dernier, l'éthanol induit la transformation de l'enzyme xanthine déshydrogénase (XD) en xanthine oxydase (XO), ce qui augmente la synthèse d'espèces activées de l'oxygène (EAO). De plus, l'éthanol favorise la production de NADH, ce qui va perturber la voie de respiration mitochondriale et encore une fois causer la production accrue d'EAO (cette fois par une libération importante d'électrons à la suite d'une détérioration de la membrane mitochondriale). Finalement, dans le réticulum endoplasmique, le CYP2E1 participera de façon marquée à la peroxydation lipidique, phénomène expliqué en détail dans la section suivante.

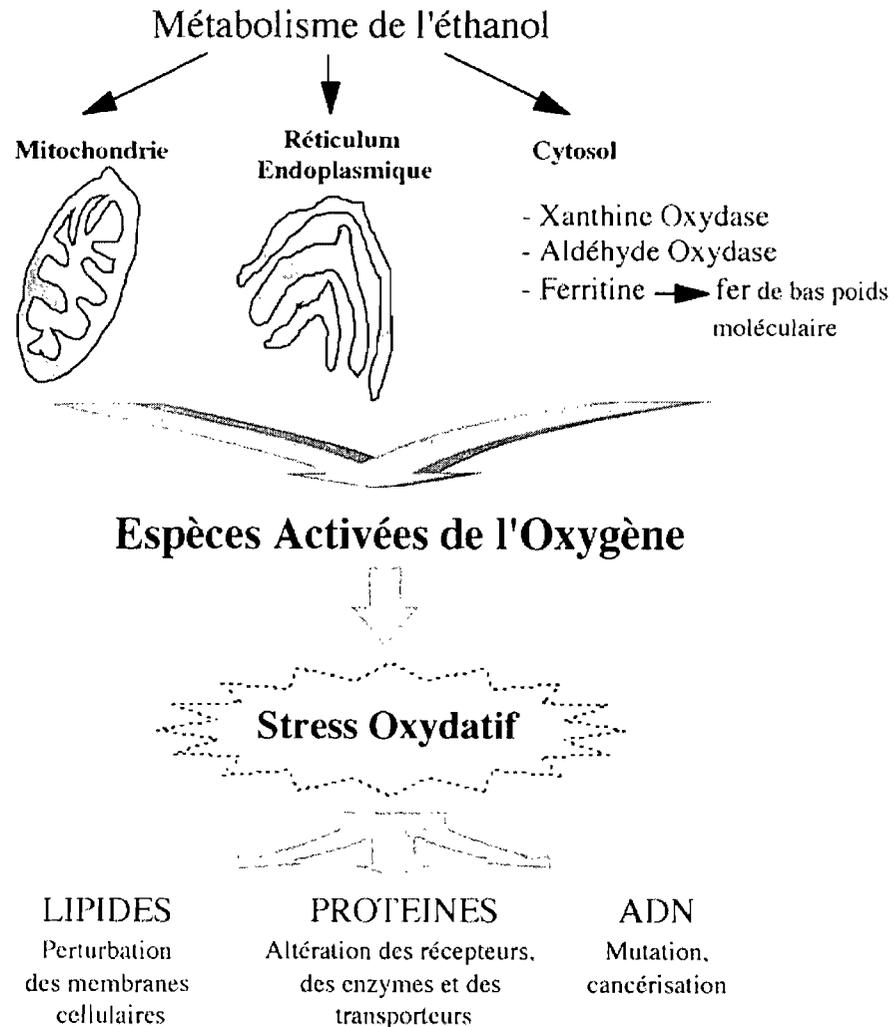


Figure 8 : Schéma du dérèglement métabolique découlant de l'abus d'alcool. Trois endroits de la cellule sont visés : la mitochondrie, le réticulum endoplasmique et le cytosol. Le fer de bas poids moléculaire est de type Fe^{2+} ou Fe^{3+} , mais sans que ce dernier ne soit lié à des transferrines ou ferritines (protéines de transport) (Sergent *et al.*, 2001).

1.2.2.3. La lipotoxicité : le deuxième coup

La trop grande quantité d'acides gras dans la cellule hépatique induit le phénomène de lipotoxicité. Les lipides, qui en situation normale servent de combustible à la cellule, deviennent soudainement des agents nocifs qui, en fin de compte, causeront la destruction de l'hépatocyte. Cette destruction s'effectue par un phénomène qui se nomme la peroxydation lipidique, un stress oxydatif produisant une grande quantité d'EAO qui causent des réactions d'oxydoréduction incomplètes. Aussi appelé stress oxydant, il y a un déséquilibre

entre les molécules oxydantes (en excès) et les agents antioxydants, favorisant ainsi la destruction progressive des structures lipidiques (membranes), des protéines cellulaires (facteurs de croissance, enzymes) et de l'acide désoxyribonucléique (ADN), causant des mutations et des risques de cancérisation. Cette réaction se fait en quelques nanosecondes par des agents oxydants extrêmement instables tels le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion hyperoxyde (O_2^-) et l'hydroxyle radicalaire ($\cdot OH$) (Sergent *et al.*, 2001).

Dans le cas de la peroxydation lipidique, les radicaux libres (dont les origines seront analysées dans les paragraphes suivants) attaqueront les chaînes d'acides gras polyinsaturés des lipides pour former des molécules d'hydroperoxydes diéniques conjugués (Figure 9). Ces EAO iront à leur tour attaquer des chaînes d'acides gras polyinsaturés créant un cercle vicieux, où les EAO augmentent de façon accélérée (Dotan *et al.*, 2004).

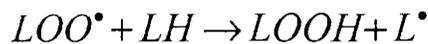
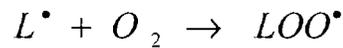
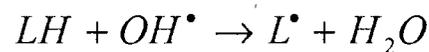


Figure 9 : Réactions de la peroxydation lipidique, principal facteur de l'inflammation hépatique. Les lipides (LH) réagissent avec l'hydroxyle radicalaire (OH^\bullet) pour former des lipides radicalaires (L^\bullet) qui réagissent avec l'oxygène pour former des lipides peroxydés (LOOH).

Le principal endroit dans la cellule où se déclenche le phénomène de peroxydation lipidique est la mitochondrie. Les produits de la peroxydation vont altérer les molécules d'ADN et les protéines mitochondriales, ce qui aura de graves conséquences. La chaîne de respiration oxydative permettant à la cellule de générer des molécules d'adénosine triphosphate (ATP) sera hautement perturbée. De grandes quantités d'EAO seront relâchées, contribuant ainsi au cercle vicieux de destruction des cellules (Day, 2002).

Cette destruction cellulaire est régie par l'entremise de deux sous-produits de la peroxydation lipidique, soit le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (HNÉ). Ces deux molécules causent la production de protéines modifiées, formant les corps de Mallory facilement identifiables au microscope. Elles activent également les cellules stellaires syn-

thétisant le collagène. L'HNE, par chimiotaxie, attire les neutrophiles et déclenche l'inflammation. Les EAO vont quant à elles produire les cytokines interleukine-8 (IL-8) et le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α), ainsi que le facteur de transcription appelé facteur de croissance transformant β (TGF- β), ces deux dernières molécules étant des médiateurs de l'apoptose via l'activation de caspases. TGF- β possède également les mêmes caractéristiques que les deux sous-produits de la peroxydation lipidique mentionnés auparavant. TNF- α agira également de façon proactive sur la production d'EAO, tel qu'expliqué au paragraphe précédent. Finalement, l'IL-8 agira comme déclencheur de l'inflammation en stimulant les neutrophiles du tissu hépatique et sanguin (Angulo, 2002). La fibrose, quant à elle, est déclenchée par des mécanismes peu connus jusqu'à maintenant (Day, 2002).

1.2.2.4. L'obésité

Très fortement liée à la résistance à l'insuline, l'obésité est un facteur prépondérant associé au déclenchement d'une stéatose. Deux paramètres définissant l'obésité corréleront fortement avec la stéatopathie, soit l'indice de masse corporelle (IMC) et la distribution abdominale du gras. Ce dernier élément se mesure facilement avec le tour de taille, paramètre étroitement relié à la quantité de graisse viscérale. Ce sont les adipocytes composant cette graisse qui sont majoritairement la cause de la résistance à l'insuline, tel qu'expliqué auparavant. Les acides gras de la région abdominale sont plus rapidement métabolisés que les acides gras périphériques, et de plus, ils sont drainés directement dans la veine porte hépatique. Les chirurgies qui pratiquent l'ablation de la graisse viscérale parviennent la plupart du temps à enrayer le phénomène de résistance à l'insuline (Scheen et Luyckx, 2002).

En résumé, la stéatose hépatique se développe selon deux étapes bien distinctes. La première est l'accumulation d'acides gras dans le foie à la suite d'une résistance à l'insuline. Cette trop grande quantité de graisse dans le foie déclenchera une cascade de réactions d'oxydoréduction incomplètes qui mènera graduellement à une inflammation soutenue du tissu et en fin de compte, à la mort des hépatocytes. C'est la deuxième phase, celle de la stéatohépatite. Le principal mécanisme biochimique à l'origine de cette mort cellulaire est la peroxydation lipidique.

1.2.3. La méthode de prélèvement du tissu : la biopsie

Afin de pratiquer une analyse d'histopathologie sur le tissu, il faut pouvoir le prélever selon une technique bien répandue dans le milieu médical : il s'agit de la biopsie.

La stéatose demeure une maladie sournoise puisque dans plus de la moitié des cas, elle ne présente aucun symptôme perceptible à part une hépatomégalie (Angulo, 2002; Te Sligte *et al.*, 2004; Zafrani, 2004). Il faut donc pouvoir prélever un échantillon de tissu pour établir un diagnostic par analyse d'histopathologie. La première utilisation de la biopsie est rapportée pour la première fois en 1923 (biopsie percutanée). Son utilisation a littéralement explosé durant les cinquante dernières années à cause de son très faible taux de mortalité (0,01 à 0,17 %) et sa procédure simple à exécuter (Grant et Neuberger, 1999). Sans elle, il est très difficile de pouvoir établir un pronostic pour le patient, puisqu'il n'y a pas de corrélations trouvées à ce jour entre les résultats histologiques et les analyses biochimiques anormales (Angulo, 2002; Te Sligte *et al.*, 2004; Zafrani, 2004).

Le type de biopsie le plus répandu est la biopsie transcutanée. Elle peut s'effectuer sans méthode d'appoint (par palpation de l'organe) ou avec l'aide, la plupart du temps, de méthodes d'imagerie (biopsie guidée par ultrasons, par tomographie par ordinateur ou par IRM). L'utilisation de méthodes d'imagerie permet de mieux cibler le site d'entrée et d'éviter de ponctionner d'autres organes. Le site d'entrée de la biopsie peut varier, mais habituellement le trocart est inséré entre deux côtes. Le patient est couché sur le dos et est anesthésié localement. Une petite incision est pratiquée, le patient retient ensuite sa respiration, et le trocart est introduit dans la plaie. D'autres méthodes de biopsie existent, comme la biopsie transjugulaire. Cette méthode élimine le risque de saignements chez les personnes qui ont un désordre de coagulation. Elle est donc plus rarement employée. Un cathéter inséré dans la veine jugulaire est descendu jusque dans la veine hépatique. Le cathéter contient l'aiguille biopsique qui servira, une fois le cathéter rendu à destination, à prélever l'échantillon de tissu. Finalement, lorsque la méthode transjugulaire n'est pas disponible, la méthode par laparoscopie est utilisée. Encore une fois, ce type de biopsie est pratiqué surtout chez les patients ayant des défauts de coagulation sanguine (Grant et Neuberger, 1999).

1.2.4. Les autres méthodes de diagnostic

Il existe d'autres méthodes de détection pour diagnostiquer une stéatose hépatique. Bien que considérées comme étant moins fiables que la biopsie, elles possèdent un grand avantage : le patient n'est pas incommodé par le caractère invasif de la technique. Issus du domaine de l'imagerie radiologique, trois outils non invasifs sont ainsi utilisés, selon divers degrés et parfois combinés, pour mesurer l'intensité de la stéatose dans le tissu. Il s'agit de l'échographie, de la tomодensitométrie (TDM) et de l'imagerie par résonance magnétique (IRM).

L'échographie est de loin la méthode la plus utilisée des trois procédés. Elle possède en effet un avantage indéniable : son faible coût. La sensibilité de l'échographie permet de déceler un pourcentage de graisse hépatique minimal évalué entre 15 et 20 %. La caractéristique principale d'un foie stéatosé à l'échographie est l'hyperéchogénicité du parenchyme. Les dépôts de graisses au sein des cellules entraînent une augmentation des surfaces de réflexion et de réfraction des échos sonores, ce qui produit une image dont l'intensité est élevée (donc plus pâle). Cette intensité est difficilement détectable à l'œil nu et l'utilisation d'algorithmes de traitements d'images permet un calcul plus précis des données. Avec cette méthode, la valeur prédictive positive se situe entre 87 et 94 % (Lupsor et Badea, 2005).

La TDM est utilisée avec ou sans agent de contraste pour détecter la stéatose. Dans les deux cas, il y a une atténuation de l'intensité des pixels formant le foie par rapport à ceux de la rate. Cette atténuation est accentuée avec l'aide d'un agent de contraste. Cependant, à cause de la grande variabilité possible de la durée entre le moment où l'agent est administré et l'acquisition des images, la majorité des examens de TDM se font sans agent de contraste. De plus, une relation directe existe entre la quantité de graisse et l'hypodensité du foie observée sur l'image, en l'absence de l'agent de contraste : pour chaque milligramme de triglycérides présent dans chaque gramme de tissu hépatique, il y a une baisse d'intensité évaluée à 1,6 unité Hounsfield. La TDM possède une valeur prédictive positive de 76 % lorsqu'un tiers de la masse du foie est constitué de graisse. La sensibilité de la technique est de 93 % dans ce cas. Malheureusement, le recours à la technique est redouté dans bon nombre de cas à cause des risques liés à l'irradiation, ainsi qu'à la grande

intervariabilité du diagnostic (le coefficient de concordance κ variant entre 0,40 et 0,43). Cette intervariabilité s'explique par la méthode de calibration de l'appareil, l'organe de référence choisi (la plupart du temps étant la rate) et l'étendue de la région d'intérêt pour la quantification (Saadeh *et al.*, 2002; Lupsor et Badea, 2005).

La dernière modalité d'imagerie radiologique, l'IRM, plus précisément l'imagerie double écho (IDÉ), sera expliquée en détail dans la prochaine section. Malgré son coût d'utilisation élevé, elle peut détecter des taux de graisse minimums de 19 %. Le coefficient de concordance démontre une intervariabilité beaucoup moins importante que pour les deux autres procédés (κ variant entre 0,78 et 0,82) (Saadeh *et al.*, 2002; Lupsor et Badea, 2005).

L'inconvénient majeur de ces trois techniques demeure leur incapacité à distinguer la stéatose simple de la stéatopathie alcoolique/non alcoolique. De plus, les trois modalités ne sont pas en mesure d'évaluer, contrairement à l'histopathologie, le degré de fibrose présent au sein du tissu.

1.3. La spectroscopie par résonance magnétique (SRM)

1.3.1. Historique de la résonance magnétique

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est devenue, surtout dans la deuxième portion du XX^e siècle, un outil absolument incontournable dans le diagnostic et le traitement d'un grand nombre de pathologies en médecine. En raison de son caractère fortement non invasif, elle dote le médecin d'un puissant moyen de détection avec un avantage majeur : conserver l'intégrité du tissu. Dans le domaine de la recherche, la RMN a mené directement à l'octroi de cinq prix Nobel (Geva, 2006). Et en 2002, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) figurait au quatorzième rang des vingt plus grands accomplissements d'ingénierie, liste créée par le Comité de l'Académie nationale d'ingénierie (Riederer, 2004).

Les bases de la RMN proviennent des travaux remarquables de quelques grands scientifiques qui ont vécu du XVIII^e jusqu'au XX^e siècle. Aujourd'hui, avec chaque image synthétisée par un appareil, la transformée de Fourier, nommée ainsi en l'honneur de son

créateur Jean Baptiste Joseph Fourier (1768-1830), est l'outil mathématique indispensable pour convertir le signal d'ondes électromagnétiques en un signal digital formant une matrice de pixels. Ainsi, toute la reconstruction de spectres et d'images repose sur cet outil. La transformée de Fourier a été utilisée une première fois pour la génération d'images par Richard Ernst en 1975 et depuis, elle est utilisée dans tous les appareils d'IRM. Un autre grand scientifique, Nikola Tesla (1856-1943), a découvert la propriété conductrice de la Terre en conceptualisant les ondes stationnaires terrestres magnétiques. Ainsi, le champ magnétique terrestre engendre les propriétés magnétiques de tous les objets qui se trouvent à sa surface en induisant une fréquence ondulatoire donnée, soit la fréquence magnétique naturelle. Un troisième scientifique d'importance, Sir Joseph Larmor (1857-1942), a conceptualisé la relation entre la fréquence de rotation du noyau et son taux d'absorption de l'énergie (Geva, 2006). Ce concept primordial a donné lieu à l'équation de Larmor qui sera vue en détail dans la prochaine section. Finalement, la découverte du spin provient des travaux de Walter Gerlach (1889-1979) et Otto Stern (1888-1969). Ils ont publié en 1924 une expérience dans laquelle les moments magnétiques de spin d'atomes d'argent, lorsque soumis à un champ magnétique non homogène, avaient tendance à agir selon les lois de la mécanique quantique en causant une déflexion d'un rayon moléculaire.

Ces découvertes ont servi de base pour en arriver à créer concrètement le signal de RMN proprement dit. Les travaux de Félix Bloch et Edward Mills Purcell, en 1946, ont permis, à partir de l'équation de Larmor, de démontrer qu'un noyau atomique, soumis à une onde radio fréquentielle précise, va émettre de l'énergie dans le but d'induire un signal dans une antenne réceptrice. Ces travaux leur ont valu le prix Nobel de physique en 1952. Finalement, en 1973, Paul C. Lauterbur et Peter Mansfield ont appliqué cette découverte pour en arriver à synthétiser des images. Le concept d'imagerie par résonance magnétique (IRM) était né. Lauterbur eut l'idée d'appliquer un gradient magnétique dans les trois plans de l'espace pour former une image, alors que Mansfield a décrit en détail l'utilisation de gradients pour affiner la résolution des images issues de la RMN. Ainsi, pour avoir inventé le concept de localisation spatiale du signal RMN, ils ont reçu le prix Nobel de médecine en 2003. L'utilisation de la transformée de Fourier pour convertir en fréquence le signal de résonance pour former les images est attribuable à Richard Ernst en 1975. Ses travaux permirent de mettre sur pied une méthode de reconstruction autonome, utilisant uniquement le

signal RMN plutôt que de recourir à la reconstruction tomographique comme Lauterbur et Mansfield. Aujourd'hui, ces deux avancées scientifiques se complètent et permettent de former des images de grande qualité (Geva, 2006).

1.3.2. Les principes physiques de la résonance magnétique

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est surtout utilisée en radiologie pour synthétiser des images qui seront analysées afin d'établir un diagnostic clinique. Aujourd'hui, le terme d'imagerie par résonance magnétique (IRM) a remplacé le terme RMN afin d'illustrer cette tendance. Cependant, une autre application, dérivée de la RMN, est en train d'être abondamment étudiée dans de multiples domaines de recherche. Cette technique s'appelle la spectroscopie par résonance magnétique (SRM). Avant de parler des principes théoriques de la SRM proprement dite, il est nécessaire de se pencher sur les notions physiques qui sont communes à la fois à l'IRM et à la SRM. En effet, les deux techniques utilisent un seul et même signal, le champ magnétique émis par les protons qui résonnent à une même fréquence. L'IRM permet d'obtenir l'information morphologique et anatomique du corps, alors que la SRM extrait l'information sur les types de molécules chimiques présentes au sein d'un tissu ainsi que leur quantité.

1.3.2.1. La source du signal

L'atome le plus abondant dans le corps humain est sans contredit l'hydrogène dont le noyau est constitué d'un seul proton. Ce proton est la source principale du signal capté par l'appareil d'IRM et il émet un signal RMN intense comparé aux autres atomes. De plus, il est présent à la fois dans l'eau et le gras composant le corps humain.

Selon la théorie quantique classique, l'atome d'hydrogène possède un spin de $\frac{1}{2}$ *i.e.* qu'il est comme un aimant décrivant un mouvement de rotation très rapide sur lui-même. Les noyaux ne possèdent un spin que s'ils sont constitués d'un nombre impair de protons ou de neutrons (ce qui est le cas de l'hydrogène). Autrement dit, lorsque le numéro (nombre de protons) et/ou la masse atomiques (somme des protons et neutrons) d'un élément chimique sont pairs, il n'y a aucun champ magnétique qui existe. Son numéro quantique de spin I

est donc nul. Lorsque le numéro et/ou la masse atomiques sont impairs, le noyau est magnétique et possèdera donc un spin ($I = \pm \frac{1}{2}$ dans le cas de l'hydrogène).

Le moment magnétique de spin, symbolisé par la lettre grecque μ est un vecteur puisqu'il possède à la fois une amplitude et une direction (Figure 10). Ces deux propriétés sont influencées à la fois par le noyau lui-même et son environnement immédiat. Cette importante notion sera détaillée dans la section portant sur la SRM, car elle est primordiale dans la discrimination du signal.

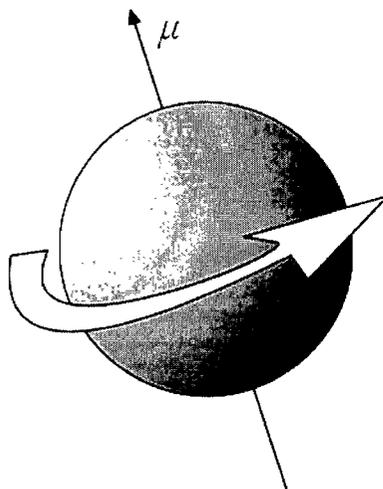


Figure 10 : Représentation classique d'un dipôle. Le moment magnétique de spin μ est un vecteur qui possède une direction et une magnitude. Le dipôle tourne autour de cet axe.

1.3.2.2. La précession

Afin d'illustrer les lois physiques qui régissent la RMN, il est nécessaire d'expliquer l'équation qui constitue la base du signal. Cette équation est celle de la fréquence de Larmor, soit la fréquence à laquelle un proton émettra un signal magnétique sous l'influence d'un champ magnétique principal (représenté par le symbole B_0). L'annexe 1 décrit en détail la dérivation de cette équation, en plus de fournir des détails sur la physique qui justifie l'emploi de cette équation.

La Figure 11 représente la relation existant entre le champ magnétique et le dipôle. En fait, il faut considérer le mouvement rotatoire du dipôle comme celui qu'effectue une

toupie autour de son axe. Le spin tourne sur lui-même selon un axe μ , le moment magnétique. Cet axe μ , lorsqu'il est influencé par un autre champ, le champ magnétique principal B_0 , se met lui aussi à tourner en décrivant une trajectoire conique autour de l'axe B_0 . Ce mouvement conique est appelé *précession*. La précession est donc le résultat du produit vectoriel entre le champ magnétique principal B_0 et le moment magnétique du dipôle μ ($F = \mu \times B$). La vitesse de rotation du dipôle tournant autour du vecteur du champ magnétique principal B_0 est représentée par la vitesse angulaire ω , aussi appelée *fréquence de Larmor*, qui s'exprime en radians par seconde (rad s^{-1}). Cette fréquence sera directement influencée par le champ magnétique externe auquel est appliquée une constante, le facteur gyromagnétique γ . Ce facteur est propre à chaque noyau magnétique.

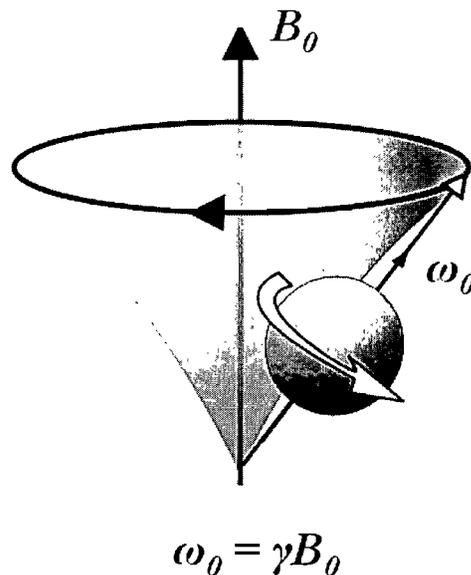


Figure 11 : La précession. Le dipôle tourne sur lui-même selon un moment magnétique μ . Sous l'influence du champ magnétique principal B_0 , le dipôle effectuera un mouvement conique autour de l'axe B_0 . Ce mouvement conique aura une vitesse angulaire ω_0 , aussi appelée *fréquence de Larmor*, s'exprimant en radians par seconde (rad s^{-1}).

Ainsi, chaque type de dipôle possède une fréquence intrinsèque qui caractérise sa rotation dans le champ magnétique principal. Cette fréquence est à la base du signal qui sera décodé par l'appareil. Par contre, ce dernier captera le signal qui est émis par l'ensemble des dipôles. Selon l'Annexe 1, l'atome d'hydrogène, à cause de son numéro quantique de spin I , peut uniquement se trouver sur deux niveaux d'énergie, soit $\pm \frac{1}{2}$.

Concrètement, les spins vont s'aligner de deux façons dans le champ B_0 , soit de façon parallèle (*spin-up*) ou anti parallèle (*spin-down*). L'état *spin-up* a une énergie moindre que l'état *spin-down*. Plus de dipôles auront donc tendance à s'aligner selon un axe $+z$ (donc parallèle ou dans le même sens) que l'axe B_0 . Cette tendance est régie par la *loi de Boltzmann*, telle qu'illustrée dans la Figure 12.

LA LOI DE BOLTZMANN

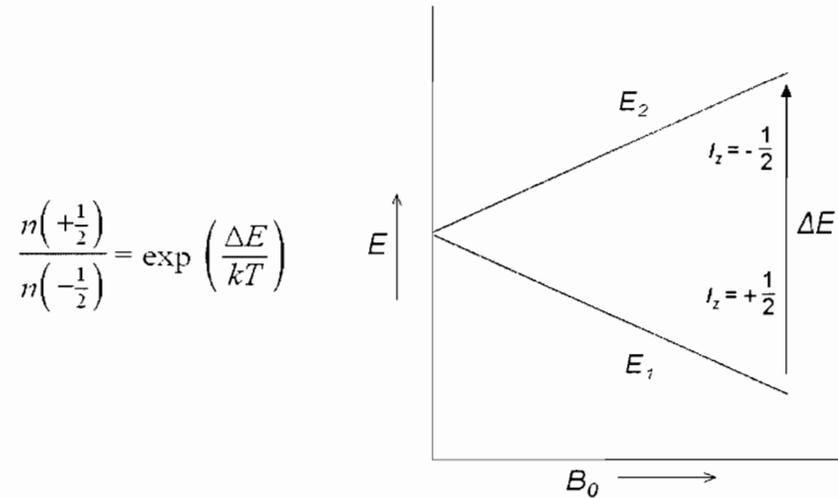


Figure 12 : La loi de Boltzmann régit la distribution des populations de spin dans les niveaux énergétiques. Le graphe illustre la variation de l'énergie des niveaux de spin avec le champ magnétique principal B_0 . Dans l'équation, n signifie la population de spins à un niveau d'énergie donné ($\pm \frac{1}{2}$), k est la constante de Boltzmann, T est la température absolue exprimée en degrés Kelvin et ΔE est la différence d'énergie entre les deux états d'énergie, soit les moments magnétiques de spin I_z .

Dans la Figure 12, l'équation est composée de trois facteurs : la densité des spins (n), la force du champ magnétique externe (représentée par ΔE) et la température du milieu dans lequel les spins vont évoluer. En fait, le signal capté par un appareil de RM résulte de la magnétisation globale de l'excédent de spins qui seront dans un état *spin-up* d'énergie moindre (voir Figure 13). À cause des milliards de protons dans le corps humain, cet excédent est considérable et amplifie l'intensité de la magnétisation.

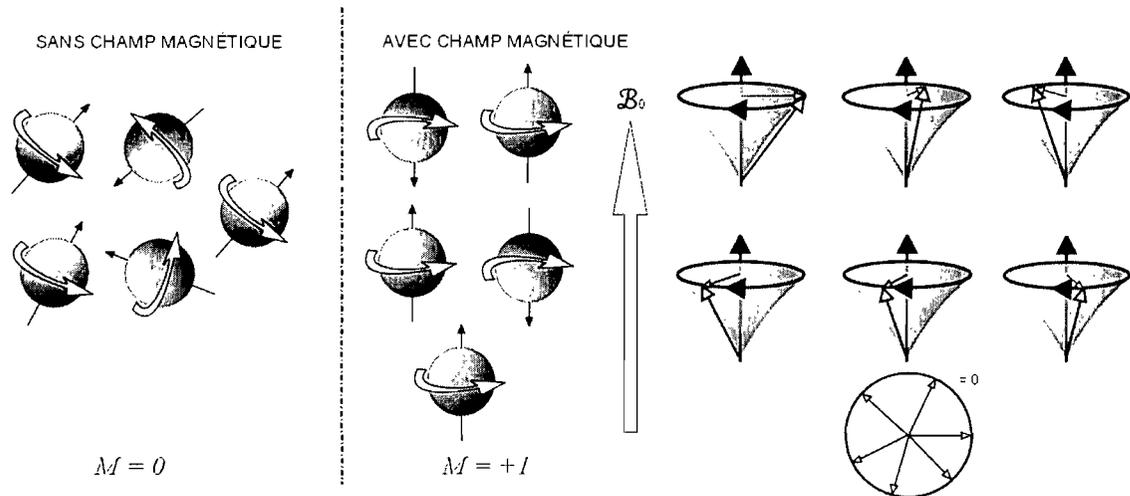


Figure 13 : Sans champ magnétique externe B_0 , les dipôles ne sont pas alignés et sont disposés aléatoirement dans l'espace. La magnétisation survient lorsque les dipôles sont alignés dans un champ magnétique externe B_0 . Elle résulte d'une tendance nette où un plus grand nombre de dipôles vont s'aligner dans le sens parallèle ($+ \frac{1}{2}$) plutôt que l'inverse. La très grande densité en protons dans le corps humain, surtout dans la molécule d'eau, causera une amplification du phénomène qui est facilement mesurable par l'appareil. La figure de droite illustre la phase aléatoire de six dipôles lorsqu'il y a absence d'excitation par radio-fréquence.

1.3.2.3. L'origine du signal : la résonance

Le signal ne peut exister que si un nouveau champ magnétique, symbolisé par le paramètre B_1 , entre en jeu. Le champ magnétique externe global prendra alors une nouvelle allure, représentée par l'équation vectorielle:

$$\vec{B} = \vec{B}_0 + \vec{B}_1 \quad (\text{Équation 1})$$

Dans l'équation, le vecteur \vec{B} représente l'interaction entre le champ magnétique externe \vec{B}_0 et un nouveau champ \vec{B}_1 . Ce champ est une onde radio fréquentielle (RF), aussi appelée impulsion RF, qui vient perturber l'équilibre entre le dipôle et le champ principal \vec{B}_0 . **Cette onde se doit d'avoir exactement la même fréquence que la fréquence ω_0 , soit la vitesse avec laquelle les protons tournent dans le champ \vec{B}_0 .** À ce moment, le dipôle va basculer

dans l'axe perpendiculaire au champ \vec{B}_1 . Dès que l'onde \vec{B}_1 cesse, le dipôle retourne à son état fondamental, donc il se repositionne dans l'axe \vec{B}_0 . Le signal se base sur les lois de l'électrodynamique. Il est donc constitué de la force (exprimée par le produit vectoriel entre le moment magnétique μ et le champ \vec{B}) qui cause le basculement du dipôle et la fréquence de Larmor. Ce phénomène se nomme la *résonance*.

Puisqu'il y a, lors de la résonance, une interaction sur le dipôle de deux champs magnétiques externes, soit un qui aligne les spins et un autre qui provoque leur basculement, la mécanique vectorielle permet d'expliquer le phénomène. Il est de mise de représenter alors le dipôle dans un plan vectoriel à trois dimensions. Dans son état d'origine, le spin sera aligné dans le *plan longitudinal*, alors que l'absorption d'énergie lors de l'émission du champ \vec{B}_1 provoquera un basculement dans un *plan transverse*. La Figure 14 illustre cette convention qui servira de base pour expliquer le comportement des spins en fonction de leur interaction avec les champs externes.

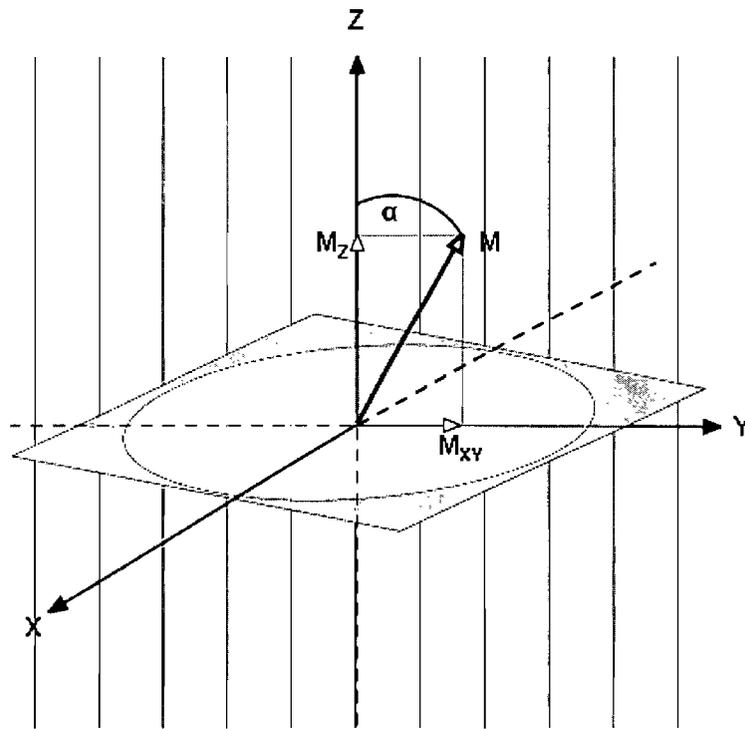


Figure 14 : Mécanique vectorielle du dipôle. Lorsque le spin est soumis à une force provenant du champ magnétique B_1 , son moment magnétique de spin μ se met à basculer dans un nouveau plan de l'espace, le plan transverse (XY). Le vecteur de magnétisation M peut alors être décomposé en deux composantes orthogonales, soit M_Z et M_{XY} . L'angle (α) que forme le vecteur M avec l'axe du plan longitudinal (YZ) se nomme angle de nutation.

Dans la Figure 14, le moment magnétique de spin μ , possédant une magnétisation M et aligné dans un champ magnétique externe \vec{B}_0 , est soumis à une nouvelle onde radio fréquentielle (onde RF) \vec{B}_1 . Cette onde provoquera le basculement du vecteur M dans un nouveau plan de l'espace qui est transversal ou XY . Ainsi, selon la durée et la force du champ \vec{B}_1 , le vecteur M s'orientera selon un plan transverse pendant un laps de temps bien défini.

Pour la séquence d'écho de spins, des ondes excitatrices sont utilisées pour déclencher le basculement du vecteur M . Ces ondes, dont la force et la durée diffèrent, sont qualifiées selon l'angle de nutation qu'elles provoquent. Ainsi, certaines ondes créeront un angle α de 90 degrés, alors que d'autres créeront un angle de nutation de 180 degrés. En analysant

ce qui se passe lorsque l'onde de champ \vec{B}_1 est appliquée, les composantes décrites dans la Figure 14 vont évoluer temporellement, comme illustré à la Figure 15, qui montre comment une onde RF de 90 degrés fait basculer le vecteur de magnétisation dans un laps de temps délimité.

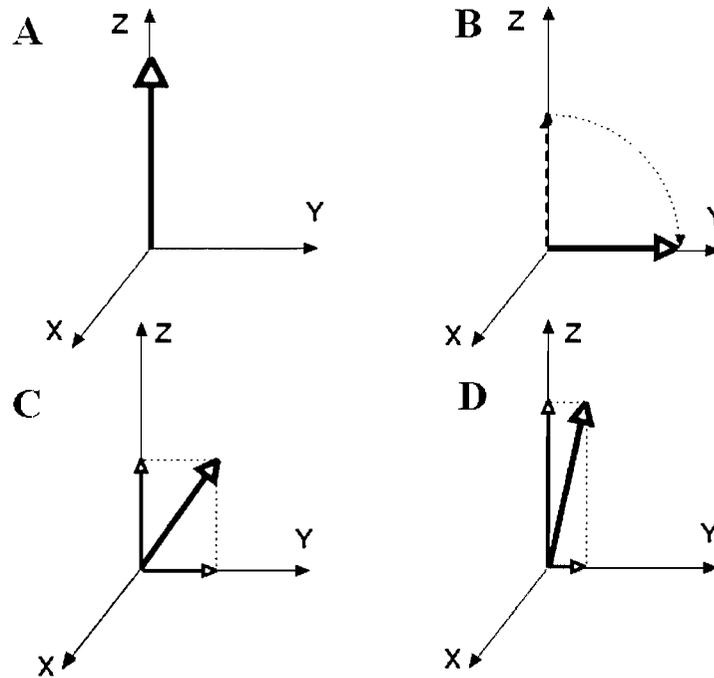


Figure 15 : Évolution temporelle du vecteur de magnétisation M lorsqu'il est soumis à une onde RF excitatrice de 90 degrés. En A, le vecteur M est à sa position d'origine et il y a absence de l'onde RF. En B, l'onde RF est émise dans la direction de l'axe x , ce qui cause le basculement complet du vecteur M dans le plan transverse XY . La composante orthogonale M_z est donc nulle et la composante $M_{XY} = M$. En C, tout juste après que l'onde RF cesse d'être appliquée, le vecteur M revient graduellement à son état d'origine dans le plan longitudinal YZ . En D, le vecteur M est presque revenu à son état initial. La composante $M_z \approx M$ et M_{XY} tend vers zéro.

Ainsi, une onde RF ou impulsion de 90 degrés va faire basculer le vecteur M de façon totalement parallèle au plan transverse, d'où l'égalité $M = M_{XY}$ et $M_z = 0$. Une autre impulsion, cette fois avec un angle de 180 degrés, causera un basculement du vecteur M dans le sens inverse du plan longitudinal. Dans ce cas, l'égalité $M = -M_z$ prévaut et $M_{XY} = 0$. La combinaison d'impulsions de 90 et 180 degrés, conjuguée à l'utilisation de paramètres

tel que le TR, le TE et le TI, permet de créer des séquences d'acquisition du signal qui vont générer le contraste permettant de cibler chaque type de molécules. Ces séquences seront vues en détail plus loin.

1.3.2.4. Le comportement du signal

La magnétisation transverse est dépendante de la durée et de la force de l'impulsion de radiofréquences. Le facteur déterminant qui joue un rôle dans la détection du signal est le temps que prend le vecteur de magnétisation pour retourner du plan transverse au plan longitudinal. Deux constantes temporelles entreront donc en ligne de compte. Le temps que prendra le vecteur de magnétisation M à revenir dans l'axe de rotation longitudinal (donc dans le plan YZ) se nomme temps de relaxation longitudinal (symbolisé par T_1 , aussi appelé temps de relaxation spin-réseau ou *spin-lattice*, en raison du transfert d'énergie du système de spins au réseau ou au milieu). La deuxième constante est le temps que prendra la magnétisation transverse (M_{XY}) à devenir nulle suite au déphasage complet des dipôles. Cette constante (symbolisée par T_2) se nomme temps de relaxation transverse ou *spin-spin*. En effet, de l'énergie sera en plus transmise entre chacun des spins, ce qui entraînera le déphasage des dipôles, et une perte drastique du signal. À noter que les constantes T_1 et T_2 sont indépendantes.

Graphiquement parlant, le signal se décrit de la façon suivante. En sachant que les spins vont entrer en résonance selon leur fréquence de Larmor, le cercle de rotation se décomposera en une onde sinusoïdale dont l'amplitude correspondra à la magnétisation transverse alors que le pas de l'onde correspondra à la fréquence de Larmor. Par contre, le signal sinusoïdal décroîtra très rapidement au fur et à mesure que les spins vont relaxer (c'est-à-dire se déphaser). L'allure de l'onde sinusoïdale va donc s'aplanir selon une courbe exponentielle. La combinaison entre l'onde sinusoïdale et le facteur d'atténuation exponentielle porte le nom de **signal de précession libre**, traduction française de *Free Induction Decay (FID)*. La Figure 16 illustre l'allure du FID après avoir été soumis à une impulsion excitatrice de 90 degrés.

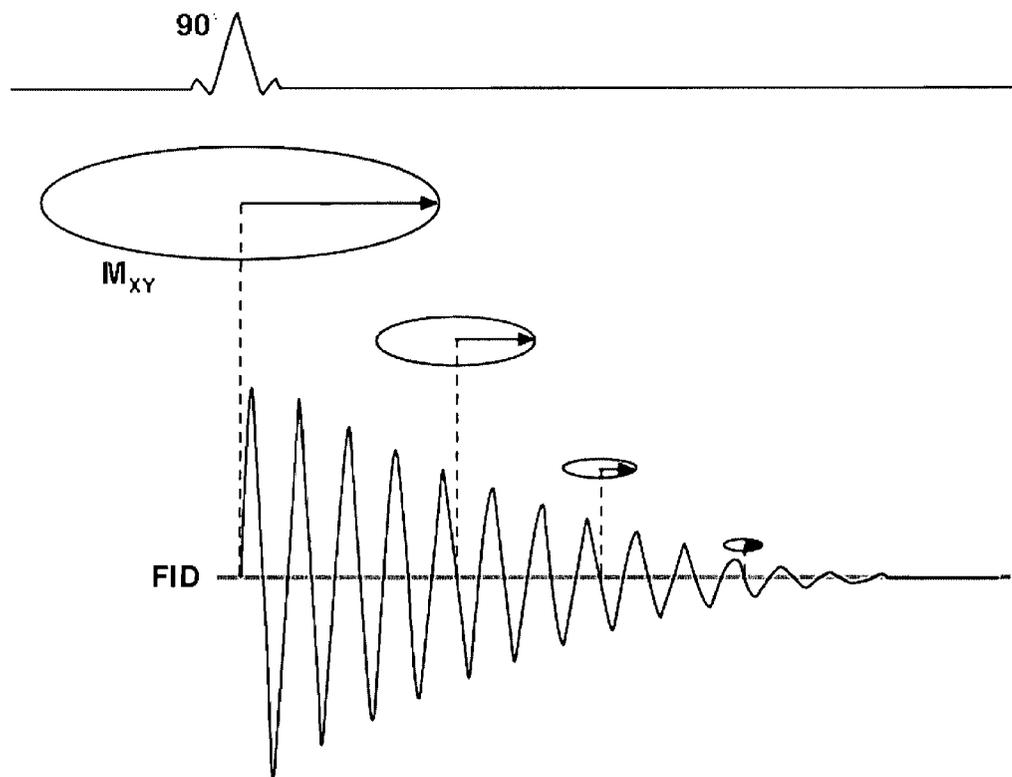


Figure 16 : Le signal de précession libre (*Free Induction Decay*) est une onde sinusoïdale s'estompant avec le temps selon une courbe exponentielle régie par T_2^* , le temps de relaxation spin-spin plus l'effet de l'inhomogénéité du champ magnétique externe. Le déphasage graduel des spins, aussi appelé effet *spin-spin*, cause la diminution très rapide de la magnétisation transverse (M_{XY}), ce qui entraîne une diminution de l'amplitude de l'onde sinusoïdale en fonction du temps s'écoulant après l'impulsion de 90 degrés.

Il serait logique de penser que le FID s'estompe selon la courbe exponentielle T_2 . Or, le signal sinusoïdal va très rapidement se dissiper selon un nouveau paramètre, une exponentielle décroissante T_2^* . Cette nouvelle constante reflète la double origine de la décroissance du signal. Premièrement, il existe un échange d'énergie entre les spins sur des molécules voisines, ce qui engendre la décroissance exponentielle de type T_2 . L'inhomogénéité, originaire du champ magnétique externe \vec{B}_0 , perturbe aussi le signal, générant la décroissance de type T_2^* . De façon pragmatique, la constante T_2^* vient démontrer les effets d'un champ magnétique externe non parfait, contenant des perturbations microscopiques. Ce paramètre est d'une importance cruciale dans la genèse du signal à traiter, comme il sera expliqué plus loin.

L'approche vectorielle expliquant le comportement de la magnétisation en introduisant les constantes de relaxation transversales et longitudinales a été conçue par Félix Bloch. En s'appuyant sur le fait que la magnétisation est le produit vectoriel de deux forces (soit μ et le champ externe \vec{B}_1), et que cette même magnétisation est la somme de tous les moments magnétiques de spins I ($\vec{M} = \sum I$), il est arrivé à résoudre mathématiquement les équations différentielles décrivant l'évolution du signal du FID dans le temps. Ces équations portent le nom d'*équations de Bloch* (Bloch, 1946). La Figure 17 illustre l'allure de ces exponentielles, et les équations correspondantes sont énumérées ci-après.

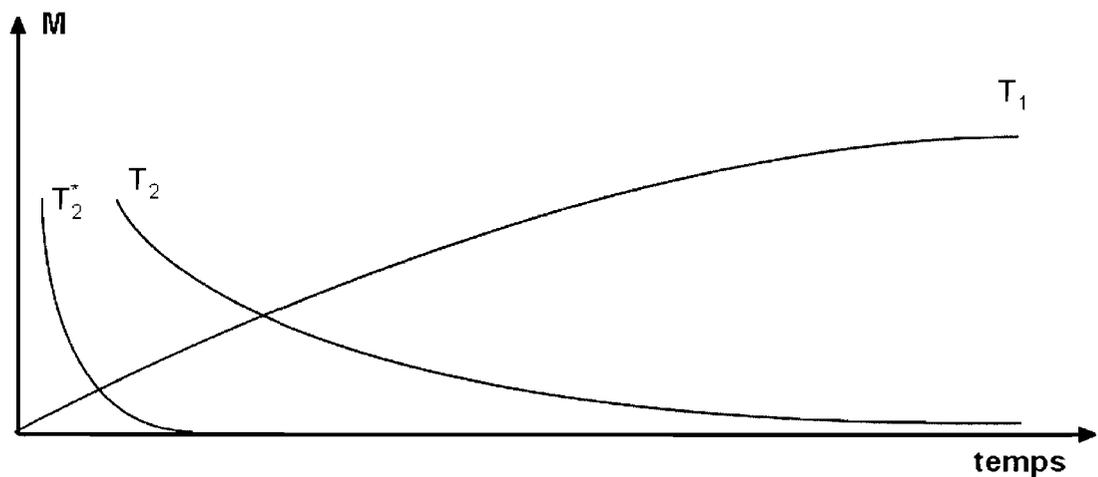


Figure 17 : Constantes de relaxation longitudinales (T_1) et transversales (T_2), les deux solutions aux équations différentielles de Bloch décrivant l'évolution de la magnétisation dans le temps.

$$\frac{d\vec{M}_z}{dt} = -\frac{\vec{M}_z - \vec{M}_0}{T_1} \quad (\text{Équation 2})$$

$$\frac{d\vec{M}_y}{dt} = -\frac{\vec{M}_y}{T_2} \quad (\text{Équation 3})$$

$$\frac{d\vec{M}_x}{dt} = -\frac{\vec{M}_x}{T_2} \quad (\text{Équation 4})$$

Dans ce graphe, la courbe T_2 décroît rapidement, ce qui indique que la magnétisation transverse (M_{xy}) perdra son amplitude vectorielle dans un court laps de temps. Selon la physique, l'échange d'énergie entre les spins est responsable de cette décroissance abrupte, et ce, dès que l'onde RF cesse d'être appliquée. La courbe T_2^* quant à elle épouse la forme de l'onde sinusoïdale de la FID qui s'estompe. En plus de refléter l'échange d'énergie entre les spins, elle illustre l'effet combiné de celle-ci avec l'inhomogénéité microscopique du champ magnétique externe. Cette dernière est statique, elle n'évolue pas dans le temps, et peut donc être contrôlée. La courbe T_1 quant à elle atteint un plateau après un certain temps, durée nécessaire à la magnétisation longitudinale pour se régénérer. La constante de relaxation T_1 se définit comme étant le laps de temps nécessaire pour que 63 % des spins reviennent à leur état de résonance initiale, c'est-à-dire lorsque M_z est à 100 % de sa valeur avant l'application du champ d'excitation B_1 .

Les deux constantes de relaxation vont donc être régies par les propriétés chimiques des molécules, particulièrement en fonction de leur environnement. Ainsi, les molécules liquides, faiblement liées entre elles et avec le milieu, auront un large spectre de fréquences rotationnelles. Elles auront donc un long T_1 . Les molécules grasses, comme celles des lipides, sont plus fortement liées (entre elles et avec le milieu) et par conséquent, les fréquences des mouvements sont plus courtes (se rapprochant de la fréquence de Larmor), ce qui explique pourquoi leur T_1 est plus court. Le vecteur M_z sera régénéré plus rapidement que celui des liquides. Les temps de relaxation sont donc fortement influencés par le mouvement brownien des molécules dans le milieu (ou réseau). Le paramètre nommé temps de corrélation (symbolisé par la lettre grecque τ_c) exprime la durée nécessaire à la molécule pour effectuer une rotation complète sur elle-même, soit 2π radians, en fonction de sa fréquence de Larmor. Ce paramètre sert à mieux étudier les effets du milieu sur les temps de relaxation (Bloembergen *et al.*, 1948).

1.3.2.5. Les échos de signal

Très souvent, le FID ne provient pas d'une excitation simple, mais d'une combinaison d'impulsions et de délais. Deux types de séquences ont été conçus pour augmenter la quantité de signaux émise par un ensemble de spins soumis à la même impulsion RF. La première séquence, nommée *écho de spin* (ou *spin-écho*), utilise une série consécutive d'impulsions (une impulsion initiale de 90 degrés suivi de plusieurs impulsions consécutives de 180 degrés). La première onde RF de 90 degrés va causer un basculement des spins dans le plan transverse. Lorsque ces spins seront en état de relaxation, les inhomogénéités du champ magnétique externe causent un déphasage des spins. Une nouvelle onde RF de 180 degrés sera émise afin de retourner les spins selon un axe de symétrie. Ainsi, les spins qui précessionnaient les derniers vont maintenant précessionner les premiers, et réciproquement. Cette manœuvre aura pour but de causer un retour en phase. Cette nouvelle impulsion causera donc un *écho de spin*. La perte de signal qui se produit suite à une impulsion simple de 90 degrés est évitée par la formation d'un écho. De plus, en utilisant une série d'impulsions de 180 degrés, une série d'échos sera générée. La séquence est appelée alors *multiécho*. La Figure 18 illustre le mécanisme de cette séquence d'acquisition.

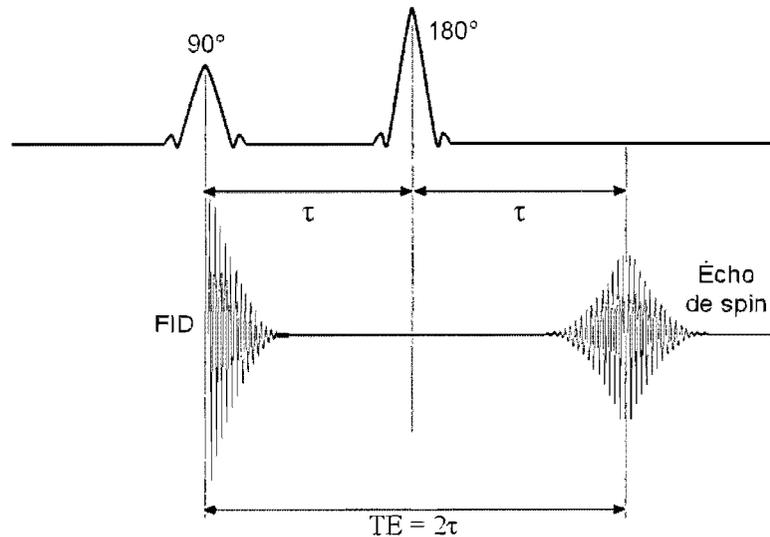


Figure 18 : La séquence spin-écho. Une impulsion initiale de 90 degrés génère une FID. Après un laps de temps, l'émission d'une nouvelle impulsion de 180 degrés cause un inversion des moments magnétiques μ de chaque spin. Cette inversion va provoquer un retour en phase des spins, générant un nouveau signal, l'écho de spin. Le temps entre le FID original et l'écho de spin se nomme le temps d'écho (TE) et correspond à deux fois τ (la durée entre les deux impulsions RF).

Un fait à noter est que l'écho de spin ne possède jamais l'amplitude maximale initiale de la FID. L'impulsion de 180 degrés permet uniquement de corriger les inhomogénéités du champ magnétique externe, et non pas les inhomogénéités d'origine moléculaire. Les spins vont donc se rephaser, mais leur magnétisation M_z ne reviendra jamais à son amplitude initiale. Les échos vont par conséquent s'atténuer selon la courbe de décroissance exponentielle régie par le T_2 des spins d'un tissu.

L'autre séquence servant à générer des échos utilise une autre approche que celle des impulsions 90/180. Un troisième champ magnétique est appliqué aux deux premiers. Appelé gradient, ce champ se superpose au champ \vec{B}_0 afin de modifier ce dernier de façon linéaire. Les spins qui se trouveront sous son influence n'auront donc plus de synchronie dans leur rotation, chacun précessionnant sous l'influence d'une fréquence, dictée par le gradient, variant selon leur position dans ce champ. Le gradient sert donc à accélérer volontairement et de façon contrôlée le déphasage des spins, créant ainsi un *écho de gradient*.

La Figure 19 illustre le mécanisme et les effets du gradient sur le signal. À noter que dans l'écho de spin, il y a aussi utilisation de gradients dans le but de rephaser les spins.

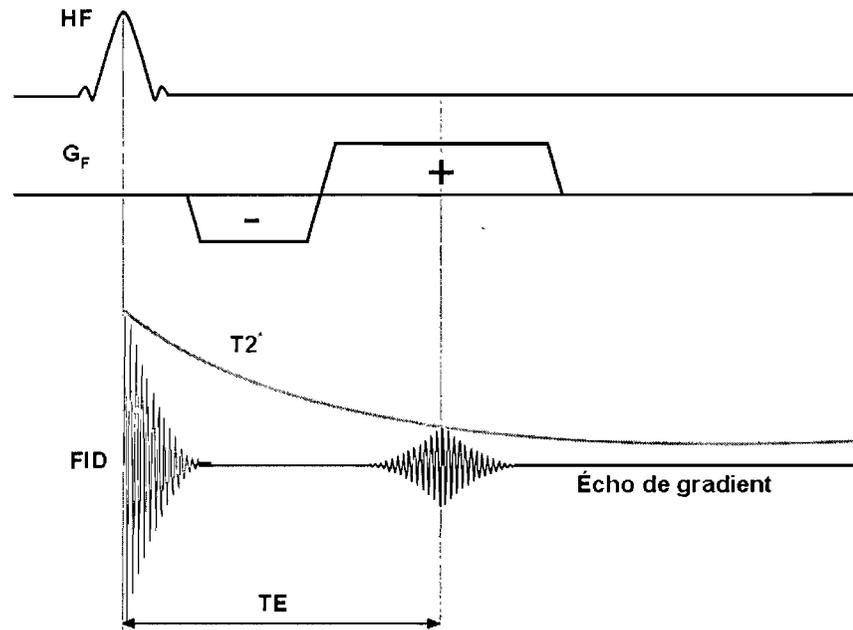


Figure 19: L'écho de gradient utilise un champ magnétique supplémentaire dans lequel les fréquences vont varier linéairement, causant un déphasage contrôlé et accéléré des spins. Le FID décroîtra donc selon le paramètre T_2^* , ce qui va accélérer le processus global d'acquisition du signal. L'onde RF initiale (HF) est la plupart du temps inférieure à 90 degrés. L'écho est à son maximum lorsque l'intégrale du gradient positif correspond à celle du gradient négatif.

L'avantage de l'écho de gradient est sa rapidité d'acquisition. Gérée par le paramètre T_2^* , qui est beaucoup plus court que le T_2 de l'écho de spin, la durée d'acquisition est réduite à quelques secondes, ce qui améliore la qualité du signal en augmentant le rapport signal-bruit (*Signal-To-Noise Ratio* – *SNR*). Le TE doit donc être beaucoup plus court que l'écho de spin puisque les échos s'estompent très rapidement sous l'emprise du T_2^* .

L'écho de spin et l'écho de gradient sont les deux principales manières de générer le signal en IRM. Le signal contenant beaucoup d'information, il est nécessaire de pouvoir filtrer ce dernier afin de recueillir le signal provenant d'un type de tissu précis, tout en éliminant les sources de signal nuisibles provenant d'autres types de tissus. En utilisant une

pondération en T_1 et en T_2 grâce à la manipulation du TR, du TE et du TI dans la séquence d'acquisition, ce procédé permet une acquisition sélective du signal d'intérêt.

Les principes généraux de la RMN ayant maintenant été exposés en détail, il est maintenant temps de s'attarder aux concepts physiques propres à une méthode dérivée de la RMN, la spectroscopie par résonance magnétique (SRM).

1.3.3. Les principes physiques de la SRM

La SRM partage beaucoup de similitudes avec l'IRM. Par contre, son but est tout autre. L'IRM étant utile à des fins de diagnostic anatomique, la SRM, malgré sa faible résolution spatiale, permet d'établir un diagnostic métabolique, en ce sens que l'interprétation du signal spectral issu de la spectroscopie est basée sur la quantité de métabolites, donc de différents types de molécules présents au sein du tissu.

Le signal principal détecté par la SRM, après traitement et analyse du FID, est un spectre de résonance magnétique. Le premier spectre d'un tissu à être produit et reporté dans la littérature date de 1974. Un signal spectral de muscle squelettique de rat a permis, à partir du noyau du phosphore-31 (^{31}P), de détecter l'adénosine triphosphate (ATP), la phosphocréatine et le phosphate inorganique. Puis, dans les années 80, les premières analyses sur l'humain furent menées, avec en 1983 la première acquisition de SRM au phosphore sur le cerveau. Avec le développement de systèmes d'aimantation à supraconductivité initiant de très forts champs magnétiques, il est possible aujourd'hui de combiner à la fois les modalités d'IRM et de SRM dans un seul appareil afin d'aider à la localisation des voxels (Cox, 1996).

Les noyaux atomiques utilisés pour les tissus biologiques avec la SRM sont multiples et permettent d'enrichir l'utilisation de la technique. Ces noyaux se doivent d'avoir un spin non nul, ce qui n'est pas le cas du carbone 12 (^{12}C) et de l'oxygène 16 (^{16}O), qui chacun possède un spin de zéro. Le Tableau III énumère les principaux noyaux utilisés en SRM avec leurs principales caractéristiques pertinentes à la RMN.

Tableau III : Les principaux noyaux atomiques utilisés en SRM clinique et leurs paramètres (Cox, 1996).

Noyau	Spin	Sensibilité relative	Abondance naturelle (%)	Sensibilité absolue	Fréquence à 1 T (MHz)
^1H	$\frac{1}{2}$	1,00	99,98	1,00	42,57
^{13}C	$\frac{1}{2}$	$1,59 \times 10^{-2}$	1,11	$1,76 \times 10^{-4}$	10,71
^{14}N	1	$1,01 \times 10^{-3}$	99,63	$1,01 \times 10^{-3}$	3,08
^{15}N	$\frac{1}{2}$	$1,03 \times 10^{-3}$	0,37	$3,85 \times 10^{-6}$	4,31
^{17}O	$\frac{5}{2}$	$2,91 \times 10^{-2}$	0,04	$1,08 \times 10^{-5}$	5,77
^{19}F	$\frac{1}{2}$	0,83	100,00	0,83	40,05
^{23}Na	$\frac{3}{2}$	$9,25 \times 10^{-1}$	100,00	$9,25 \times 10^{-2}$	11,26
^{31}P	$\frac{1}{2}$	$6,63 \times 10^{-2}$	100,00	$6,63 \times 10^{-3}$	17,23

Les trois principaux noyaux atomiques ciblés par la SRM sont : l'hydrogène (^1H), le phosphore (^{31}P) et le carbone (^{13}C). Il suffit, pour choisir le noyau d'intérêt, de configurer la fréquence de l'impulsion RF pour qu'elle concorde avec celle de la fréquence de Larmor correspondant au noyau en question.

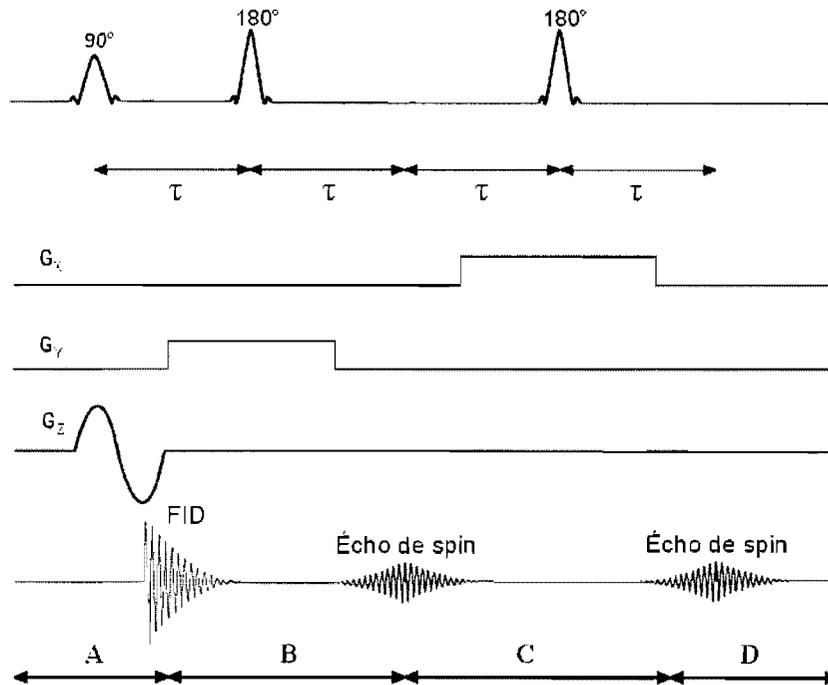
1.3.3.1. La méthode d'acquisition du signal SRM

Lorsque la SRM du proton est utilisée, l'obstacle de taille consiste à éliminer le signal considérable émis par les molécules d'eau, principale constituante du corps humain, ainsi que celui de la graisse qui peut également être présente en grande quantité. Le deuxième défi consiste à circonscrire la région d'intérêt (*ROI, region of interest*), soit la zone excitable, pour former un voxel, soit un petit cube dans lequel tous les spins résonneront à la même fréquence. Pour ce faire, des séquences d'acquisition spécialement conçues seront utilisées.

Avant d'appliquer une séquence d'acquisition de SRM, particulièrement dans les cas où le signal est généré à partir du proton, il est nécessaire d'éliminer la trop grande quantité de signaux provenant de l'eau. La séquence spécialement conçue à cette fin est qualifiée de **sélective au déplacement chimique** (*CHESS — CHEmical Shift Selective*). Elle utilise,

dans le cas de la SRM, trois impulsions RF de 90 degrés (chacune orientée dans les trois plans de l'espace afin de circonscrire la région d'intérêt) ajustées à la fréquence de résonance exacte des spins de l'eau. Les spins se déphaseront donc simultanément, et au même moment, un gradient à champ pulsé vient «écraser» le signal indésirable (*crushed pulsed field gradient*), en l'occurrence l'eau. Par la suite, la séquence qui recueillera le signal d'intérêt est exécutée, cette fois sans la contamination ou la surabondance du signal de l'eau (Haase *et al.*, 1985).

Le premier type de séquence utilisée en spectroscopie se nomme **séquence résolue en points spatiaux** (*PRESS — Point REsolved Spectroscopy Sequence*) (Bottomley, 1984). Cette séquence double-écho utilise trois gradients d'impulsion RF qui, appliqués consécutivement dans le plan transversal et longitudinal, permettent de former un voxel de champ magnétique homogène situé à l'intersection des plans. La Figure 20 illustre le mécanisme de cette séquence, avec en parallèle un schéma de la formation de la ROI.



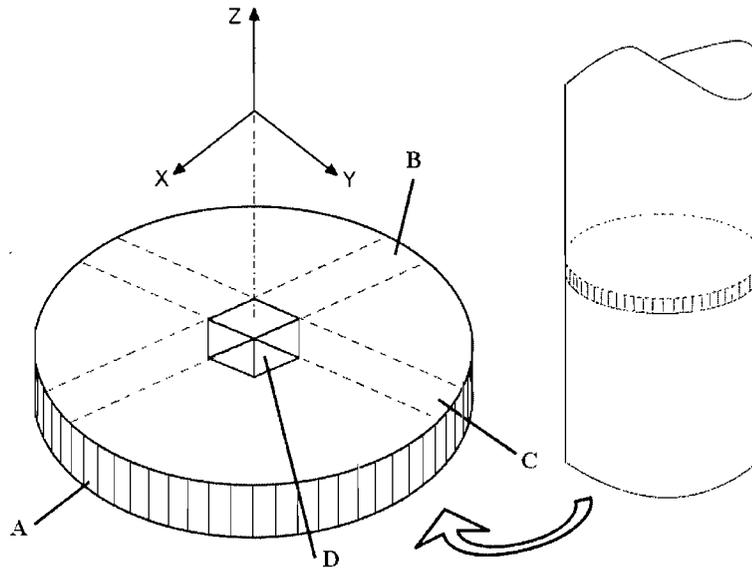


Figure 20 : La séquence PRESS est utilisée largement en SRM pour circonscrire la ROI : le voxel. En haut, la séquence PRESS double-écho. En bas, la formation du voxel. En A, un gradient de sélection de tranches G_z , à amplitude variable, déphase et rephase les spins; combiné à une impulsion RF de 90 degrés, un FID est généré. En B, un gradient G_y , perpendiculaire à l'axe Y, sélectionne une zone rectiligne d'épaisseur définie à l'intérieur de la tranche; l'impulsion de 180 degrés génère ensuite un premier écho de spin après un rephasage. En C, un troisième gradient G_x , perpendiculaire à l'axe X, est généré, suivi d'une nouvelle impulsion de 180 degrés. Cette impulsion permet de délimiter une nouvelle zone rectiligne croisant la première, toujours à l'intérieur de la tranche sélectionnée par le G_z . En D, un deuxième écho de spin est généré. Cet écho est lu par l'antenne réceptrice de l'appareil qui est alors mis sous tension. L'écho est ainsi le FID émis uniquement par les spins contenus dans le voxel (ou la ROI) à cibler (Bottomley, 1984).

Une autre séquence abondamment utilisée dans le domaine de la SRM est la **séquence en mode d'échos stimulés** (*STEAM — STimulated Echo Acquisition Mode*). Cette séquence utilise trois impulsions successives de 90° qui, étant perpendiculaires, vont circonscrire le voxel dans les trois plans de l'espace. L'utilisation de gradients inversés combinés avec un gradient de destruction de l'aimantation transverse provoque la synthèse de **l'écho stimulé** qui sera capté par l'antenne réceptrice de l'appareil.

Finalement, l'imagerie **SRM multivoxel** (*CSI — Chemical Shift Imaging*), aussi appelée **imagerie spectroscopique**, génère une matrice des spectres qui sont localisés au même endroit où leur FID a été capté, permettant ainsi d'identifier l'emplacement des différentes espèces chimiques dans un organe et leur quantité. Les expériences peuvent être effectuées en deux dimensions ou en trois dimensions et les séquences *PRESS* ou *STEAM* peuvent être utilisées. (Orrison *et al.*, 1995).

1.3.3.2. La transformée de Fourier et les spectres de RM

À présent que le signal d'intérêt, en l'occurrence le FID, est produit, il faut maintenant traiter le signal pour pouvoir en soutirer les informations pertinentes. La première étape consiste à convertir le signal du domaine temporel au domaine fréquentiel. L'outil mathématique permettant de réaliser cette conversion du signal se nomme la *transformée de Fourier* (TF), et elle est expliquée en détail dans l'Annexe 2.

Le FID variant en amplitude et en fréquence, la TF de cette courbe sinusoïdale exponentielle ne donnera pas une simple raie localisée à une fréquence unique et précise, à cause des inhomogénéités de résonance, du champ magnétique et surtout, de la diversité des spins inclus dans le voxel. La raie à une fréquence absolue s'étendra donc sur un intervalle plus ou moins large de fréquences centrées en un sommet, formant ainsi un pic. L'ensemble des pics du signal converti par la TF prendra le nom de **spectre de résonance magnétique**, et fournit l'information quant au type de molécules qui sont en train de résonner (emplacement sur l'axe des fréquences du graphe), ainsi que sur leur quantité (amplitude relative des pics, soit l'aire sous la courbe). L'allure du spectre sera dictée par une propriété physico-chimique moléculaire, soit le déplacement chimique dérivé de la fréquence de résonance variant pour chaque groupement chimique.

Les spins gravitant dans un environnement magnétique sont influencés non seulement par un champ magnétique externe, mais aussi par les électrons qui gravitent autour d'eux. Ces particules chargées possèdent elles aussi leur propre moment magnétique de spin. Jusqu'ici, pour expliquer la genèse du signal, il était considéré que le champ magnétique ressenti par le spin était B_0 , le champ externe. En fait, il est plus juste de parler d'un champ appelé B_{local} , qui prend en considération la contribution significative de ces électrons

à la force résultante du champ magnétique. L'effet modulateur des électrons sur le champ B_0 est appelé *le blindage* et est symbolisé par la lettre grecque σ . Cette constante de blindage est indépendante du champ magnétique externe, et ne dépend donc que de l'environnement moléculaire entourant les spins. L'environnement est composé de la densité électronique se trouvant autour du noyau, ainsi que des groupements fonctionnels vicinaux, tels les groupements aromatiques ou les liaisons doubles. La fréquence de résonance va donc varier selon ce nouveau paramètre, et cette variation porte le nom de **déplacement chimique** (*chemical shift*) (voir Annexe 3).

Le déplacement chimique (DC) permet donc de déterminer, selon la fréquence de résonance des spins composant les groupements chimiques ciblés, les types de substances présentes au sein du voxel. Cette caractéristique s'avère très intéressante à appliquer dans le cas du corps humain, qui est majoritairement composé d'eau et de graisse. Les protons de la molécule d'eau, contenant de l'oxygène, atome ayant une grande électronégativité, auront une fréquence de résonance qui sera plus élevée que celle des chaînes d'acides gras hydrophobes, qui ne contiennent pas d'atomes fortement électronégatifs. Les noyaux des protons résonnant dans l'eau sont donc déblindés par rapport à ceux résonnant dans les chaînes d'acides gras lipidiques. La différence de DC entre les deux types de signaux est d'environ 3,5 ppm.

Pour chaque type de molécules, il y a donc une ou plusieurs fréquences de résonance précises sur l'échelle δ à laquelle les spins vont résonner, ainsi qu'une amplitude dépendant de la quantité de spins résonant à cette même fréquence, de la quantité de molécules et des conditions d'acquisition. Le spectre de résonance magnétique présente les raies de différentes amplitudes sur une échelle de DC. Ce spectre est généré après application de la TF sur la FID provenant du domaine temporel (voir Figure 21).

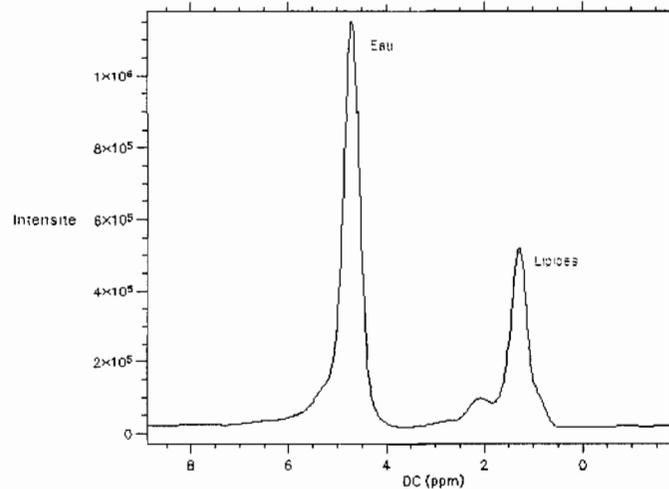


Figure 21: Spectre de résonance magnétique du proton, soit le graphe de l'intensité (en ordonnée) versus le DC (en abscisse) illustrant le nombre de noyaux résonnant dans divers environnements chimiques. Chaque groupement chimique forme un pic de résonance.

Outre l'amplitude des pics et l'emplacement sur l'axe des fréquences, les signaux peuvent parfois être composés de deux ou plusieurs pics intermédiaires appelés *multiplets*. Ces pics démontrent la proximité de noyaux magnétiques voisins au sein de la molécule, influençant donc le champ magnétique ressenti par les spins. Pour mieux comprendre ce phénomène, appelé **couplage spin-spin** ou **couplage scalaire**, il faut considérer encore une fois l'environnement dans lequel le spin résonne (pour plus de détails, consulter l'Annexe 4).

1.4. L'imagerie par résonance magnétique (IRM)

Cette dernière section théorique a pour but d'exposer les modèles de formation des images issues de l'IRM, d'une part, et d'expliquer l'essentiel théorique de deux modalités d'imagerie utilisées dans ce projet : l'imagerie pondérée par diffusion (IPD) et l'imagerie double-écho (IDÉ).

1.4.1. Le codage et la formation des images

Une image en IRM est une matrice de pixels, l'unité constitutive d'une image contenant des valeurs d'intensité en niveaux de gris. Contrairement à la SRM, où le signal

est un spectre, il faudra donc modifier les séquences d'acquisition pour recueillir les informations nécessaires à la création d'une matrice de pixels en deux dimensions. Pour ce faire, les séquences contiennent trois types de gradients différents : les **gradients de sélection de coupe (ou tranche — G_S)**, les **gradients d'encodage de phase (G_P)** et les **gradients d'encodage de fréquence** (aussi appelé **gradients de lecture — G_F**). Ces trois types de gradients sont appliqués en des temps bien précis durant la durée totale de la séquence d'acquisition, et ils peuvent être appliqués dans toutes les directions de l'espace. Cela confère un grand avantage à l'IRM dans sa capacité à soutirer de l'information dans la totalité de l'échantillon à analyser.

1.4.1.1. La sélection de tranches

En ayant à l'esprit la matrice de pixels, il faut commencer par déterminer l'endroit exact dans l'espace (selon l'axe longitudinal) où cette matrice sera extraite. La première étape consiste donc à appliquer, en même temps que l'impulsion RF d'origine qualifiée d'impulsion sélective, un gradient G_S . Les spins résonnant le long de ce gradient vont posséder une fréquence de Larmor comprise dans une largeur de bande correspondant au G_S . Ceux dont la fréquence de Larmor correspond à celle de l'impulsion RF vont composer la tranche d'intérêt. L'épaisseur de cette tranche est modulée selon la puissance du gradient ainsi que la largeur de bande (la forme) de l'impulsion sélective.

1.4.1.2. L'encodage de phase

La tranche ainsi constituée contient des spins formant une matrice en rangées et en colonnes, mais ils précessionnent tous selon une fréquence aléatoire. Il faut donc désormais harmoniser ces fréquences pour en soutirer le maximum de signal. La deuxième étape dans la formation de l'image sera donc d'appliquer un nouveau gradient G_P afin de délimiter chaque ligne de la matrice. Lorsque ce gradient cesse d'être appliqué, le déphasage de chaque spin sera proportionnel à sa position dans l'espace. Il faudra répéter l'application du gradient G_P autant de fois qu'il y a de lignes dans la matrice (par exemple, pour une matrice de 256 X 256 pixels, il y aura 256 gradients G_P appliqués), avec des incréments de phase prédéterminés. Cette opération a pour but d'additionner le signal de tous les spins

contenus dans cette matrice. Le signal qui en ressort contient donc plus d'informations fines, par exemple des contours de formes complexes.

1.4.1.3. L'encodage en fréquences

L'étape finale du recueil du signal avant de procéder à la formation de l'image est d'appliquer un dernier gradient G_F simultanément à la genèse de l'écho. Le gradient G_F est appliqué dans la direction voulue horizontalement. À noter, une ligne de spins contient une fréquence de résonance constante même si l'intensité du gradient augmente. L'écho de signal est donc la somme de toutes les fréquences modulées par le gradient G_F . Après application de la TF du signal, la valeur fréquentielle correspond à la position de la colonne dans la matrice alors que l'intensité (ou l'amplitude) du signal correspond à la valeur, en niveaux de gris, de chaque pixel.

En somme, à la fin de la séquence d'acquisition, les données brutes contiennent le mélange, ou la somme, de n échos de spins issus d'une matrice de grandeur n . Chaque colonne de la matrice correspond à des spins ayant tous une même fréquence de résonance, alors que chaque ligne de la matrice correspond à des spins qui ont la même phase. Cette combinaison forme un ensemble de coordonnées matricielles qui produit l'image. La durée totale d'une séquence d'acquisition (TA) en deux dimensions sera donc calculée en fonction de trois paramètres : le nombre de pas d'encodage de phase (NP_y), le nombre d'excitations (N_{ex} , défini comme étant le nombre de passages nécessaire dans une même ligne de matrice afin d'acquérir un signal satisfaisant) et le temps de répétition entre chacune des impulsions RF (TR).

$$TA = NP_y \bullet Nex \bullet TR \quad (\text{Équation 5})$$

Par contre, pour obtenir cette image telle qu'observée pour le diagnostic clinique, une dernière opération est nécessaire. Les données brutes sont contenues dans un espace appelé **espace k** et elles doivent être converties.

1.4.1.4. Le plan de Fourier

La matrice recueillie suite aux répétitions de la séquence d'acquisition n'a pas l'allure finale de l'image telle que visualisée à l'écran. Appelé **plan de Fourier**, elle est le résultat d'une transformée de Fourier à deux dimensions (TF2D) représentée dans l'espace k (espace issu de la physique des ondes). Une première TF, effectuée le long de l'axe des x , contient les informations de fréquence, alors que la deuxième TF, appliquée selon l'axe des y , représente l'information de la phase. Les n répétitions nécessaires du gradient d'encodage de phase servent à balayer l'espace k pour ensuite y appliquer une TF qualifiée de rapide (*Fast Fourier Transform* ou *FFT*).

Le domaine temporel est renommé, dans ce contexte, domaine fréquentiel (axe k_x), et les fréquences quant à elles sont qualifiées de fréquences de phase (axe des k_y). Ces fréquences correspondent au changement d'intensité des pixels selon la distance parcourue dans l'image. Les variations d'intensité sur de petites distances dans l'image correspondent aux hautes fréquences, alors que les variations sur de longues distances sont associées aux basses fréquences.

Un exemple classique est le gradient d'écho. La navigation dans le plan de Fourier est contrôlée selon trois paramètres : le G_P , le G_F et la combinaison de l'impulsion RF de 180 degrés avec le gradient G_S . Chaque point de la matrice dans le plan possède une coordonnée (k_x, k_y) . À chaque répétition du gradient G_P , sa force est modulée et la durée de son application demeure constante. Plus le gradient a une forte amplitude, plus les données recueillies dans le plan se situeront loin de l'origine (centre du plan de Fourier), et ce, dans la direction de l'axe k_y . Un gradient G_P positif sélectionne une ligne qui est localisée dans les deux premiers quadrants du plan, alors qu'un gradient G_P négatif sélectionne une ligne dans les deux derniers quadrants. La même logique s'applique au gradient G_F , mais dans le sens vertical (axe des colonnes de la matrice, k_x). Par contre, le paramètre qui modifie le gradient G_F est sa durée d'application et non sa force, qui demeure constante. Finalement, l'impulsion RF de 180 degrés combinée avec le gradient G_S permet d'assurer, en inversant la direction de rotation des spins, de couvrir les quatre quadrants du plan en causant une symétrie dans la sélection des coordonnées matricielles.

Les informations de phase et de fréquence sont distribuées de telle façon que l'image formée, suite à la TF2D, aura un contraste plus ou moins élevé ainsi qu'une résolution plus ou moins fine (Figure 22). Dans l'espace k , les points localisés au centre du plan contiennent des fréquences spatiales de très grande amplitude, donnant ainsi un contraste élevé en niveaux de gris à l'image. Par contre, ces fréquences ont une faible résolution spatiale (variation d'intensité en niveaux de gris sur une grande superficie), ce qui concrètement se traduit par un contraste qui est réparti dans toute l'image. La TF2D pratiquée sur cette zone du plan donne une image hautement contrastée, mais très floue. Plus les points du plan de Fourier sont situés en périphérie, plus ces derniers détiennent une fréquence spatiale élevée de faible amplitude, ce qui se traduit par une variation d'intensité des pixels sur une très petite superficie. Cette description correspond aux contours de l'image. Ainsi, une TF2D appliquée à la périphérie du plan de Fourier aboutit à une image contenant très peu de contraste, faute d'absence de grandes variations en intensité, mais dont les contours sont très nets, augmentant ainsi énormément la résolution spatiale globale de l'image.

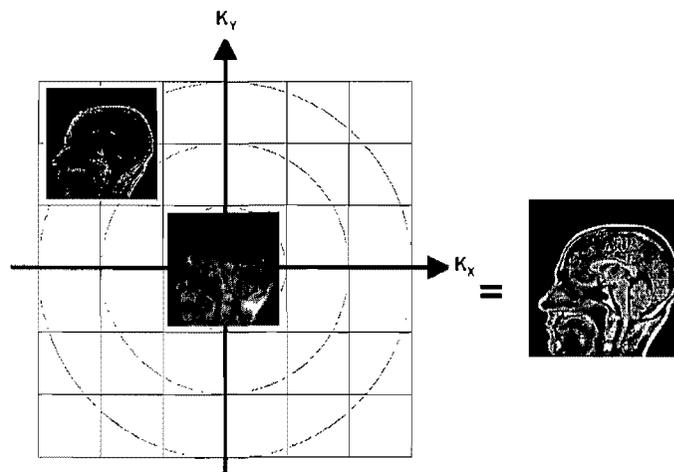


Figure 22 : La formation de l'image à partir du plan de Fourier. Les données fréquentielles situées au centre de l'espace k sont basses, avec de grandes amplitudes. Il y a donc un très fort contraste, mais sans netteté dans l'image. Les données fréquentielles situées en périphérie de l'espace k donnent lieu à des variations très abruptes de l'intensité sur une très petite surface. Ce sont en grande partie les contours de l'image. Combinées, ces deux régions donnent une image ayant une résolution fine avec un contraste élevé.

Afin d'obtenir une image dotée d'une meilleure résolution, le signal recueilli avant la TF2D peut être traité avec la technique du « remplissage par des zéros » (*zero filling*). Ce procédé consiste à ajouter des valeurs nulles au signal contenant des valeurs numérisées complexes. Ainsi, le signal dans l'espace k est artificiellement augmenté (à cause du nombre bonifié de valeurs totales à transformer par la TF), permettant de rehausser les détails de l'image. Cette technique comporte certaines limites, et il est admis qu'en général, un remplissage de zéros de l'ordre d'un facteur 2 est suffisant pour améliorer le signal; utiliser un facteur au-delà de 2 n'apporte pas davantage d'amélioration.

1.4.2. L'imagerie pondérée par diffusion (IPD)

L'IRM traditionnelle permet de soutirer des informations sur l'anatomie et la structure des tissus en utilisant des images pondérées en T_1 , T_2 ou densité de protons qui s'obtiennent en modifiant les valeurs de TE et de TR . Un type bien particulier d'IRM permet d'analyser la structure des tissus de façon différente. Appelée **imagerie pondérée par diffusion** ou **IPD** (*DWI — Diffusion Weighted Imaging*), elle mesure les mouvements infinitésimaux des molécules d'eau dans les tissus, afin d'y détecter, par exemple, des barrières insoupçonnées, comme des caillots sanguins, des tumeurs ou de simples amas graisseux. L'IPD permet donc de mesurer les changements structuraux des tissus, ce qui en fait un outil précieux dans le diagnostic clinique.

L'IPD découle donc entièrement du mouvement brownien des molécules. Elle se définit comme étant l'étude de la perte de signal associée aux mouvements thermiques aléatoires (mouvements browniens) induits par des gradients magnétiques externes. Cette perte de signal se mesure à l'aide d'un paramètre, le **coefficient de diffusion apparent (CDA)** (Luybaert *et al.*, 2001). En réalité, le CDA décrit les mouvements microscopiques des molécules d'eau dans le tissu.

Trois types de diffusion sont possibles selon l'environnement dans lequel les molécules se déplacent. Le premier type est qualifié de **diffusion libre**, les molécules n'étant pas limitées dans leur déplacement, et ce, peu importe la direction de ce déplacement. C'est l'exemple des molécules gazeuses dans l'atmosphère. Le deuxième type, soit la **diffusion isotrope**, implique des molécules dont le mouvement peut s'effectuer dans n'importe quelle

direction dans l'espace, mais ce mouvement est circonscrit dans un volume délimité par une barrière. C'est justement le cas de l'eau extracellulaire qui se déplace dans le foie. Finalement, un troisième cas de diffusion, nommé **diffusion anisotrope**, impose une direction au mouvement dans l'espace. C'est le cas de l'eau se déplaçant entre les fibres nerveuses du cortex cérébral de la substance blanche. Dans ce cas, il faut acquérir une *image trace*, qui est une moyenne de trois images ayant chacune un gradient dirigé dans les trois plans de l'espace (Kremer *et al.*, 2007). La technique **d'imagerie par tenseur de diffusion** peut alors être utilisée pour mesurer la direction (anisotropie) du mouvement dans l'espace.

L'IPD mesure donc un changement dans la phase des molécules soumises à un gradient. Cette variation de phase s'exprime selon l'équation suivante :

$$\phi(t) = \gamma B_0 t + \gamma \int_0^t \mathbf{G}(t') \cdot \mathbf{x}(t') dt'$$

(Équation 6)

La variation de phase (Φ) dépend donc de deux opérateurs, soit le champ magnétique principal (B_0) induisant un accroissement, ainsi que l'effet du gradient magnétique appliqué (G). Le paramètre γ correspond au facteur gyromagnétique, la variable x correspond à l'amplitude du gradient dans l'espace et la variable t est sa durée. Cet effet se subdivise en termes de force et de durée du gradient, ainsi que de la direction de la magnitude des spins. Une séquence de diffusion classique implique l'application de deux gradients de diffusion de même intensité et de même durée, mais de direction opposée, entrecoupés par une impulsion RF de 180 degrés (Figure 23) (Bammer, 2003).

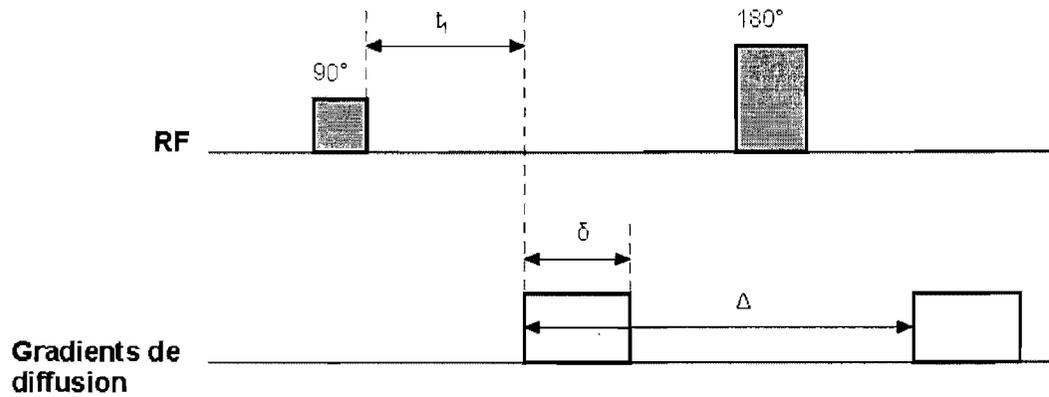


Figure 23 : La combinaison d'impulsions RF et les gradients de diffusion utilisés dans l'IPD (Kremer *et al.*, 2007).

Ainsi, si les molécules sont immobiles, l'effet des deux gradients s'annule et aucun signal n'est généré (aucun changement de phase). Par contre, si le premier gradient induisant un changement de phase est accompagné d'un déplacement moléculaire, le deuxième gradient ne pourra donc pas recréer les conditions de signal du départ, car les molécules ont changé d'environnement. Il y aura donc une atténuation du signal. Cette atténuation va modifier l'équation de phase de cette manière :

$$\phi(\text{TE}) = \gamma \int_{t_1}^{t_1 + \delta} \mathbf{G}(t') \cdot \mathbf{x}(t') dt' - \gamma \int_{t_1 + \Delta}^{t_1 + \Delta + \delta} \mathbf{G}(t') \cdot \mathbf{x}(t') dt' \quad (\text{Équation 7})$$

L'introduction de trois nouveaux termes dans l'équation illustre le moment où les deux gradients sont appliqués. Le paramètre t_1 représente l'intervalle de temps entre l'impulsion initiale RF de 90 degrés et le début du premier gradient de diffusion. Le paramètre δ représente la durée de ce gradient de diffusion et finalement, Δ représente le laps de temps (l'espacement) entre l'application du premier et du deuxième gradient de diffusion. Le TE est le temps d'écho paramétré dans la séquence. L'équation ci-dessus représente donc le changement de phase induit par les deux gradients de diffusion (Bammer, 2003).

Pour exprimer ensuite l'atténuation proprement dite de la magnétisation des spins ayant subi un changement de phase en réponse à l'application des gradients de diffusion, il

faudra implémenter la notion de **facteur b** (b) et de **coefficient de diffusion apparent** (CDA). Ces deux paramètres apparaissent dans l'équation suivante :

$$M_{(b, TE)SE} = M_0 \exp\left(-\frac{TE}{T_2}\right) \exp(-b \bullet CDA) \quad (\text{Équation 8})$$

Le facteur b est une mesure de l'influence du gradient de diffusion appliqué pour faire varier la phase des spins ciblés. Il s'exprime en s/mm^2 . Il se calcule, pour une séquence de type spin-écho avec un gradient de diffusion rectangulaire, de la façon suivante :

$$b = \gamma^2 G^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right) \quad (\text{Équation 9})$$

Les paramètres δ et Δ demeurent les mêmes que précédemment, à savoir la durée du gradient et l'espacement entre le premier et le deuxième gradient de diffusion. Le paramètre G représente la force du gradient de diffusion, et le paramètre γ est le facteur gyromagnétique. Plus le facteur b est élevé, plus l'atténuation causée par la diffusion sera importante (Bammer, 2003).

Le **coefficient de diffusion apparent** (CDA dans l'équation) se calcule en utilisant le rapport d'intensité de pixels ($M(b_x)$) entre une image pondérée en T_2 (donc sans gradient $-b_0$) et celle pondérée en diffusion, avec un facteur b_1 déterminé. Il est exprimé en mm^2/s (Bammer, 2003).

$$CDA = -\frac{1}{b_1 - b_0} \ln\left(\frac{M(b_1)}{M(b_0)}\right) \quad (\text{Équation 10})$$

En IPD, une cartographie de CDA est créée à partir des images de diffusion. Cette cartographie contient uniquement les informations de diffusion qui sont distribuées spatialement, en codant les valeurs de CDA avec une échelle de couleurs (bleu pour les CDA faibles, rouge pour les CDA élevés) (Kremer *et al.*, 2007).

La séquence d'acquisition la plus utilisée dans ce type d'imagerie est la **séquence d'imagerie écho-planaire (EPI, Echo-Planar Imaging)** (Figure 24). Dans cette séquence, une combinaison d'impulsions RF (soit une impulsion d'angle de nutation de 90° suivie d'une autre de 180°) déclenche non pas un écho unique, mais un train d'échos de gradients. Chaque écho du train est modulé par un gradient de sélection en fréquence qui permet de balayer l'entière surface de l'espace k . Ce train est compris à l'intérieur d'un seul et même TR, ce qui confère un avantage indéniable à cette séquence, soit sa rapidité à acquérir le signal. Cette séquence peut donc parfaitement bien s'utiliser en apnée, ce qui est idéal dans l'imagerie de l'abdomen.

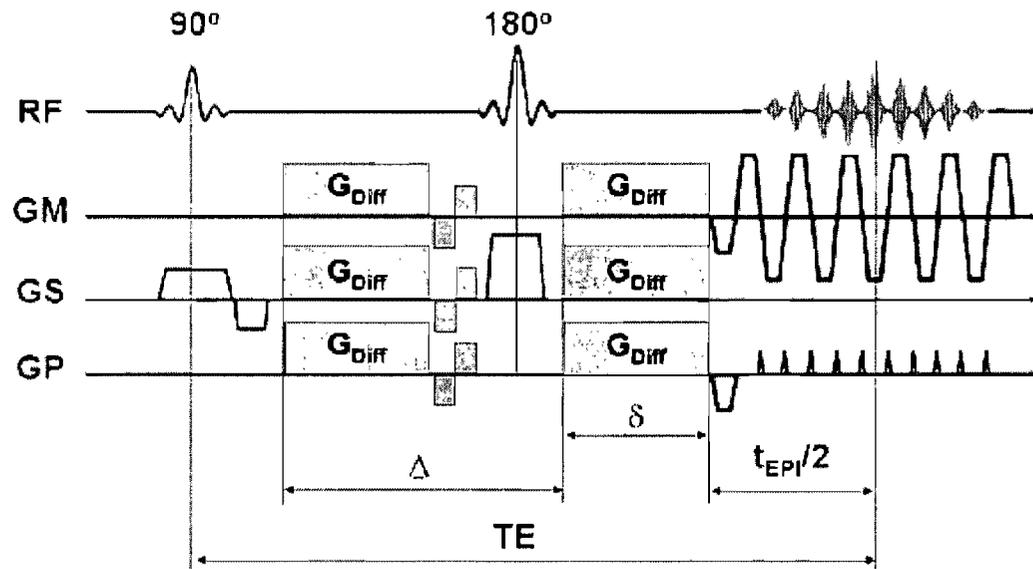


Figure 24: Séquence EPI utilisée dans l'IPD. RF : impulsion excitatrice; GM : gradient de sélection en fréquences; GS : gradient de sélection de tranches; GP : gradient de sélection de la phase; G_{Diff} : gradient de diffusion; Δ : intervalle entre les deux gradients de diffusion; δ : durée du gradient de diffusion; TE : temps d'écho; $t_{EPI}/2$: maximum de l'écho EPI (Bammer, 2003).

En résumé, l'IPD permet d'évaluer l'état structural d'un tissu. Par le profil du déplacement d'eau et le signal ainsi généré, des informations quant à la présence et l'emplacement de tumeurs, de caillots, d'amas de graisse ou tout autre obstacle ajoutent une précision significative quant au diagnostic clinique.

1.4.3. L'imagerie double écho (IDÉ)

La dernière modalité d'imagerie utilisée dans ce projet est l'IDÉ. Comme la SRM, l'IDÉ se base sur le déplacement chimique des molécules pour soutirer une information importante à partir des images : la quantité de graisse présente dans une région d'intérêt. Pour calculer la fraction de gras, la séquence d'acquisition se concentre sur l'addition et la soustraction de la magnétisation des spins des molécules d'eau et de graisse.

L'IDÉ a été mise au point par W. Thomas Dixon, et l'appellation *méthode de Dixon* est abondamment utilisée dans la littérature (Dixon, 1984). Ce dernier a développé une séquence basée sur l'observation suivante. Les spins de l'eau, après une impulsion RF de 90°, vont relaxer en précessant à des fréquences séparées de trois à quatre ppm plus rapidement que les molécules de graisse, selon leur fréquence de Larmor. Par conséquent, il suffit d'acquérir le signal à deux moments précis dans la séquence, c'est-à-dire au moment où les deux types de spins sont en phase (les signaux de l'eau et de la graisse s'additionnent), et au moment où les deux types de spins sont hors phase (les signaux de l'eau et de la graisse se soustraient).

Ces addition et soustraction successives du signal étant périodiques, l'acquisition du signal se fera au temps virtuel « zéro », immédiatement après l'impulsion RF, ainsi qu'au temps a défini de la manière suivante :

$$t = \frac{1}{2(\nu_e - \nu_g)} \equiv a \quad (\text{Équation 11})$$

Dans l'équation, ν_e représente la fréquence de résonance de l'eau, et ν_g représente la fréquence de résonance du gras. En acquérant le signal précisément au temps a , l'intensité des pixels obtenus après la conversion du plan de Fourier représente la différence entre le signal de l'eau et celui de la graisse. Le t_a correspond donc au premier minimum de la fonction ou du signal de FID. Au t_0 , l'intensité des pixels de l'image consiste à la somme du signal provenant de l'eau et de la graisse. En additionnant ces deux images, le résultat représente uniquement la contribution du signal de l'eau. En soustrayant ces deux images, le résultat est

l'inverse, soit uniquement la contribution du signal de la graisse. Le tableau IV résume les quatre types d'images pouvant être obtenues à partir d'une séquence IDÉ.

Tableau IV : Les quatre types d'images extraites d'une séquence IDÉ avec leur interprétation respective

Types d'images	Interprétation du signal
t_0	Eau + graisse
t_a	Eau - graisse
$t_0 + t_a$	Eau
$t_0 - t_a$	Graisse

Initialement, la séquence utilisée dans la méthode de Dixon était de type *écho de spins*. En appliquant un gradient de lecture G_F exactement au TE de la séquence, l'écho généré est composé du signal de l'eau et de la graisse. Par contre, en appliquant un gradient G_F au temps TE $\pm a$, l'écho généré est composé du signal représentant la différence entre les spins de l'eau et de la graisse, leurs vecteurs de magnétisation respectifs pointant dans des directions opposées (Dixon, 1984).

La grande difficulté dans l'acquisition du signal avec une séquence écho de spin est l'impossibilité de procéder à l'acquisition en apnée, car le TA requis pour obtenir un bon ratio signal/bruit est trop élevé. L'imagerie de l'abdomen doit donc se baser sur une autre séquence pour pouvoir pallier ce problème. Cette séquence est de type **écho de gradients ultrarapides avec destruction de l'aimantation transversale résiduelle** (*fast SPGR, fast SPOiled Gradient-Recalled dual-echo sequence*). Cette séquence possède un très court TR afin de minimiser le plus possible le temps d'acquisition. Sa particularité est qu'entre chacune des impulsions RF, un gradient de destruction de l'aimantation transverse sera appliqué. Ce gradient de type G_D possède deux composantes, une constante qui consiste à prolonger le gradient de lecture G_F , et une autre aléatoire, dans la direction du gradient de coupe G_S . Ce gradient, par sa composante aléatoire, va ainsi « écraser » entre chaque TR le signal résiduel transversal persistant.

L'IDÉ permet donc, en acquérant deux types d'images, une série en phase et une autre en opposition de phase, de mesurer la quantité de signaux de graisse dans une région

d'intérêt, pouvant ensuite être corrélée avec d'autres types d'informations, notamment celle de la SRM et de l'IPD.

1.5. Hypothèses de travail et objectifs du projet

Le présent projet de recherche a comme objectif de diagnostiquer la stéatose hépatique en comparant des techniques d'IRM développées depuis les années 80 avec la SRM du proton. En plus de détecter la stéatose, un deuxième objectif vise également à quantifier la graisse présente dans l'organe. Les trois techniques sont utilisées en séquence afin de valider les résultats. L'évaluation de la détection de la graisse s'effectuera principalement en corrélant les résultats des techniques non invasives avec l'histopathologie, procédé reconnu à ce jour comme étant cliniquement valable et standardisé pour la détection de la stéatose hépatique. D'autres corrélations seront effectuées avec les résultats de différents bioessais d'intérêt dans l'évaluation du bilan lipidique. À long terme, l'utilisation de ces techniques pourrait servir d'alternative valable et non invasive, contrairement à la biopsie, permettant d'assurer une meilleure intégrité au patient.

Jusqu'à ce jour, plusieurs études ont été effectuées dans le domaine pour tenter entre autres d'évaluer l'efficacité de la SRM sur le foie, en plus de sa capacité à détecter et quantifier les lipides responsables de la stéatose. Par le fait même, l'IPD et l'IDÉ ont aussi été étudiées dans la même optique. Les sections qui suivent exposent les grandes lignes de ces études. La grande majorité d'entre elles ont été menées de façon indépendante, en corrélant les résultats des techniques de RM avec l'histopathologie. Selon toute vraisemblance, ce projet est le premier à intégrer les trois approches pour tenter de maximiser la précision et la sensibilité du test de détection.

1.5.1. L'efficacité de la SRM dans la détection et la quantification lipidique

À cause de sa position anatomique, le foie représente un défi pour la SRM du proton. En fait, chaque cycle respiratoire cause un mouvement de l'organe, le diaphragme exerçant une pression sur la partie supérieure de l'organe. De plus, le flux sanguin de la veine porte amène un deuxième type de mouvement pulsatile au niveau du hile. Par consé-

quent, la SRM du foie doit pouvoir être effectuée idéalement en arrêt respiratoire, utilisant des séquences dont la durée est en deçà de 25 secondes, ou bien l'acquisition du signal doit être synchronisée avec la respiration. Un deuxième obstacle à considérer est la présence marquée d'éléments paramagnétiques, notamment le fer, dans le foie, c'est-à-dire des éléments causant une relaxation très rapide des noyaux observés. Leur trop grande présence empêche toute détection adéquate du signal de résonance, causant des artéfacts comme un élargissement des raies spectrales. (Cox, 1996; Jalan *et al.*, 1996).

Un important défi à surmonter dans la quantification de la graisse hépatique est l'obtention d'une analyse relative ou absolue du signal. En effet, plusieurs études ont été menées afin de pouvoir comparer le signal émis par le foie ainsi que celui d'un fantôme placé dans le tunnel de l'appareil, en même temps que le sujet. Ce fantôme contenant des concentrations de lipides connues *a priori*, l'analyse peut donc se baser sur une quantification absolue de la concentration en gras hépatique. Malheureusement, des distorsions et des inhomogénéités du champ magnétique externe entourant le fantôme et le sujet peuvent causer un biais dans l'acquisition du signal. Il faut donc opter pour une référence qui est relativement constante au sein de l'individu : le signal non supprimé de l'eau. Le signal de graisse sera donc exprimé sous la forme d'un ratio, appelé ratio lipides/(lipides+eau) (RLLE). Le RLLE est donc une quantification relative de graisse (Fischbach et Bruhn, 2008).

Une des premières études s'intéressant à l'efficacité de la SRM du foie *in vivo* corréle les résultats issus des spectres acquis chez 29 patients avec des résultats d'histophotométrie et de SRM *in vitro*, en plus des résultats de TDM. Les observations de cette étude démontrent que l'analyse histopathologique sous-estime entre 30 et 50 % de la quantité de lipides hépatiques, alors que les corrélations avec la TDM sont significatives ($r = 0,83$) (Longo *et al.*, 1995). En outre, les résultats de Longo *et al.* concernant la SRM sont similaires ($r = 0,70$) à ceux menés par Vuppalanchi *et al.*, qui ont trouvé eux aussi une bonne corrélation entre les résultats histopathologiques et les données de la SRM ($r = 0,61$, $p = 0,006$) (Vuppalanchi *et al.*, 2007). Cette dernière étude ne mentionne pas si les résultats de SRM sont supérieurs ou non à ceux d'histopathologie. Cependant, la plupart des comparaisons vont démontrer une surestimation de la quantité de graisse lorsque celle-ci est dé-

terminée par histopathologie comparé à la méthode de la SRM. Cette surestimation est analysée en détail dans la section 4.2.

Comme il a été mentionné auparavant, le foie contient énormément d'eau et une quantité variable de lipides qui contribuent majoritairement au signal capté lors de la spectroscopie. Plusieurs tentatives concluantes ont été menées afin de notamment quantifier les lipides présents dans le foie. La spectroscopie permet notamment de quantifier les triglycérides *in vivo*. Deux observations ont été menées à ce sujet. La première a porté sur des chiens et des lapins où une injection de noradrénaline soutenue a provoqué une lipolyse du tissu adipeux augmentant la quantité de triglycérides dans le foie (Szczepaniak *et al.*, 1999). De plus, une injection de CPI-975, un inhibiteur de la carnitine palmitoyltransférase a empêché les mitochondries d'oxyder la longue chaîne d'acides gras, contribuant également à la hausse de triglycérides. En calculant le coefficient de Pearson (r) entre les données mesurées de façon histologique et celles issues de la spectroscopie, une forte corrélation ($r = 0,934$) a été observée. Dans cette même étude, un deuxième volet d'expériences a été mené sur des humains et a réussi à clairement distinguer un groupe de triglycérides intracellulaires à 1,4 ppm et un groupe de triglycérides de tissu adipeux à 1,6 ppm. Cette dernière série démontre que la spectroscopie réussit clairement à différencier les triglycérides présents dans des cellules non adipeuses *versus* les cellules adipeuses. De ce point de vue, la spectroscopie est supérieure à l'imagerie dans la détection de lipides intracellulaires. Selon l'étude, la sensibilité de la technique pour le foie est valide jusqu'à 7 $\mu\text{mol/g}$. En fin de compte, la conclusion de cette recherche ouvre la voie à des applications diverses sur l'obésité, le diabète et les syndromes de résistance à l'insuline.

D'autres études ont été menées chez le rat. La SRM permet également de distinguer les différents stades de l'évolution de l'hépatocarcinogénèse chez ce modèle animal. Des rats auxquels ont été administrés des agents précancéreux ont été soumis à des examens de SRM *in vivo* (Tesiram *et al.*, 2005). Les spectres ont clairement démontré une différence dans les phospholipides synthétisés par les rats cancéreux *versus* ceux en santé.

Parallèlement, chez l'humain, d'autres observations favorisent la spectroscopie du proton dans la quantification des lipides; il existe une corrélation ferme entre l'indice de masse corporelle (IMC) et la quantité de lipides établie à partir de spectres (Tarasow *et al.*,

2002). De plus, cette technique permet de déterminer que les lipides ne se concentrent pas uniformément dans tout le foie, puisque les acquisitions effectuées dans différents voxels ne comportent pas le même taux de lipides. La SRM est aussi fortement corrélée avec des paramètres cliniques qui servent au diagnostic du diabète de type 2 et l'obésité, comme la masse corporelle, l'IMC, le tour de taille et la résistance à l'insuline (Ishii *et al.*, 2005). La SRM est aussi associée à l'adiposité centrale du corps, notamment en ce qui a trait aux lipides hépatiques intracellulaires (Thomas *et al.*, 2005).

La SRM permet également d'améliorer sensiblement la précision lorsque l'IDÉ est utilisée pour quantifier la graisse. Dans une étude menée sur 90 sujets sains ayant subi une IDÉ et une SRM, une très forte corrélation entre les deux techniques a été détectée ($r \geq 0,95$), avec une très grande sensibilité de détection pour la SRM, ce qui en fait une méthode intéressante dans l'analyse du profil métabolique (Machann *et al.*, 2006).

Une des plus importantes études de cohorte à avoir été effectuée dans la détermination de l'efficacité de la SRM *in vivo* sur le foie a impliqué 2349 patients américains (Szczepaniak *et al.*, 2005). Des résultats probants ont été compilés, notamment une prévalence de stéatose de 33,6 % dans cette population en utilisant un seuil de 5,5 % de lipides comme critère de stéatose. De plus, après comparaison des spectres où les patients sont dans un état pré ou post prandial, aucune différence significative n'a pu être détectée, ce qui exclut l'indice de prise de nourriture comme facteur influençant les quantités de lipides calculées à partir de spectre de RM.

1.5.2. L'IPD et son apport dans l'évaluation de la fibrose

L'IPD s'avère un outil utile dans la détection des zones hépatiques du parenchyme où les déplacements d'eau se font avec moins de facilité. Dans ce cas, les barrières naturelles pathologiques réduisant le mouvement des molécules d'eau peuvent appartenir à deux éléments. Le premier consiste en des amas graisseux se créant dans le cas des stéatoses au stade précoce, ou dans le cas des stéatoses macrovésiculaires. Cette avenue de recherche a été plus ou moins bien étudiée, car les renseignements cliniques ne sont pas aussi probants que dans le cas du deuxième élément : la fibrose. Conséquence directe de l'inflammation et de la peroxydation lipidique, le collagène généré par la fibrose bouche les sinusoides paren-

chymateux, réduisant ainsi fortement les mouvements aqueux. La réduction de ce mouvement est ainsi directement mesurée par le calcul du CDA à partir des images d'IPD. Une autre avenue de recherche concerne l'étude des lésions focales, par exemple la distinction entre les tumeurs bénignes et malignes, sur la base des valeurs de CDA.

Au cours des dernières années, plusieurs études (mentionnées ci-dessous) ont été effectuées pour déterminer la corrélation entre le score de fibrose et le CDA. Les résultats varient beaucoup d'une étude à l'autre. De plus, les patients impliqués dans ces études ont des pathologies hépatiques qui varient (hépatite C, cirrhose, hépatocarcinome), mais ayant toutes une caractéristique commune : la fibrose.

De prime abord, l'IPD est en mesure de pouvoir distinguer la malignité des tumeurs hépatiques, puisque, dans une étude menée chez 66 patients, les valeurs du CDA moyen des tumeurs malignes est significativement plus faible que celles des tumeurs bénignes. De plus, la diffusion dans le foie est isotropique, c'est-à-dire que l'eau se déplace sans égard à une direction précise, le parenchyme hépatique étant homogène. Cette observation a pu être conclue en procédant à un test statistique qui n'a pu déceler une différence significative entre les valeurs de CDA recueillies à l'aide de trois gradients, chacun dirigé dans les trois axes de l'espace. Par conséquent, l'utilisation de gradients multidirectionnels dans une séquence d'IPD n'est pratiquement pas nécessaire (Taouli *et al.*, 2003).

Concernant la fibrose, une deuxième étude conclut que l'IPD est encore en mesure de pouvoir discerner une baisse significative du CDA chez des patients cirrhotiques ($n = 15$) (Aubé *et al.*, 2004). Les CDA corrélaient même significativement avec un marqueur de la fibrose, l'acide hyaluronique. Cependant, contrairement à ce que stipule l'étude de Taouli *et al.*, le signal de diffusion provenant des séquences utilisant des gradients unidirectionnels est trop faible pour pouvoir en calculer les CDA. De plus, la séquence EPI est très sensible à l'inhomogénéité du signal chez les patients souffrant d'hémochromatose, et il est encore une fois impossible de pouvoir calculer le CDA. Une autre étude en arrive à la même conclusion, cette fois chez des patients atteints d'hépatite ou de cirrhose, ainsi que chez des volontaires sains ($n = 132$). Encore là, les valeurs de CDA diminuent significativement avec la hausse du score de fibrose (cette fois de manière très importante avec un facteur $p < 0,0001$). Cependant, ce ne sont pas toutes les études qui en arrivent à la même conclusion.

Dans le cas de patients atteints d'hépatite C ($n = 18$), le score de fibrose ne corrèle pas avec les résultats d'IPD mesurés à l'aide d'une séquence EPI modifiée pour raccourcir le TE (Boulanger *et al.*, 2003). De plus, les séquences utilisées sont unidirectionnelles et elles ont suffisamment recueilli de signal pour pouvoir être traitables. L'utilisation combinée de la séquence EPI avec une autre séquence qui synchronise l'acquisition du signal avec la respiration est donc recommandée (Koinuma *et al.*, 2005). Finalement, une étude portant sur des rats auxquels une fibrose hépatique a été induite démontre que la fibrose ne semble pas d'emblée associée à la restriction du déplacement aqueux dans le tissu contrairement à ce qui était interprété dans la littérature auparavant. Cette nouvelle observation s'impose, car les CDA des tissus hépatiques extraits de l'animal mort ne corrèlent plus avec le score de fibrose, alors qu'hypothétiquement la diffusion est considérée comme indépendante de l'état de vie ou de mort de l'animal. Par conséquent, les auteurs avancent l'hypothèse de la perfusion pour expliquer le lien entre fibrose et diffusion (Annet *et al.*, 2007).

En résumé, l'IPD consiste en une modalité d'imagerie non négligeable dans l'étude et le diagnostic des pathologies hépatiques. Les études menées jusqu'à maintenant ont concentré leur effort sur la quantité de fibrose dans l'organe, symptôme direct d'une présence soutenue de triglycérides et d'inflammation dans le parenchyme hépatique.

1.5.3. L'IDÉ et la quantification lipidique

L'IDÉ ou la méthode de Dixon a servi dès son invention à mesurer la quantité de lipides intrahépatiques. En comparant des données préliminaires (issues de plusieurs séquences d'écho de spin basées sur le modèle de Dixon) chez cinq sujets (deux volontaires, trois patients) avec des données de TDM, les résultats de quantification ont été comparables à ceux des images TDM, les images en opposition de phase ayant même un meilleur rapport signal/bruit que celui des images en phase. Une équation a été mise au point afin de quantifier la fraction de gras (FG) à partir des intensités des pixels formant l'image en opposition de phase (S_{op}) et en phase (S_{ep}).

$$FG = \frac{S_g}{S_e + S_g} = \frac{1}{2} \left(1 - \frac{S_{op}}{S_{ep}} \right) \quad (\text{Équation 12})$$

Dans l'équation, le signal de la graisse (S_g) est la différence entre S_{ep} et S_{op} , alors que S_e est la somme de S_{ep} et S_{op} . Également, la cueillette de données a été effectuée à un champ magnétique de 0,35 T (Lee *et al.*, 1984). Une deuxième étude portant sur le même sujet a validé la technique chez 35 sujets (12 volontaires sains et 23 patients stéatosés diagnostiqués par TDM) (Heiken *et al.*, 1985).

La transposition de la méthode de Dixon à champ magnétique principal de 1,5 T comporte un obstacle majeur, celui des inhomogénéités magnétiques croissantes qui viennent perturber le signal, surtout quand les valeurs de T_2^* sont très courtes. Une séquence de type écho de spin, encore une fois basée sur la séquence de Dixon, a été utilisée chez 16 patients atteints de diverses pathologies hépatiques, et les résultats d'IDÉ ont été corrélés avec les analyses d'histopathologie (Levenson *et al.*, 1991). La corrélation s'est avérée excellente ($r = 0,86$; $p < 0,1$). Les résultats d'histopathologie ont été compilés à l'aveugle par un pathologiste utilisant quatre échelons de graduation.

Afin de se débarrasser du mouvement répétitif du foie à chaque inspiration lors de l'acquisition, il a fallu développer une nouvelle séquence pouvant s'effectuer à l'intérieur d'un délai de 20 secondes, soit le temps requis pour retenir son souffle. Différentes séquences SPGR rapides (angle α variant entre 5 et 90°) ont donc été mises à l'épreuve sur des homogénats de foie bovin mêlés à de l'huile de maïs dont la FG est déjà connue ($n = 10$) (Fishbein *et al.*, 1997). Les corrélations optimales entre les quantifications lipidiques déterminées de manière biochimique et celles déterminées par l'IDÉ s'obtiennent en utilisant un angle de nutation de 30°. À partir de cette mise au point de la séquence SPGR, 68 sujets ont été recrutés (28 volontaires sains, 37 patients atteints de fibrose et 3 obèses). Les données d'IDÉ ont permis de détecter une hausse significative de la FG (supérieure à deux fois l'écart-type) chez les patients atteints de fibrose (28 sur 37) et les obèses (3 sur 3) *versus* les volontaires sains, démontrant clairement la capacité de la séquence SPGR à détecter efficacement et rapidement les lipides dans le tissu hépatique.

Depuis ce temps, la méthode pour quantifier les lipides privilégie l'écho de gradients (SPGR) plutôt que l'écho de spin à cause de sa rapidité d'acquisition et la capacité de capter assez de signal en deçà de 20 secondes, soit le temps nécessaire pour éviter le mouvement du foie causé par la respiration. À partir des images double écho, il est maintenant

possible d'obtenir une cartographie des lipides intrahépatiques, ce qui permet de pouvoir ajouter une observation topographique sur la quantité de graisse présente dans le tissu, affinant le diagnostic. Cette cartographie peut être obtenue à l'aide de la corrélation entre les données de SRM et d'IDÉ (Kawamitsu *et al.*, 2003) ou en mettant au point un algorithme qui mesure la relaxation T_1 du gras *versus* celle de l'eau (Hussain *et al.*, 2005).

1.5.4. L'évaluation de l'histopathologie hépatique comme outil de diagnostic

L'évaluation de la stéatose à partir d'une analyse histopathologique d'un échantillon de foie prélevé par biopsie est quelque peu subjective, puisque les critères déterminant la sévérité et l'étendue de la maladie sont sujets à une certaine interprétation par le pathologiste qui établit le diagnostic. Cette imprécision dans l'interprétation a un impact minime dans une optique de diagnostic clinique, mais revêt une importance capitale dans la quantification de lipides dans une optique de recherche. Non seulement le pathologiste se base sur un critère essentiellement visuel, menant à une possible surestimation ou sous-estimation de la quantité lipidique au sein de l'échantillon tissulaire, mais une grande différence dans les résultats de différents prélèvements issus d'un même foie peuvent survenir. En effet, l'extrême microlocalisation du tissu extrait par biopsie fait en sorte que le diagnostic de l'organe est établi suite à une très importante extrapolation.

L'intra et l'intervariabilité du diagnostic d'histopathologie ont été prouvées dans plusieurs études s'étant penchées sur le sujet dont voici quelques exemples. Dans une étude composée de 2 échantillons de tissu hépatique du même organe provenant de 51 patients, aucune corrélation significative n'a pu être détectée entre les résultats des deux échantillons à l'exception du grade de stéatose. Des observations répétées du même pathologiste sur un même échantillon (intravariabilité) ont révélé des variations de gradation et de stadification de la stéatose, de même que pour des observations de deux échantillons différents provenant du même foie (inter variabilité). Sur les 51 patients, 30 ont obtenu le même score de stéatose pour les deux échantillons, alors que chez les 21 restants, une différence d'au moins un stade a été détectée ($\kappa = 0,47$) (Ratziu *et al.*, 2005).

Un autre aspect de la mauvaise interprétation d'une analyse d'histopathologie pour quantifier la stéatose consiste à surestimer ou sous-estimer grandement la quantité de lipides présents au sein de l'échantillon. Comme il a été expliqué auparavant, l'analyse histopathologique offre deux approches pour quantifier les lipides, soit la méthode semi-quantitative et la méthode quantitative. La méthode semi-quantitative s'effectue par une observation visuelle au microscope où le pathologiste estime la surface de la lame occupée par les vacuoles lipidiques. La méthode quantitative utilise quant à elle des outils comme l'assistance par ordinateur pour compter le nombre de cellules atteintes, ou bien procéder à un rapport entre les pixels correspondant à la graisse et ceux correspondant aux cellules.

Dans une étude permettant de comparer les deux approches, où 75 échantillons ont été analysés, il a été découvert que les variations de pourcentage de surface des hépatocytes atteints varient grandement avec la méthode semi-quantitative, atteignant 134 % lorsque le grade de stéatose est de 1 (Franzen *et al.*, 2005). Par contre, en utilisant la méthode quantitative de comptage systématique des hépatocytes atteints en effectuant deux analyses distinctes du même échantillon, le coefficient de corrélation est très élevé (coefficient intra-classe (ICC) = 0,99). L'étude conclut que la méthode quantitative est de loin préférable pour mesurer avec plus de précision la gravité de la stéatose. Une autre étude s'est penchée sur la question pour en arriver au même résultat : des analyses à l'aveugle menées par trois pathologistes diffèrent jusqu'à 37 % en moyenne des analyses menées par ordinateur. Une différence importante dans l'estimation du grade de stéatose a aussi été observée entre différentes méthodes de coloration des tissus. Ce manque de précision pourrait avoir un impact majeur quant à la décision d'utiliser le foie analysé dans le cas d'une transplantation (Fiorini *et al.*, 2004).

En dépit de son utilisation très largement répandue, la biopsie comporte certains risques pour le patient pouvant mener à des complications dont la majorité est d'ordre mineur. Le Tableau V énumère les principales complications possibles de la biopsie, avec le pourcentage de risque associé, par exemple, après transplantation.

Tableau V : Liste des principales complications liées à la biopsie hépatique et leur incidence en pourcentage (Sheela *et al.*, 2005)

Douleur (au site de la biopsie, quadrant supérieur droit et à l'épaule droite) (environ 33 %)
Réponse vasovagale et chute transitoire de pression (pourcentage non-disponible)
Hémorragie intrapéritonéale (0,16 – 0,33 %)
Hémobilie (0,059 %)
Péritonite biliaire (0,06 – 0,09 %)
Perforation de la vésicule biliaire (0,117 %)
Perforation de l'intestin (0,044 %)
Sepsie bactérienne et formation d'abcès local (0,088 %)
Hématome intrahépatique et intracapsulaire (0,059 %)
Ponction du poumon : hémothorax ou emphysème sous-cutané (0,014 – 0,35 %)
Bris de l'aiguille biopsique (0,059 %)
Mort (0,009 – 0,12 %)
Pneumothorax

Par conséquent, plusieurs médecins hésitent à utiliser la biopsie, technique fortement invasive, seulement dans le but de diagnostiquer la maladie (Angulo, 2002). D'autres par contre encouragent son utilisation exclusive afin de déterminer une voie de traitement (Te Sligte *et al.*, 2004). Quoiqu'il en soit, plusieurs spécialistes se demandent si la biopsie, avec l'émergence de méthodes de moins en moins invasives, est aussi importante qu'auparavant. En fait, la biopsie comporte beaucoup d'inconvénients, notamment la douleur, une obligation de rester alité pendant au moins 6 heures et des risques minimes de mortalité (Castera *et al.*, 1999; Joy et Scott, 2003; Joy *et al.*, 2003). Concernant l'effet le plus désagréable, soit la douleur, il a été démontré que les médecins sous-estimaient souvent cette variable. Dans un échantillon de 30 patients à qui il a été demandé de grader la douleur à la suite d'une biopsie hépatique, la majeure partie des patients ont caractérisé

cette dernière comme étant bénigne à modérée (valeur moyenne de 30 sur une échelle de 1 à 100) (Castera *et al.*, 1999). De toute évidence, certains hépatologues surestiment les avantages de la biopsie en minimisant l'importance de la douleur.

Il n'en demeure pas moins que l'analyse d'histopathologie d'un échantillon de tissu prélevé par biopsie hépatique reste importante dans l'établissement du diagnostic, surtout depuis la multiplication des cas d'hépatite et de transplantation du foie. Aujourd'hui, l'histopathologie influence l'évaluation clinique dans 8 à 14 % des cas de maladies hépatiques, la gestion du traitement dans 12 à 18 % des cas et la fréquence du monitoring des tests de fonction hépatique dans 36 % des cas (Sparchez, 2005).

Finalement, malgré la forte tendance à surestimer la graisse, les résultats histopathologiques semblent malgré tout bien corrélés avec les résultats de SRM, les études mentionnées auparavant en faisant foi. D'autres travaux sur le même sujet, comme ceux menés par Thomsen *et al.*, aboutissent au même constat ($r = 0,897 \pm 0,001$, $n = 10$) (Thomsen *et al.*, 1994). Combinés avec l'analyse de paramètres biochimiques sanguins et les images microscopiques, le diagnostic de stéatose s'en trouve renforcé (Brunt *et al.*, 2004).

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Sujets impliqués

Au total, 34 sujets ont participé au projet. De ce nombre, 17 sont des volontaires sains (7 hommes, 10 femmes, moyenne d'âge de 43 ± 16 ans) recrutés à l'aide d'annonces par affiche et sur Internet parmi la population de l'Hôpital Saint-Luc du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) et de l'Université de Montréal ou via des connaissances. Les 17 autres participants (14 hommes, 3 femmes, moyenne d'âge de 54 ± 11 ans) sont des patients recrutés au Service d'hépatologie de l'Hôpital Saint-Luc du CHUM ayant tous été diagnostiqués avec une stéatose hépatique de degré d'incidence varié à l'aide d'une analyse histopathologique d'un échantillon de tissu prélevé par biopsie hépatique transcutanée au trocart. Tous les participants ont consenti à signer un formulaire de consentement éclairé expliquant précisément les enjeux du projet et les implications liées à l'expérimentation. Ce formulaire a été approuvé par le Comité scientifique et d'éthique de la recherche du CHUM. Pour chacun des sujets, l'IMC a été calculé à partir de leur taille et de leur poids mesurés le jour même de l'examen.

2.1.1. Critères d'inclusion

Les critères permettant d'inclure un volontaire sain dans le projet est l'absence de maladie connue du foie et le sujet doit être âgé entre 18 et 75 ans, la fonction hépatique commençant à décliner après cet âge. Pour les patients, les critères sont un diagnostic positif à la stéatose hépatique après examen histopathologique; cet examen doit être effectué au maximum six semaines après la biopsie. De plus, le patient doit être âgé également entre 18 et 75 ans.

2.1.2. Critères d'exclusion

Tout patient ou volontaire étant claustrophobe et possédant un implant métallique ou un stimulateur cardiaque, et dont le poids est supérieur à 115 kg ne peuvent participer à l'étude puisqu'ils contreviennent aux critères de sécurité de l'examen de RM.

Tout patient qui a consommé des médicaments reconnus comme ayant un potentiel hépatotoxique dans les trois mois précédant l'examen de RM ne peut participer à l'étude. Tout patient ayant une maladie du foie autre qu'une simple stéatose, comme l'hépatite A, B ou C, ne peut, sauf avis contraire, participer à l'étude, puisque des biais d'interprétation risquent de contrecarrer les analyses.

Tout volontaire dont l'indice de masse corporelle (IMC) excède les 30 kg/m² ne peut participer à l'étude. L'IMC se définit comme étant le quotient du poids corporel (en kilogrammes) et de la taille corporelle au carré (en mètres carrés). Cette valeur a été décrétée par l'Organisation Mondiale de la Santé comme étant la valeur seuil du diagnostic d'obésité. De plus, les sujets sains dont la consommation d'alcool dépasse les 28 unités¹ par semaine ne peuvent participer à l'étude. Tout volontaire consommant des drogues illégales ou qui a consommé un médicament potentiellement hépatotoxique ne peut participer à l'étude.

2.2. Analyse histopathologique

Afin de déterminer l'éligibilité du patient au projet, le rapport d'analyse histopathologique, spécialement le diagnostic de stéatose, effectué par l'équipe du Service de pathologie de l'Hôpital Saint-Luc du CHUM, a été passé en revue afin de s'assurer qu'aucun critère n'empêchait le sujet de participer à l'étude. La biopsie a été effectuée entre un et trois mois avant l'examen radiologique. Toutes les lames ont ensuite été soumises à deux pathologistes du CHUM qui ont effectué une analyse histopathologique des lames en aveugle, en portant une attention particulière sur le pourcentage de stéatose.

À noter que dans ce projet, l'échelle de Brunt a été utilisée pour déterminer le grade de nécroinflammation et le stade de fibrose de la stéatose. Bien que fournissant une grande quantité d'informations, l'échelle de Brunt n'est pas en mesure de pouvoir mesurer la quantité de graisse directe dans l'échantillon histologique. Il faut donc se fier au pourcentage d'hépatocytes atteints.

¹ Une unité d'alcool correspond à 10 grammes d'alcool pur, soit un verre de vin 12% (10 cl) ou un verre de bière 5% (25 cl). En moyenne, une unité d'alcool pure est éliminée en une heure environ par le foie.

Deux types de données histopathologiques sont recueillies à partir de l'observation de lames colorées à l'hématoxyline éosine (HE) et à l'acide périodique de Schiff (APS), deux méthodes de coloration qui mettent en évidence les hépatocytes en oxydation. La première provient du rapport d'histopathologie visuel effectué par le pathologiste, ce qui constitue un ensemble de données semi-quantitatives sur le pourcentage de stéatose. Ce pourcentage est établi en fonction du nombre d'hépatocytes atteints par des gouttelettes lipidiques dans leur cytoplasme. Le deuxième type de données est recueilli à partir de photographies prises en haute résolution des lames contenant le tissu hépatique fixé avec le colorant d'HE, à l'aide d'un microscope doté d'une caméra numérique à haute résolution. Lors de la fixation du tissu, la graisse est dissoute, laissant des lobules pâles là où il y avait les sites d'amas graisseux avant le lavage. Afin d'analyser les images numérisées des lames, l'expertise de M. Claude Kauffmann, chercheur en traitement d'images médicales au Département de radiologie de l'Hôpital Notre-Dame du CHUM, a été mise à contribution pour créer un algorithme de segmentation automatique des vacuoles de graisse dans des coupes histologiques du foie. Cet algorithme a été créé à l'aide du logiciel *MATLAB®* (*Mathworks Inc*). L'annexe 5 explique en détails la démarche d'analyse de cet algorithme.

Les paramètres suivants ont été retenus à partir de l'analyse histopathologique : le pourcentage de stéatose, tel que déterminé par le pathologiste et l'algorithme de segmentation d'images, l'origine de la stéatopathie (alcoolique ou non alcoolique) et finalement, le type de stéatose, soit macro ou micro vésiculaire.

2.3. Utilisation de bioessais

En plus de l'examen de SRM, les patients devaient se présenter pour une prise d'échantillons sanguin et urinaire le même jour. Ces prélèvements ont été effectués par le Centre de prélèvements de l'Hôpital Saint-Luc du CHUM. Fait à noter, un seul patient a refusé de subir les prélèvements d'échantillons sanguins et urinaires. Les patients devaient demeurer à jeun 12 à 14 heures avant la collecte. Trois échantillons sanguins veineux (de 3 à 4 ml chacun) ont été recueillis chez chaque patient, le premier contenant le sang en entier, le deuxième contenant du plasma et de l'héparine, et le troisième contenant le sérum et l'héparine. Les échantillons contenant le sérum ont été centrifugés et le surnageant conser-

vé. Tous les échantillons ont été congelés à -80 degrés Celsius pour des analyses futures de RMN.

L'analyse biochimique sur ces échantillons a permis de mesurer les espèces biochimiques suivantes : glucose à jeun, créatinine, bilirubine totale, albumine, fer/transferrine, ferritine, cholestérol, triglycérides, lipoprotéines à haute densité (HDL), lipoprotéines à basse densité (LDL), hémoglobine A1C (HBA1C) et fructosamine. Les activités enzymatiques ont été mesurées pour la phosphatase alcaline, l'alanine aminotransférase (ALT) et l'aspartate aminotransférase (AST). Le temps de prothrombine a aussi été déterminé.

Le Tableau VI résume les principales fonctions hépatiques assumées par ces espèces biochimiques. Parmi ces espèces, l'AST et l'ALT sont les deux plus importantes dans la détection directe de l'origine de la stéatose, soit la SHA ou la SHNA. En effet, un ratio AST/ALT inférieur à 1 suggère une SHNA alors qu'un ratio supérieur ou égal à 2 suggère une SHA (Sorbi *et al.*, 1999; Neuschwander-Tetri et Caldwell, 2003; Giannini *et al.*, 2005).

Tableau VI : Les marqueurs biochimiques clés dans les systèmes hépatiques et leur fonction (Giannini *et al.*, 2005)

Système ou fonction	Marqueur	Site d'origine ou signification	Fonction
Intégrité de l'hépatocyte	Aspartate aminotransférase (AST)	Foie, muscle squelettique du cœur, rein, cerveau, globule rouge	Catabolisme des acides aminés, permettant à ceux-ci d'entrer dans le cycle du citrate
	Alanine aminotransférase (ALT)	Foie	
Cholestase	Phosphatase alcaline (PAL)	Os, intestin, foie, placenta	Enzyme canaliculaire jouant un rôle dans la synthèse de la bile
	γ -Glutamyl transpeptidase (GGT)	Les niveaux corrélés avec la phosphatase alcaline indiquent une origine hépatobiliaire	Catalyse le transfert du groupement γ -glutamyl des peptides vers d'autres acides aminés; métabolisme du glutathion
	Bilirubine	Une élévation indique un désordre hépatique ou extra hépatique	Produit de l'hémolyse; absorbée par les hépatocytes et conjuguée aux produits solubles de la bile
Fonction hépatique	Albumine sérique	Diète ou foie	Le foie synthétise l'albumine
	Temps de prothrombine	Le foie synthétise les facteurs de coagulation dépendant de la vitamine K	Les sels biliaires sont synthétisés dans le foie et sont nécessaires à l'absorption de la vitamine K

Une deuxième série de marqueurs porte l'appellation de test de la fonction hépatique. La variation de leur quantité dans le sang est donc un indicateur de désordre hépatique découlant des conséquences de la stéatose sur l'organe, plus particulièrement sa capacité de synthèse de marqueurs. Deux d'entre eux, l'albumine et le temps de prothrombine, entrent dans cette catégorie. L'albumine sérique étant synthétisée par le foie et ayant une longue demi-vie (aux alentours de 20 jours), il y a diminution de sa concentration lorsque le foie est atteint par une surcharge en graisse. Quant à la prothrombine, étant associée aux facteurs de coagulation, sa quantité va augmenter lorsqu'il y aura une présence soutenue de fibrose dans le tissu (Giannini *et al.*, 2005).

Une troisième série de marqueurs consiste au bilan lipidique. Ces marqueurs sont les triglycérides, les lipoprotéines à haute densité (HDL), les lipoprotéines à basse densité (LDL), les lipoprotéines à très basse densité (VLDL) et le cholestérol. Ces éléments biochimiques servent à mesurer indirectement la présence de lipides dans le foie. Finalement, puisque l'hyperinsulinémie est une cause directe de stéatose, la mesure des marqueurs de glycémie (glucose à jeun) et l'hémoglobine A1C (HBA1C) fournissent un indicateur efficace de stéatose (Te Sligte *et al.*, 2004; Zafrani, 2004; Angulo, 2002).

2.4. Paramètres de la SRM

Toutes les données de RM ont été acquises avec un imageur *Signa* 1,5 T de GE à l'Hôpital Saint-Luc du CHUM. Les sujets étaient étendus sur le dos et l'antenne réceptrice corps entier (*body coil*) a été utilisée. Trois voxels ont été répartis dans trois régions distinctes du foie (région supérieure, inférieure et centrale) en évitant les vaisseaux sanguins et les zones non homogènes du parenchyme. Toutes les acquisitions ont été faites en arrêt de respiration. En tout, neuf spectres ont été acquis, soit trois par voxel. Chaque acquisition spectrale a duré 19 secondes. La séquence d'acquisition est basée sur le protocole *PROBE SV* (*PROton Brain spectroscopy Exam / Single Voxel*) de GE. Ce protocole a été effectué en utilisant la séquence de suppression d'eau *CHESS* suivie de la séquence *PRESS*.

La taille de chaque voxel était de 8 cm^3 . Les paramètres d'acquisition de la SRM ont été les suivants : TE, 30 ms; TR, 1200 ms; largeur de bande spectrale, 2500 Hz; nombre de scans, 16; aucune suppression d'eau. Pour chaque spectre, la valeur du DC du pic de

l'eau et du pic de lipides, ainsi que la largeur des pics ont été déterminées avec l'aide du logiciel *SAGE* (*Spectroscopic Analysis by General Electric*, version 2005.1) de GE. Un référencement par rapport à l'eau, une apodisation de 15 Hz et une TF discrète ont été appliquées sur chaque FID. Les spectres obtenus ont subi une correction de phase automatique ou manuelle afin d'uniformiser la ligne de base. Par la suite, chaque spectre a été traité à l'aide du logiciel *LCModel 6.2* (Provencher, 1993) afin de déterminer le rapport lipides/(lipides+eau) (RLLE), soit le ratio entre l'intégrale du pic de lipides *versus* la totalité du spectre. Pour les lipides, les pics correspondant aux groupements CH₂ (1,3 et 2,0 ppm) et CH₃ (0,9 ppm) ont été quantifiés. Le logiciel a été paramétré de façon à optimiser l'analyse sur la quantification des lipides (à l'aide du paramètre d'entrée *SPTYPE = liver-1*), tel que conseillé par M. Stephen Provencher, concepteur du logiciel. Le RLLE a été ensuite corrélé avec les autres valeurs numériques, soit celles issues de l'IRM, de l'histopathologie et des paramètres biochimiques.

Finalement, les valeurs du pourcentage de la fraction d'eau et de graisse ont été corrigées pour éliminer l'effet T₂ dû à l'interaction spin-spin et des inhomogénéités magnétiques. Cette correction s'est effectuée en appliquant une constante *k* exponentielle sur les valeurs (correspondant à l'intégration des pics de l'eau et de lipides corrigés en T₂). La formule de l'Équation 13 a été utilisée avec un temps de relaxation T₂ moyen de 50 ms pour l'eau et 60 ms pour la graisse (Szczepaniak *et al.*, 2005). Le TE est celui implanté dans la méthode d'acquisition, soit 30 ms.

$$I_m = I_0 \cdot e^{\left(\frac{-TE}{T_2}\right)} \quad (\text{Équation 13})$$

Dans l'Équation 13, la constante *k* correspond au paramètre de l'exponentielle *e* dans l'équation, alors que le paramètre I_m correspond à la valeur corrigée de RLLE. Le paramètre I₀ désigne la valeur brute de RLLE avant l'application de la correction T₂.

2.5. Paramètres de l'IRM

2.5.1. Paramètres de l'IPD

La séquence d'acquisition EPI de GE a été utilisée pour l'IPD et répétée cinq fois. Toutes les acquisitions de diffusion ont été effectuées en arrêt de respiration. La durée d'acquisition pour une séquence était de 18 secondes. Cinq facteurs b ont été utilisés, soit $b = 0, 100, 200, 300$ et 400 sec/mm^2 . Les paramètres de la séquence EPI ont été configurés comme suit : TR, 3500 ms; TE, 85 ms; champ d'observation, $38 \times 38 \text{ cm}^2$; matrice, 96×128 ; largeur de bande, 62,5 kHz. Seize tranches axiales couvrant le foie en entier, chacune ayant une épaisseur de 7 mm et espacée de 3 mm, ont été captées par l'imageur. À partir de ces tranches, trois ROI de $5,7 \text{ cm}^2$ d'aire ont été positionnées au même endroit que les voxels de SRM.

Le CDA pour chaque facteur b a été calculé avec l'aide du logiciel *FUNCTOOL 2* de GE. Les paramètres par défaut ont été utilisés avec un facteur $p < 0,05$. Sur chacune des cartes colorimétriques produites, une région d'intérêt a été tracée sur la tranche centrale de la série d'images avec un algorithme de voisinage de pixels fourni par le logiciel permettant de couvrir tout le foie. La valeur moyenne et l'écart-type du CDA ont été automatiquement calculés.

Parallèlement au calcul du CDA avec le logiciel *FUNCTOOL*, un calcul manuel du CDA a été effectué en utilisant le logarithme naturel du rapport entre les valeurs d'intensité de l'image auxquelles est appliqué le gradient b et celles de l'image T_2 sans gradient. Pour les cinq facteurs b , un graphique en nuages de points a été créé dans le logiciel *Excel™* de Microsoft©, et une régression linéaire simple a servi pour calculer le modèle de la courbe, afin de déterminer le CDA (soit moins la pente négative de la droite linéaire). Cette démarche a été appliquée pour les trois voxels, et une moyenne globale du CDA a servi dans les calculs statistiques avec les autres données de RM.

2.5.2. Paramètres de l'IDÉ

La séquence d'acquisition SPGR rapide a été utilisée pour capter une série de 13 tranches couvrant le foie en entier, chacune ayant une épaisseur de 7 mm et un espace entre chacune de 3 mm. Cette acquisition a encore une fois été effectuée en arrêt de respiration et a duré 17 secondes. Les paramètres de la séquence sont : TR : 140 ms; TE : 2,2 et 4,4 ms; champ de vue : 36 X 36 cm²; matrice : 256 X 160; angle de nutation : 90°; largeur de bande : 62,5 kHz. Les images ont été analysées à l'aide du logiciel *Advantage Workstation 4.1* de GE. En se basant sur les coordonnées spatiales des trois voxels de SRM, trois cercles ayant une aire de 5,7 cm² en moyenne ont été positionnés à l'endroit exact où était localisé chaque voxel de SRM. Deux valeurs moyennes d'intensité calculées par le logiciel à partir des pixels inclus dans cette région ont été extraites, soit la valeur d'intensité du signal double-écho en phase et la valeur du signal hors-phase. Ainsi, les trois séries de valeurs ont servi à calculer la FG pour chaque voxel. La valeur moyenne de FG pour le foie en entier a aussi pu être calculée grâce à l'utilisation de l'algorithme de voisinage des pixels expliqué dans la section « Paramètres de l'IPD ».

Finalement, les valeurs de RLLE ont été corrigées pour éliminer l'effet T₂* dû à l'interaction spin-spin et des inhomogénéités magnétiques. Cette correction s'est effectuée en appliquant une constante de correction k sur les valeurs d'intensité. Comme dans l'Équation 13, la constante k provient de la fonction exponentielle en base naturelle qui a comme paramètre la différence de TE entre l'acquisition en phase et celle hors phase, et le paramètre T₂*. Ce dernier est calculé à partir des valeurs d'intensité obtenues dans les images d'IGÉ. Finalement, en incorporant les nouvelles constantes (soit k_i pour la constante de correction des valeurs d'intensité en phase et k_o pour les valeurs d'intensité hors-phase) dans la formule de Dixon, et en factorisant, la formule résultante (Équation 14) est celle qui calcule les valeurs de FG corrigées.

$$FG = \frac{1}{2} - \left(\frac{k_o}{k_i} \times \frac{S_o}{2S_i} \right) \quad (\text{Équation 14})$$

2.5.3. Utilisation de l'IGÉ et la surcharge en fer

Une conséquence de la stéatopathie, indépendamment de son origine, est l'hémochromatose, ou la surcharge en fer. Cette pathologie n'est pas systématiquement reliée à la stéatopathie et se manifeste à divers degrés. Les mécanismes qui déclenchent la surcharge en fer sont encore mal compris à ce jour, mais l'obésité, liée aussi à la stéatose, est un facteur étiologique majeur (Powell *et al.*, 2005). Chose certaine, une grande quantité de fer présente dans le foie lors de l'acquisition du signal cause une dégradation significative du RSB et ce, autant dans le cas de l'IPD (Aubé *et al.*, 2004) que l'IDÉ (Westphalen *et al.*, 2007).

Afin de mesurer la prépondérance de l'hémochromatose chez chacun des patients, et ce, de manière non-invasive, quatre séquences d'IGÉ, chacune ayant une impulsion RF avec un angle de basculement différent, ont été ajoutées au protocole suivant les paramètres d'acquisition mis au point par l'équipe du Dr. Gandon et Olivie (Gandon *et al.*, 2004). La durée d'acquisition pour chacune des séquences a été de 15 secondes. Les valeurs d'intensité du foie et des muscles dorsaux ont été mesurées, comme pour l'IDÉ, avec le logiciel *Advantage Workstation 4.1* de GE, en utilisant cinq aires circulaires ayant au minimum 1,0 cm² et positionnées de façon à éviter tout artéfact ou vaisseaux sanguins. Les valeurs moyennes d'intensité pour chacune des séquences ont été implantées dans une matrice de calcul disponible à la page web de l'équipe de recherche du Dr. Gandon². Le résultat du calcul effectué par l'algorithme donne une valeur numérique de concentration en fer en µmol/g. Selon le protocole, il y a hémochromatose si cette valeur dépasse les 35 µmol/g.

2.6. Analyse des données

Les données ont été compilées dans le logiciel *Excel*TM de Microsoft©. Pour les tests statistiques, le logiciel *SPSS*TM 16 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) a été utilisé. Les données ont été transformées par des fonctions logarithmiques naturelles ou des racines carrées afin de respecter autant que possible la normalité. La normalité des variables a été évaluée

² <http://www.radio.univ-rennes1.fr/Sources/FR/HemoCalc15.html>

par des tests de Kolmogorov-Smirnov. Des analyses de variance (ANOVA) de type univarié, des tests de Student et l'utilisation de diagrammes de surfaces (*boxplots*) ont été utilisés pour déterminer les différences de moyenne entre le groupe des volontaires et des patients. Une régression linéaire simple a été menée pour calculer les valeurs de CDA. Le test de Pearson a été utilisé pour déterminer le degré de corrélation entre les divers types de données. Une analyse de Bland-Altman a servi pour évaluer le degré de concordance entre les méthodes de RM (RLLE et FG) ainsi que les données d'histopathologie (données de segmentation et pourcentage de stéatose déterminé par les deux pathologistes en aveugle). Les paramètres de chaque test sont expliqués en détail dans la section des résultats.

3. RÉSULTATS

3.1. Profil des sujets de l'étude

Le Tableau VII présente les valeurs moyennes des paramètres mesurés chez tous les sujets. Un test *t* indépendant de Student a été effectué avec le critère d'appartenance au groupe des volontaires ou des patients afin de déceler toute différence de moyennes significative. Ces paramètres ont par la suite été corrélés entre eux et cette section présente ces différentes corrélations.

Tableau VII: Caractéristiques démographiques et résultats de RM, moyennes et seuil de signification au test *t* indépendant de Student des paramètres évalués pour les sujets recrutés

Paramètres évalués	Sujets contrôles n = 17	Patients n = 17	<i>p</i> ($\alpha = 0,05$)
Hommes/Femmes	8/9	14/3	-
Âge (ans)	41 ± 16	54 ± 11	0,004
IMC (kg/m ²)	23,7 ± 2,9	27,6 ± 3,9	0,001
SHA/SHNA	-	5/12	-
RLLE (%) issu de la SRM	1,39 ± 1,34	17,8 ± 10,0	< 0,001
CDA (x 10 ⁻³ mm ² /s) issu de l'IPD	2,01 ± 0,68	1,96 ± 0,50	0,842
FG (%) issue de l'IDÉ	-0,49 ± 1,60	17,27 ± 10,33	< 0,001
FG (%) issue de l'analyse algorithmique des lames histologiques	-	16,20 ± 9,55	-

Parmi les patients recrutés, une tendance marquée dans le bassin de population de patients disponibles pour notre étude était la prépondérance de candidats masculins. Il y a donc presque 5 fois plus d'hommes que de femmes parmi les patients qui ont participé, ce qui n'était pas le cas pour les sujets contrôles. Le but de l'étude étant de quantifier la graisse, nonobstant la catégorie de stéatose (SHA ou SHNA), tous les patients ont été considérés comme un seul et même échantillon.

Hormis la différence significative dans le rapport hommes/femmes, il y a une différence significative de moyenne au niveau de l'âge, de l'IMC, du RLLE et de la FG issue de

l'IDÉ. Seul le paramètre du CDA ne démontre pas la capacité de déceler une différence de moyenne entre les patients et les sujets contrôles.

3.2. Résultats de résonance magnétique

3.2.1. Analyse des groupes témoins et expérimentaux

L'utilisation de diagrammes de surfaces (*boxplots*) a permis d'établir si les données principales issues de la SRM, soit les valeurs de RLLE, étaient significativement différentes chez les volontaires et les patients. La Figure 25 représente ce diagramme.

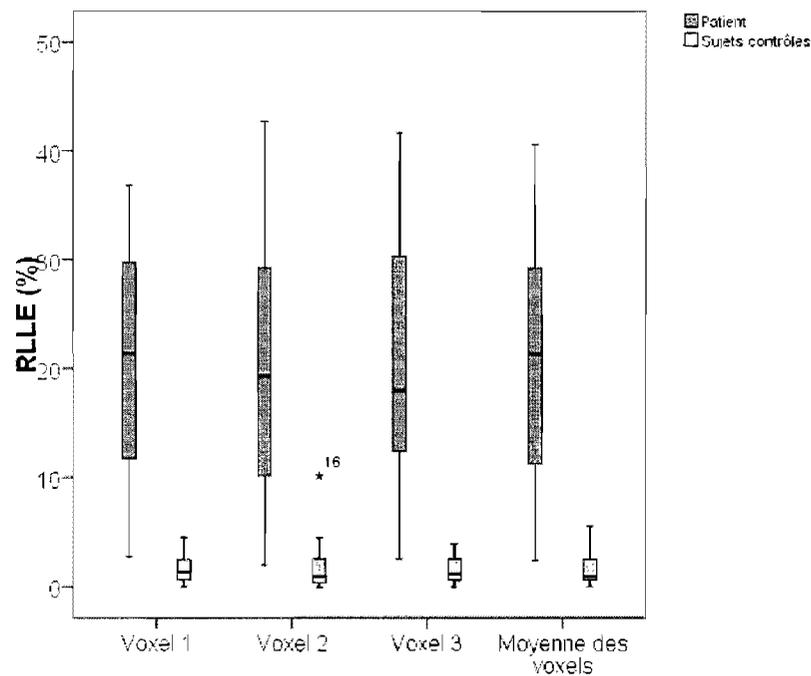


Figure 25: Diagramme de surfaces comparant les valeurs de RLLE dans chacun des trois voxels placés dans le foie, ainsi que pour la moyenne des trois voxels pour les patients atteints de stéatose et pour les sujets contrôles. Chaque rectangle représente la variance pour chaque variable, et les extrémités des barres latérales représentent les valeurs minimum et maximum. La barre centrale contenue dans le rectangle est la médiane. L'étoile représente un cas extrême décrété par le logiciel. Le chiffre réfère au numéro du sujet.

Le graphique ci-dessus illustre les variations des distributions des données pour chacune des variables. Ainsi, la variance est beaucoup plus prononcée chez les patients que chez les volontaires. De plus, les deux types de boîtes ne se chevauchent pas, témoignant de la différence significative des valeurs respectives à chacun des groupes de sujets pour chaque variable. Chez les patients, la variance (taille ou surface du rectangle) pour les quatre catégories de la variable des voxels demeure sensiblement la même (le test d'homogénéité de variance de Levene étant non significatif avec un $p = 0,910$), et il en est de même pour les volontaires ($p = 0,392$). Le cas du volontaire numéro 16 est particulier, étant considéré comme un cas extrême dans le cas du 2^e voxel et une valeur aberrante dans les moyennes des trois voxels.

De la même manière, un diagramme de surface catégorisant les voxels en fonction de la FG calculée à partir des intensités de surface des images d'IDÉ correspondant à ces derniers est illustré à la Figure 26. La même description que pour la Figure 25 s'applique ici. Le critère d'homoscédasticité est respecté pour toutes les catégories de la variable « Voxels », indépendamment du fait que la valeur de la variable soit classée dans le groupe des patients (statistique de Levene non significative pour un $p = 1,00$) ou des volontaires ($p = 0,439$). Dans le voxel 1 chez les patients contrôle, une valeur aberrante est obtenue pour le volontaire #1. Par contre, n'étant pas étiqueté comme tel dans les voxels subséquents, il n'a pas été retiré de l'analyse. À noter que pour les volontaires, les valeurs négatives de FG doivent être interprétées comme des valeurs nulles puisque la correction en T_2^* n'a pas réussi à repondérer toutes ces valeurs au-dessus de zéro.

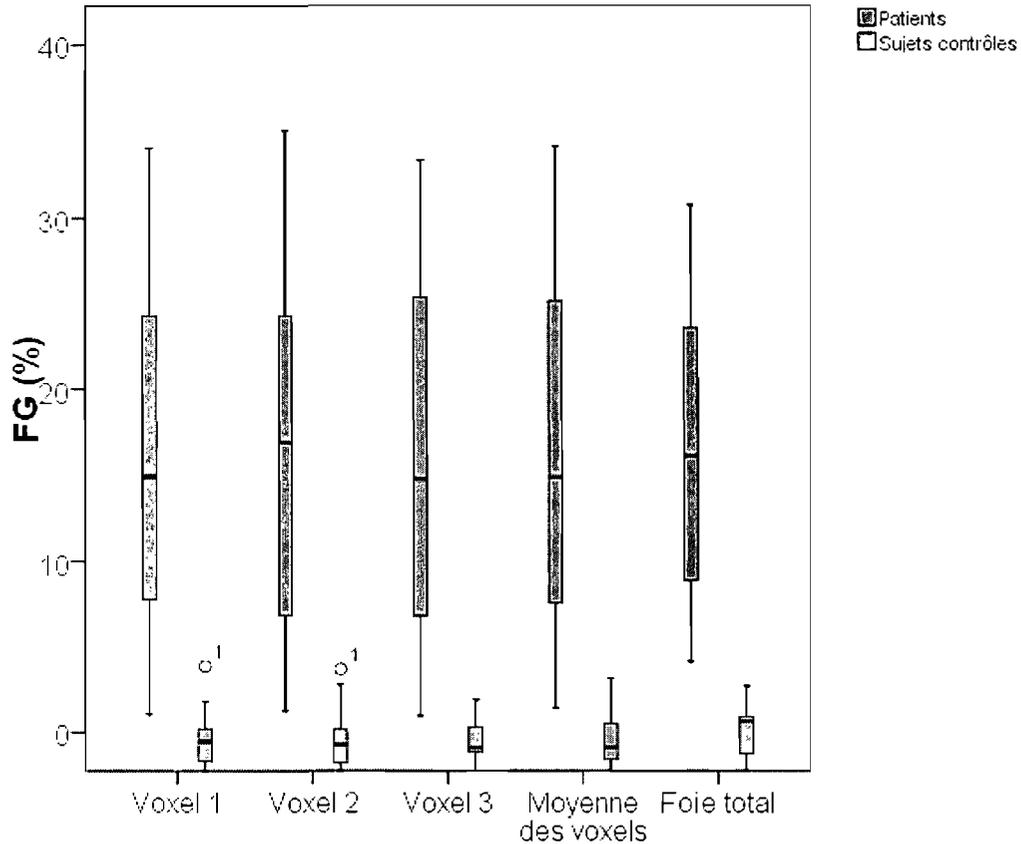


Figure 26 : Diagramme de surfaces comparant les valeurs de FG mesurées par IDÉ dans chacun des trois voxels placés dans le foie, ainsi que pour la moyenne des trois voxels et pour une ROI correspondant à l'aire totale du foie.

Un troisième diagramme de surfaces compare les données de CDA calculées à partir de l'IPD et chacun des voxels (Figure 27). L'homoscédasticité est respectée dans la catégorie des sujets contrôles. Le test de Levene demeure non significatif avec un $p = 0,636$ pour cette catégorie et un $p = 0,463$ pour les patients. Les boîtes se chevauchent également considérablement lorsque les deux catégories sont comparées. Finalement, la valeur aberrante présente dans le sous-groupe « foie total » est conservée aussi puisqu'elle n'apparaît pas dans les autres sous-groupes.

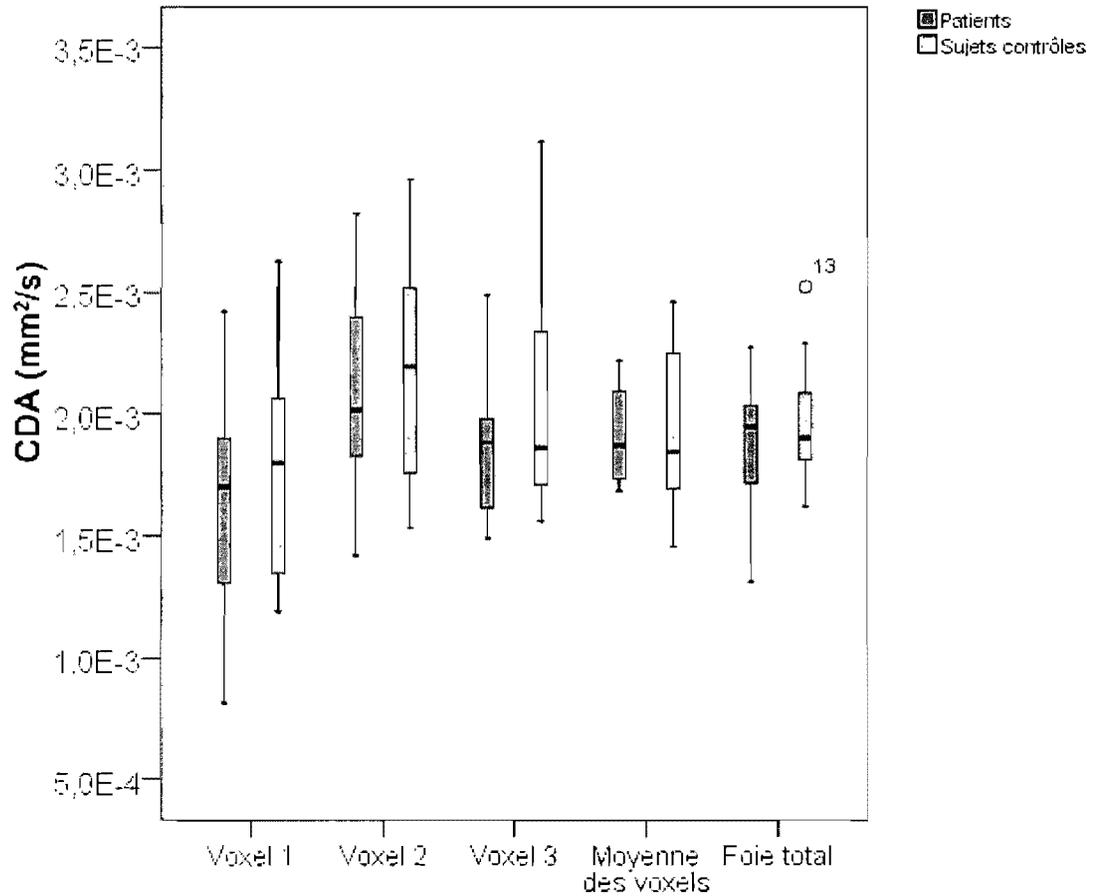


Figure 27 : Diagramme de surfaces comparant les valeurs de CDA mesurées par IPD dans chacun des trois voxels placés dans le foie, ainsi que pour la moyenne des trois voxels et pour une ROI correspondant à l'aire totale du foie.

Pour chacune de ces trois variables représentant les trois méthodes de RM servant à évaluer l'incidence de stéatose, une ANOVA à un facteur de trois niveaux a été menée de façon à discerner la présence ou l'absence de différence de moyenne pour les trois voxels. Le Tableau VIII résume les résultats et la signification du test pour chaque variable.

Tableau VIII: Résultats de l'ANOVA à un facteur de trois niveaux (voxels) pour les variables de RM ayant servi à évaluer la quantité de graisse dans le foie de tout l'échantillon ($n = 34$)

Variables	Statistique F (ddl)	p ($\alpha = 0,05$)
RLLE des patients	0,047 (50)	0,954
RLLE des volontaires	0,172 (50)	0,843
FG des patients	0,008 (50)	0,992
FG des volontaires	0,140 (50)	0,870
CDA des patients	5,829 (45)	0,006
CDA des volontaires	1,360 (35)	0,271

ddl = Degrés de liberté; p = degré de signification; α = seuil de signification

Selon le tableau VIII, une seule variable a échoué le test d'ANOVA, soit le CDA pour les patients, avec un $p = 0,006$. Un test *post hoc* de Bonferonni et un autre de Tukey ont donc été effectués sur cette variable afin de déceler quels sous-groupes possédaient les différences de moyennes significatives. Les deux tests arrivent à la même conclusion : les moyennes diffèrent le plus entre les voxels 1 et 2 ($p = 0,005$ dans les deux cas).

Pour corroborer la différence significative de moyennes entre le groupe des patients et le groupe témoin, un test t de Student indépendant a été effectué pour les séries de données de chaque voxel en fonction du critère d'appartenance au groupe témoin et expérimental, avec un degré de signification à 95%. Préalablement à ce test, la statistique de *Levene* a permis de déceler que l'homogénéité de variance n'était pas respectée dans la distribution des données, peu importe le voxel, en regroupant les 34 échantillons ensemble ($p < 0,001$ pour les trois voxels). Les résultats du test Student ont donc été compilés à partir

d'une transformation des variables afin de respecter l'homoscédasticité. Dans le cas des données de CDA, aucune transformation n'a été nécessaire puisque le test de Levene était non significatif ($p = 0,125; 0,985; 0,777$ pour les voxels 1, 2 et 3). Les données de FG ont été transformées selon l'inverse de la variable pour respecter l'homogénéité de variance. Finalement, il a été impossible de respecter l'homoscédasticité dans le cas de la variable RLLE, malgré les trois types de transformation de base (logarithme, racine carrée et inverse). La statistique t a donc été calculée selon une hétéroscédasticité. Le Tableau IX regroupe les résultats du test appliqué sur chaque voxel.

Tableau IX : Test de Student sur la différence de moyennes des valeurs observées de chaque variable de RM pour chacun des voxels avec comme critère l'appartenance au groupe témoin ou patients

	<i>Voxel 1</i>			<i>Voxel 2</i>			<i>Voxel 3</i>		
<i>S</i>	RLLE*	FG**	CDA	RLLE*	FG**	CDA	RLLE*	FG**	CDA
<i>t</i>	-6,096	-2,981	-0,304	-5,385	-3,951	0,879	-5,643	-2,951	0,163
<i>ddl</i>	16,218	32	25	16,578	32	24	16,157	32	27
<i>p***</i>	< 0,001	0,005	0,763	< 0,001	< 0,001	0,388	< 0,001	0,006	0,872

* Test de Levene échoué ($p < 0,001$) malgré les transformations de variable.

** Test t effectué à partir de l'inverse de la variable FG (1/FG).

*** Seuil de signification α fixé à 0,05.

S = Statistiques; t = Statistique de Student; *ddl* = degrés de libertés; p = degré de signification

Le Tableau X expose les liens statistiques existant entre les trois voxels pour chaque sujet, pour toutes les variables de RM. Pour ce faire, une analyse de corrélation linéaire bivariée utilisant le paramètre de Pearson a permis de conclure qu'il y a une corrélation très significative entre chacun des trois voxels pour la méthode de SRM et d'IDÉ, le paramètre r étant supérieur à 0,94 dans chacun des cas et le degré de signification p étant inférieur à 0,001 (pour un seuil de signification α fixé à 0,01). Cependant, seuls les voxels 2 et 3 ont un coefficient de Pearson significatif pour la méthode d'IPD.

Tableau X : Analyse de corrélation linéaire bivariée afin de tester la reproductibilité entre deux voxels de la méthode de SRM, d'IDÉ et d'IPD chez tous les sujets

<i>Voxels</i>		<i>RLLE</i>	<i>FG</i>	<i>CDA</i>
V1-V2	<i>r</i>	0,955	0,986	0,19
	<i>p</i> *	< 0,001	< 0,001	0,931
V2-V3	<i>r</i>	0,984	0,993	0,525
	<i>p</i> *	< 0,001	< 0,001	0,006
V3-V1	<i>r</i>	0,944	0,984	0,139
	<i>p</i> *	< 0,001	< 0,001	0,491

* Seuil de signification $\alpha = 0,01$

r = Coefficient de corrélation de Pearson; *p* = degré de signification

3.2.2. Comparaison entre la moyenne des trois voxels et la surface totale

Il a fallu évaluer la différence entre le fait de moyenner trois ROI situées à l'emplacement exact des voxels ou d'utiliser une seule ROI couvrant la surface totale du foie. Cette évaluation a été effectuée à l'aide d'un test Student apparié pour les valeurs de FG et de CDA. Dans le cas de la FG, il existe une corrélation de Pearson très forte et très significative ($r = 0,993$; $p < 0,001$). Pour le CDA, la corrélation est beaucoup moins forte, mais tout de même significative ($r = 0,388$; $p = 0,046$). Les deux tests de Student appariés n'ont pas détecté de différence de moyenne notable.

3.3. Bioessais

Le Tableau XI expose les principaux paramètres biochimiques ayant été mesurés à partir des échantillons sanguins, ainsi que leur valeur moyenne mesurée chez 16 patients (un sujet ayant refusé de subir les prises de sang). La valeur de référence (fournie par le Centre de prélèvements) est également indiquée pour chaque paramètre.

Tableau XI: Paramètres biochimiques mesurés chez les patients atteints de stéatose et leur valeur normale de référence

Bioessai	Valeurs mesurées*	Valeurs normales
Glucose à jeun (mmol/L)	6,54 ± 1,53	4,0-6,2
Créatinine (µmol/L)	80,3 ± 14,5	55-130
Bilirubine totale (µmol/L)	19,1 ± 8,9	7-23
Phosphatase alcaline (U/L)	84,5 ± 29,1	36-110
Aspartate aminotransférase (AST, U/L)	47,8 ± 16,7	10-40
Alanine aminotransférase (ALT, U/L)	60,8 ± 23,8	10-45
Temps de prothrombine selon le ratio normalisé international (RNI)	1,09 ± 0,17	0,9-1,2
Fructosamine (µmol/L)	245 ± 35	200-270
Hémoglobine A1C (%)	5,73 ± 1,18	4,4-6,0
Albumine (g/L)	44,0 ± 2,3	37-48
Fer sérique (µmol/L)	20,5 ± 10,8	9,8-26,3
Ferritine (µg/L)	340 ± 287	11-345
Transferrine (g/L)	2,78 ± 0,27	1,83-3,11
Triglycérides (mmol/L)	1,92 ± 1,69	0,49-2,82
Cholestérol (mmol/L)	4,96 ± 1,38	3,16-7,00
Lipoprotéines de haute densité (HDL, mmol/L)	1,25 ± 0,38	0,84-1,98
Lipoprotéines de basse densité (LDL, mmol/L)	2,79 ± 1,06	1,53-4,88
Lipoprotéines de très basses densités (VLDL, mmol/L)	0,92 ± 1,86	N/D

* Les valeurs mesurées sont les moyennes ± l'ÉT pour 16 patients, excepté le paramètre de VLDL qui a été mesuré chez 12 patients.

3.3.1. Valeurs d'ALT

Le Tableau XII présente les corrélations entre les valeurs d'ALT et les paramètres de RM. À noter que la corrélation de FG est très significative et que la valeur de CDA ne corrèle pas avec ce bioessai.

Tableau XII: Corrélations de l'activité de l'ALT sanguine et les variables de RM

Variable	<i>r</i>	<i>p</i>
RLLE	0,515	0,41*
FG	0,651	0,006**
CDA	-0,241	0,387

* Seuil de signification fixé à 0,05

** Seuil de signification fixé à 0,01

3.3.2. Bilan lipidique en fonction des données de SRM

Des analyses de corrélations linéaires bivariées de Pearson ont été menées avec chaque type de bioessai de nature lipidique chez les échantillons sanguins. De tous ces types de marqueurs, trois possèdent une corrélation significative ou très significative avec la variable RLLE (données spectroscopiques). Le Tableau XIII présente les résultats de ces corrélations.

Tableau XIII: Corrélations linéaires bivariées significatives du bilan lipidique avec les données spectroscopiques (valeurs moyennes des RLLE)

Bioessai	<i>r</i>	<i>p</i>
Cholestérol	0,747	0,001**
LDL	0,677	0,006**
LDL / HDL	0,576	0,025*

α : seuil de signification; r : coefficient de corrélation de Pearson; p : degré de signification

* Seuil de signification fixé à 0,05

** Seuil de signification fixé à 0,01

La Figure 28 démontre clairement la relation linéaire existant entre les valeurs de concentration du cholestérol sanguin et celles des RLLE moyens mesurés dans le foie.

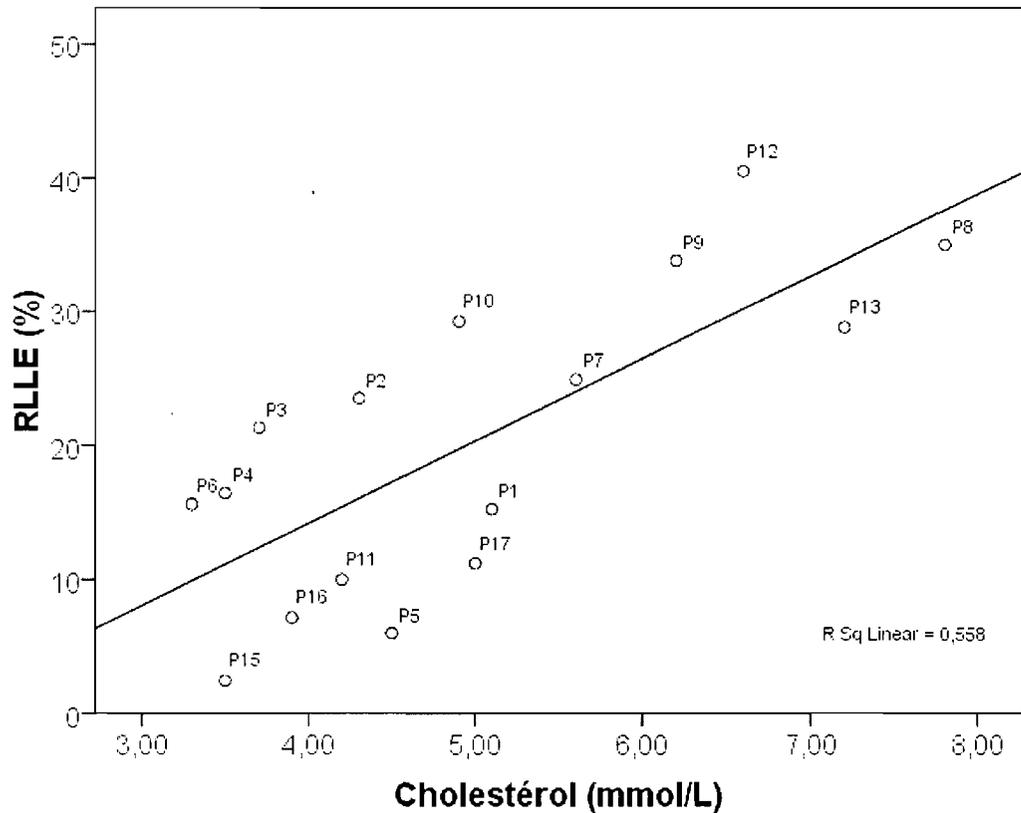


Figure 28: Diagramme en nuage de points illustrant la relation entre les valeurs de cholestérol sanguin et les données spectroscopiques des RLLE moyens calculés dans le foie. Les chiffres représentent les numéros de patient. *R Sq Linear* = coefficient R carré de linéarité.

3.3.3. Bilan lipidique en fonction des données d'IDÉ

De la même façon que pour les données spectroscopiques, il y a les mêmes corrélations significatives entre les bioessais et les valeurs de FG issues des données d'IDÉ. Le Tableau XIV expose les données de corrélations. Les autres bioessais ne corrèlent pas avec les valeurs de RM, expliquant leur absence dans les Tableaux XIII et XIV.

Tableau XIV : Corrélations linéaires bivariées significatives du bilan lipidique avec les données d'IDÉ (valeurs moyennes des FG)

Bioessai	r	p ($\alpha = 0,01$)
Cholestérol	0,798	< 0,001
LDL	0,693	0,004
LDL/HDL	0,504	0,056

α : seuil de signification; r : coefficient de corrélation de Pearson; p : degré de signification

La Figure 29 démontre la même corrélation linéaire existant entre les données de FG et la concentration sanguine de cholestérol. En comparant cette figure et la Figure 28, les valeurs de coefficients R^2 sont très similaires. Une corrélation entre les variables de RLLE et FG a donc été étudiée.

3.3.4. Corrélation entre les paramètres de RM mesurant la graisse hépatique

Une autre corrélation linéaire bivariée de Pearson a permis de démontrer la très forte relation entre les valeurs de SRM et celles d'IDÉ. Les RLLE calculés à partir des spectres ainsi que les FG calculées par la méthode de Dixon sur des images doubles échos sont représentés dans le graphique en nuage de points de la Figure 30. À cause de la très faible dispersion des points représentant le groupe des volontaires, ils ont été retirés du graphique. Le calcul du coefficient de Pearson ($r = 0,98$ avec un degré $p < 0,001$ pour un seuil $\alpha = 0,01$) témoigne du lien très fort unissant ces deux variables, pour les 34 sujets ayant participé à l'étude.

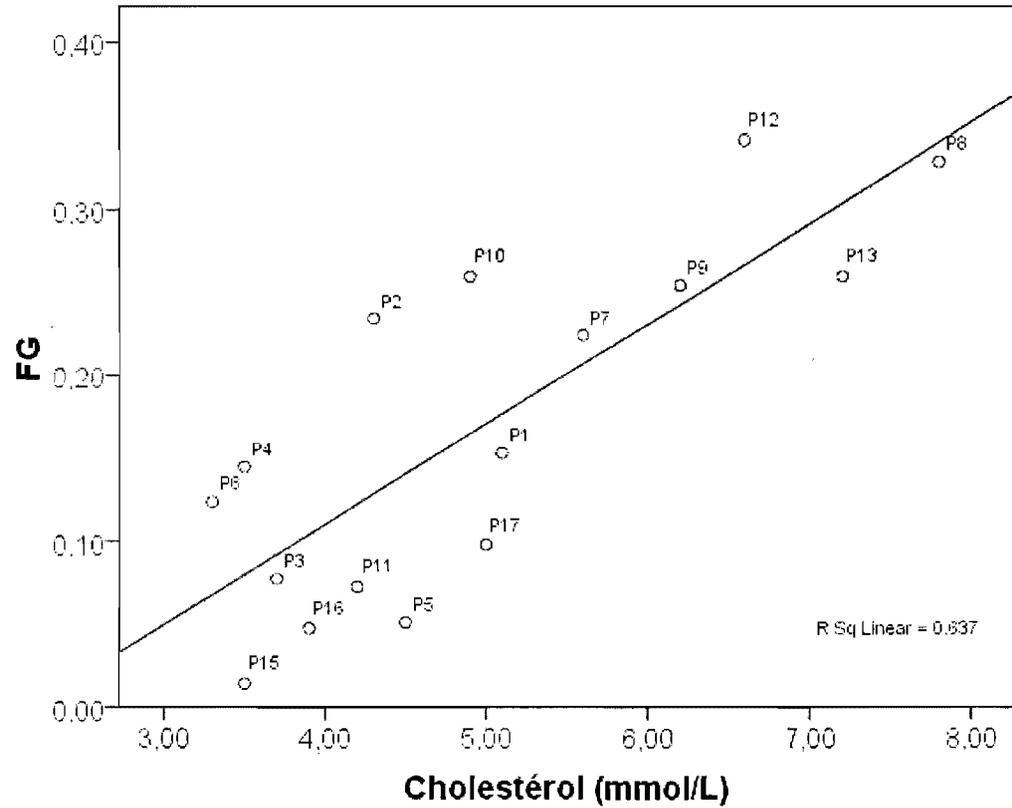


Figure 29 : Diagramme en nuage de points illustrant la relation entre les valeurs de cholestérol sanguin et les données d'IDÉ des FG moyennes calculées dans le foie. Les chiffres représentent les numéros de patient. *R Sq Linear* = coefficient R^2 de linéarité.

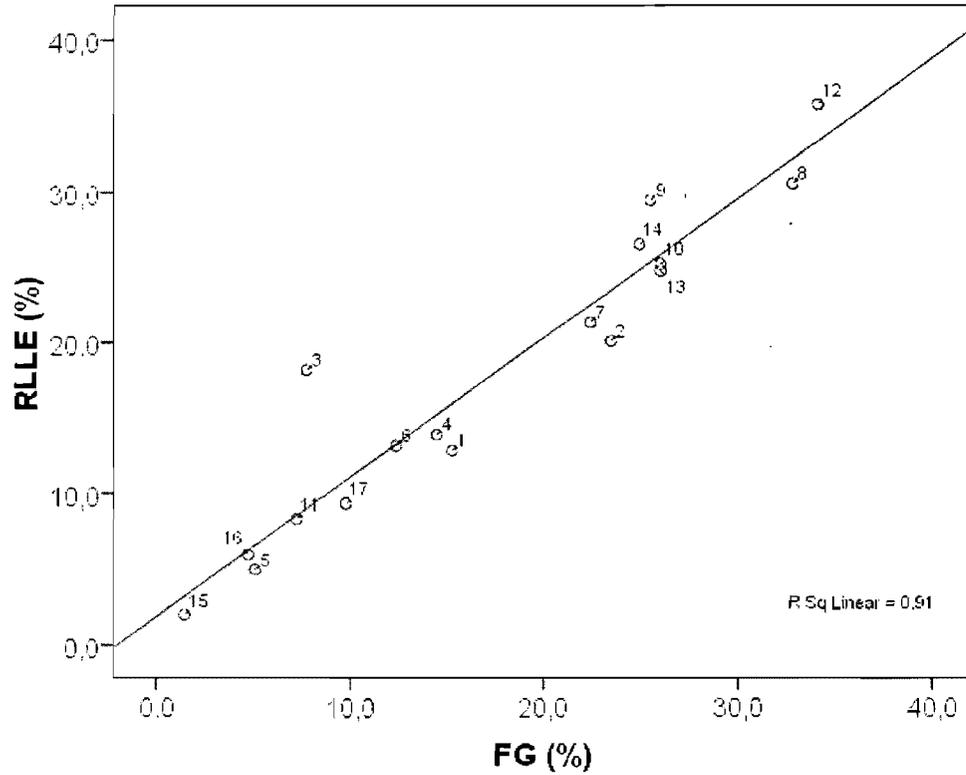


Figure 30 : Diagramme en nuage de points illustrant la très forte corrélation entre les valeurs moyennes de RLE et celles de FG issues des trois voxels pour les 17 patients ayant participé à l'étude. FG = moyenne de fraction de gras corrigée en T_2^* ; RLE = moyenne des rapports lipides/(lipides+eau) corrigés en T_2^* ; *R Sq Linear* = coefficient R^2 de linéarité.

Afin de mesurer le degré d'accord entre ces deux variables, la méthode de Bland & Altman a été utilisée pour évaluer cette similitude (Bland et Altman, 1986; Bland et Altman, 1999). Selon la méthode, la variable dépendante du graphique représente la différence entre les valeurs de RLE et celles de FG, et la variable indépendante représente la moyenne arithmétique de ces deux mêmes variables. La Figure 31 illustre donc le graphique résultant.

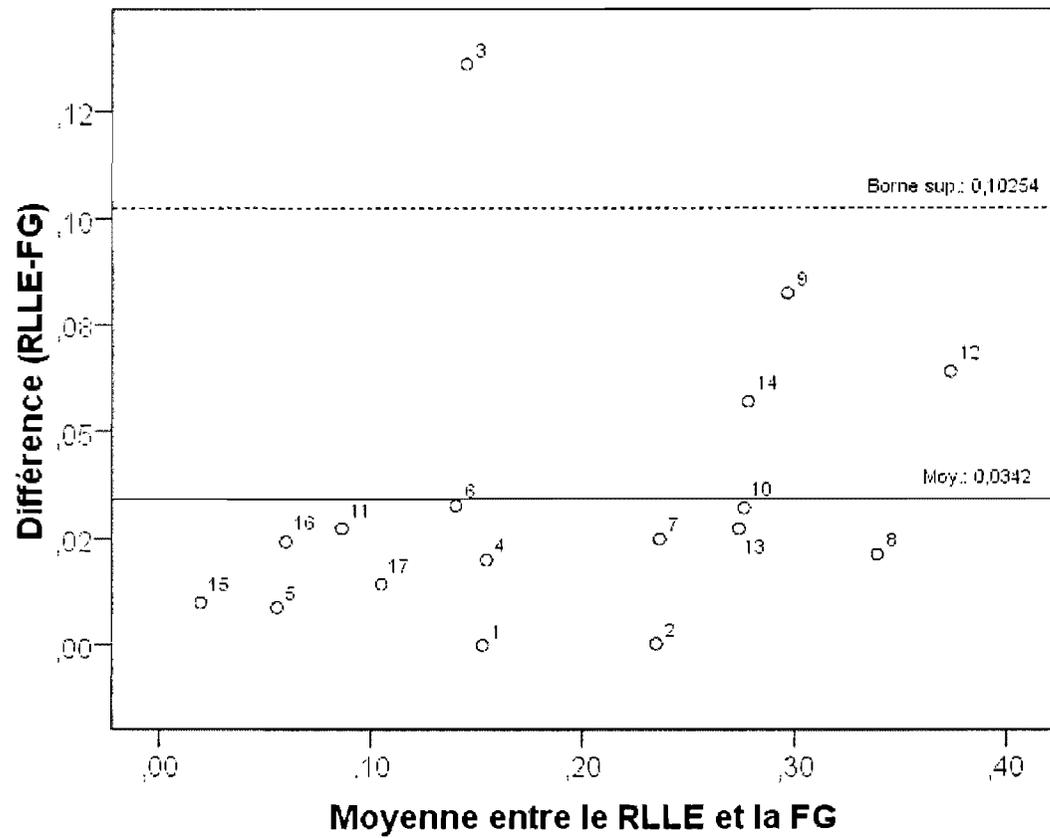


Figure 31: Graphe de Bland & Altman illustrant le degré d'accord entre les variables de SRM (la moyenne des RLLE pour trois voxels) et d'IDÉ (la moyenne des FG pour trois ROI ayant les mêmes coordonnées que les voxels). Les étiquettes correspondent aux numéros des patients. La borne supérieure représente la moyenne + 2 X l'écart-type σ .

Selon ce graphique, la variable de RLLE est égale à la variable de FG plus 3,4% chez les patients. De plus, un point est situé à l'extérieur de la zone de confiance (P3). Cette valeur est considérée comme aberrante. Finalement, la différence entre les deux méthodes chez les patients est relativement équilibrée et demeure constante même si la moyenne des valeurs de quantité de graisse augmente.

3.4. Histopathologie

3.4.1. Analyse des données de RM en fonction d'une échelle de stéatose

La Figure 32 démontre, sous forme de diagramme de surface, la distribution des valeurs d'observations de la variable de moyenne des RLLE pour les trois voxels en fonction d'une échelle de stéatose arbitraire qui a été catégorisée en 4 échelons à partir des observations quantitatives et qualitatives provenant de chaque rapport de pathologie des patients. La valeur en pourcentage des hépatocytes contenant des vacuoles lipidiques a servi comme critère de gradation de l'échelle.

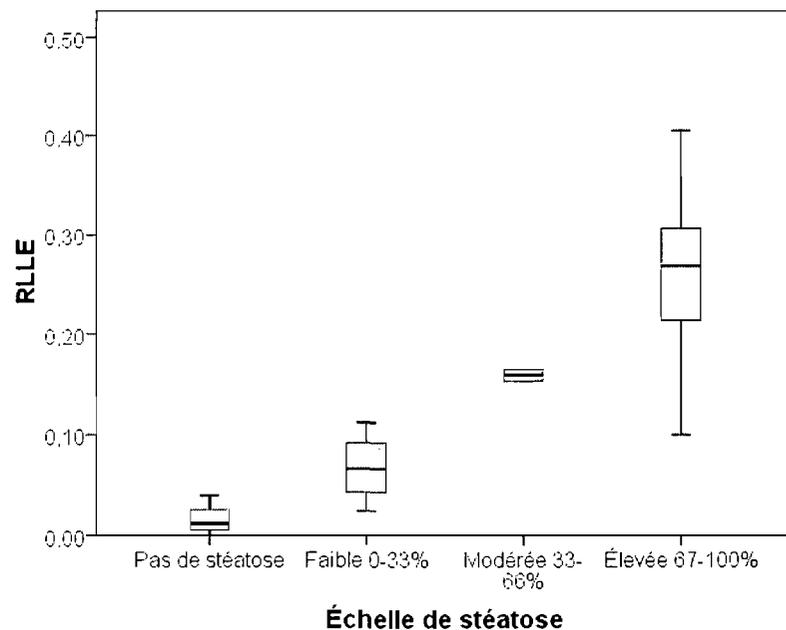


Figure 32: Diagramme de surface montrant la dispersion des valeurs observées du RLLE moyennées des trois voxels en fonction d'une échelle de stéatose arbitraire subdivisée en quatre sous-groupes de gradation.

Une analyse de variance (ANOVA) à un facteur, jumelée à un test d'homogénéité de variance de Levene et un test *post hoc* de Tukey de comparaisons paires de moyennes a été effectuée sur ces deux variables. Il a fallu appliquer une transformation de type racine

carrée sur la variable dépendante (moyenne des RLLE corrigés en T₂ pour les trois voxels) afin de respecter l'homogénéité de variance. En effectuant tous ces tests préalables, l'ANOVA démontre que la différence des moyennes de chaque catégorie de la variable indépendante (échelle de stéatose) est très significative ($p < 0,001$ pour un seuil de signification de 0,05). Le Tableau XV présente les données du test *post hoc* de Tukey.

Tableau XV : Matrice de Tukey illustrant les différences de moyennes pairées significatives entre chaque catégorie de la variable « échelle de stéatose » lorsque comparée à la moyenne des trois voxels de SRM (après une transformation de racine carrée)

(I) Échelle de stéatose	(J) Échelle de stéatose	Différence de moyennes (I-J)	Erreur standard	Signification
	Faible 0-33%	-,14484*	,04198	,009
Pas de stéatose	Modérée 33-66%	-,29234*	,05646	,000
	Élevée 67-100%	-,39443*	,03010	,000
	Pas de stéatose	,14484*	,04198	,009
Faible 0-33%	Modérée 33-66%	-,14750	,06541	,133
	Élevée 67-100%	-,24959*	,04469	,000
	Pas de stéatose	,29234*	,05646	,000
Modérée 33-66%	Faible 0-33%	,14750	,06541	,133
	Élevée 67-100%	-,10209	,05851	,320
	Pas de stéatose	,39443*	,03010	,000
Élevée 67-100%	Faible 0-33%	,24959*	,04469	,000
	Modérée 33-66%	,10209	,05851	,320

Le tableau ci-dessus met en évidence (en gras) les différences de moyenne significatives entre chaque possibilité d'appariement de variables. Les différences de moyenne de la catégorie « Pas de stéatose » échouent toutes le test de Tukey, ce qui signifie que ces différences sont très significatives lorsqu'elles sont comparées aux trois autres catégories de la variable ordinaire indépendante. De plus, la catégorie « Faible » est significativement différente de la catégorie « Pas de stéatose » et « Élevée ». La catégorie « Modérée » diffère significativement de la catégorie « Pas de stéatose » et finalement, la catégorie « Élevée » a une différence de moyenne significative avec la catégorie « Pas de stéatose » et « Faible ».

3.4.2. Quantité de stéatose issue de l'algorithme de segmentation d'images

Le Tableau XVI, les Figures 33 et 34 exposent les résultats de la corrélation entre les paramètres de RM (RLLE, FG) et le taux de graisse calculés avec l'algorithme de segmentation d'images de Kauffmann à partir des photos numérisées des lames de tissus hépatiques fixés et colorés avec l'HE (surface des vacuoles lipidiques/surface totale). Dans l'échantillon, un patient n'a pu être inclus dans l'étude, puisque ses tissus hépatiques n'étaient pas disponibles au moment de la cueillette des données.

Tableau XVI : Corrélation entre les données de RM et le taux de graisse calculé par un algorithme de segmentation d'images

Données de RM	<i>r</i>	<i>P</i> ($\alpha = 0,01$)	<i>n</i>
RLLE moyen des voxels	0,674	0,002	16
FG moyenne des voxels	0,663	0,003	16

α : seuil de signification; r : coefficient de corrélation de Pearson; p : degré de signification;
 n : taille de l'échantillon

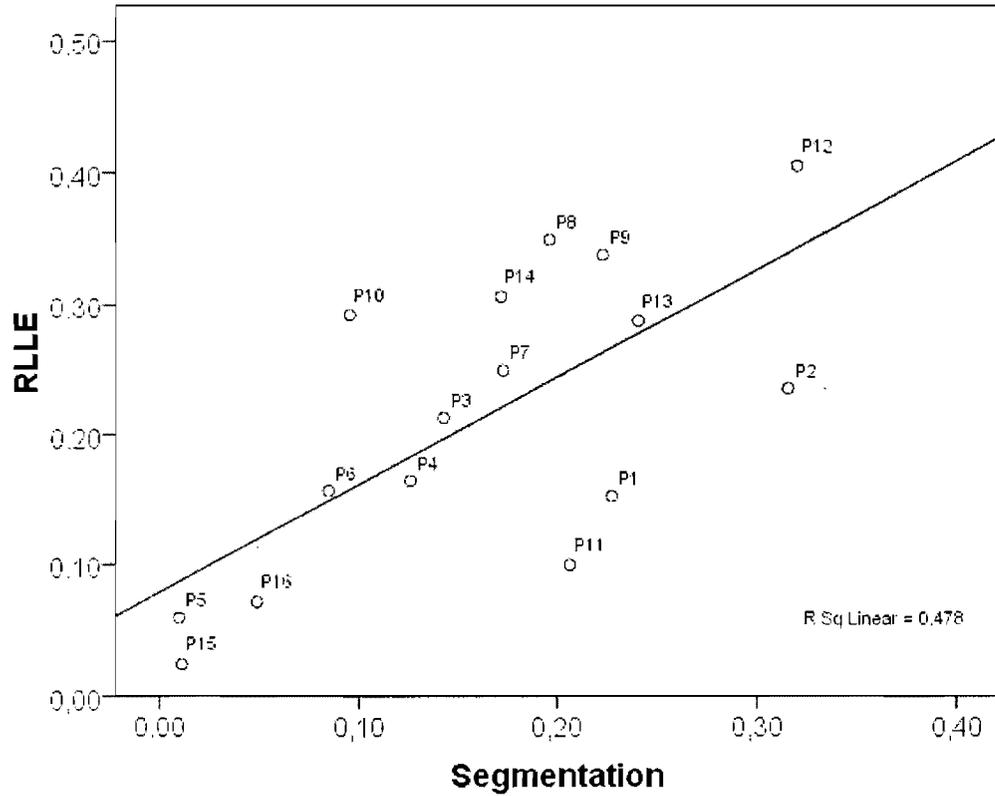


Figure 33 : Corrélation entre les données spectroscopiques de RLLE et le taux de graisse calculé par un algorithme de segmentation d'images. Les chiffres représentent les numéros de patients. RLLE = moyenne des rapports lipides/eau; $R Sq Linear = 0.478$ = coefficient R^2 de linéarité.

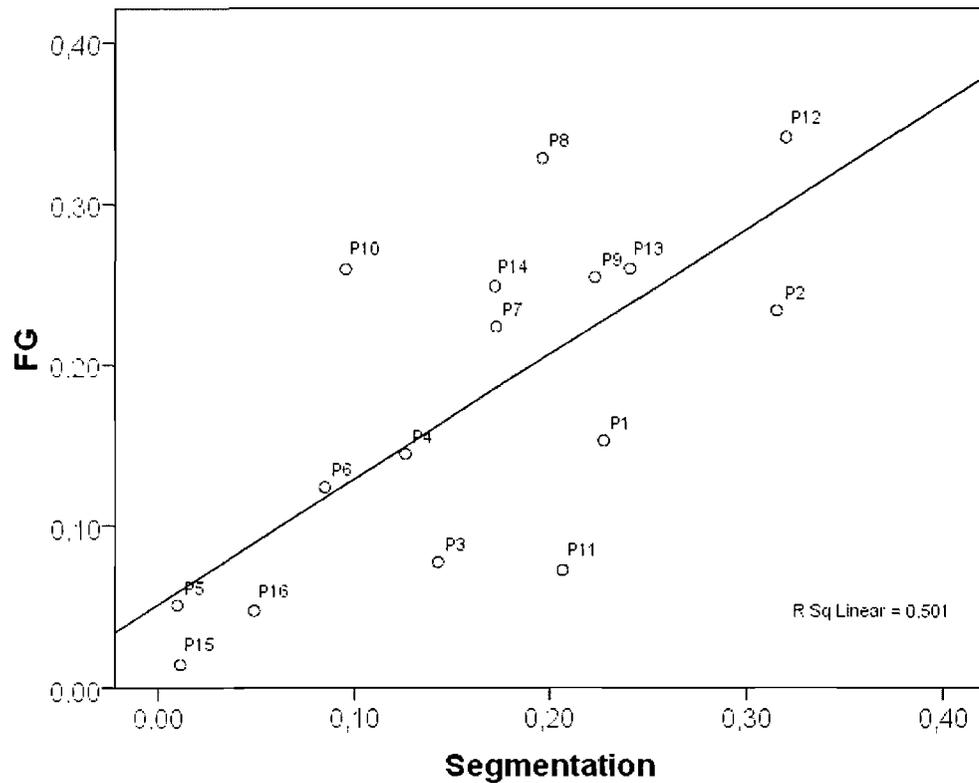


Figure 34 : Corrélation entre la fraction de gras mesurée par IDÉ et la fraction de gras calculée par un algorithme de segmentation d'images histologiques. Les chiffres représentent les numéros de patients. FG = moyenne des FG des trois voxels; *R Sq Linear* = coefficient R^2 de linéarité.

3.4.3. Concordance entre le pourcentage de stéatose et les données algorithmiques

La Figure 35 montre, sous forme de graphique Bland-Altman, la surestimation de la méthode semi-quantitative de pathologie avec celle de l'algorithme de segmentation. Cette surestimation est non négligeable (3,71 fois en moyenne celle des valeurs issues de l'algorithme).

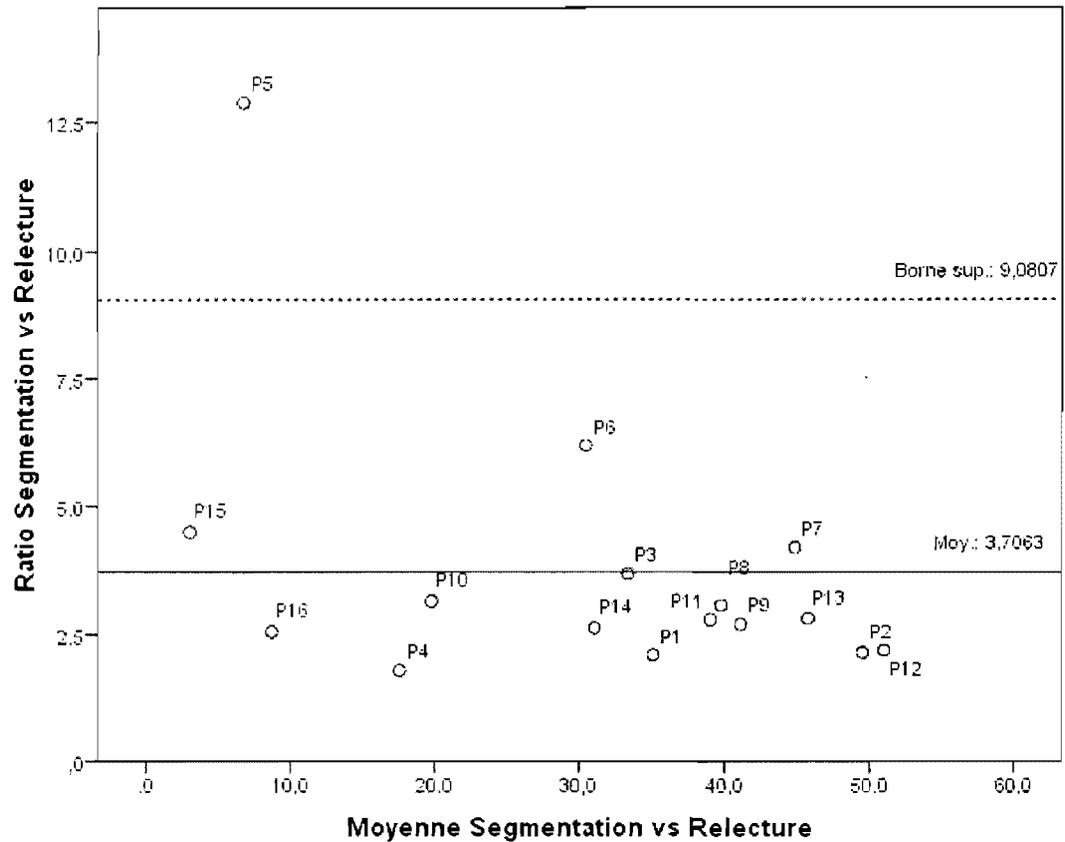


Figure 35: Graphe de Bland et Altman montrant la surestimation de la méthode conventionnelle d'estimation du pourcentage de stéatose par les pathologistes en comparaison avec la méthode de segmentation.

3.4.4. Fibrose et inflammation

Aucune corrélation significative n'a été détectée entre les données portant sur la fibrose et l'inflammation et les données de RM. De plus, l'ANOVA effectuée dans les quatre stades et trois grades, selon le même principe que la Figure 32, n'a pas réussi à détecter de différences significatives de moyennes.

4. DISCUSSION

Le but de ce travail consiste à comparer des méthodes non invasives de RMN pour mesurer de façon la plus précise possible la quantité de graisse dans le foie afin d'évaluer la sévérité de la stéatose. Trois méthodes ont été utilisées dans ce sens, à savoir la SRM, l'IDÉ et l'IPD. Les paramètres représentant chaque méthode sont respectivement le RLLE, la FG et le CDA. Ces trois paramètres sont corrélés entre eux (dans les résultats, seules les valeurs significatives de ces corrélations apparaissent), sauf le CDA. Par ailleurs, une analyse de type Bland-Altman a aussi permis d'étudier le degré d'accord entre chaque méthode. Autrement dit, la corrélation en elle-même a été jumelée à une analyse de la convergence des mesures.

Cette étude semble être la première à s'intéresser à l'évaluation de la stéatose hépatique en comparant les trois méthodes de RM énumérées jumelées à la méthode étalon qu'est l'analyse d'histopathologie, cette dernière étant appliquée selon la méthode semi-quantitative (classique) et selon une méthode plus exhaustive via un algorithme de segmentation. Les études précédentes ont confirmé l'usage de la SRM avec l'une ou l'autre des deux autres techniques de RM, sans toutefois s'intéresser à jumeler plus de deux méthodes simultanément.

À la lumière des résultats exposés dans la section précédente, la SRM, jumelée aux autres méthodes d'IRM proposées et à l'algorithme de segmentation d'histopathologie, est efficace dans la mesure de la détection et de la gradation de la stéatose dans le tissu hépatique. Cette détection et quantification de stéatose se base essentiellement sur le paramètre de la quantité de lipides dans le foie. Quant aux bioessais, les valeurs de RLLE et de FG corrélaient de façon significative avec les valeurs de cholestérol sanguin, une nouveauté qui ne retrouve pas, à notre connaissance, mentionnée dans la littérature. Les autres corrélations de bioessais significatives avec les RLLE et les valeurs de FG sont les valeurs de LDL et le rapport de LDL/HDL. Malheureusement, l'incidence de fibrose ne peut être détectée par les techniques présentées. L'incidence d'inflammation n'est pas non plus mesurable par ces techniques. De plus, l'IPD semble incapable de distinguer les personnes contrôles des sujets atteints. Cette section présente donc une analyse pratique des résultats en fonction de cette interprétation globale.

4.1. Corrélations des méthodes non-invasives

4.1.1. Le lien clé : la convergence entre la SRM et l'IDÉ

Le résultat le plus fiable ayant ressorti de cette étude est la très forte corrélation ($r = 0,98$; $p < 0,001$) entre la SRM et l'IDÉ (Figure 30). Les deux paramètres associés, le RLLE et la FG, corrigés pour les effets de T_2 et T_2^* , permettent de valider la pertinence de la SRM dans l'évaluation de la quantité de graisse hépatique. Avec la très vaste utilisation de la méthode de Dixon (Dixon, 1984) en radiologie pour détecter la graisse, il est d'autant plus important et intéressant de se pencher sur la SRM qui s'y corrèle.

La corrélation entre la SRM et l'IDÉ ne permet pas de conclure hors de tout doute à une concordance réelle entre les pourcentages de graisse décelés par les deux méthodes. Le graphique de Bland-Altman (Bland et Altman, 1999) de la Figure 31 évalue cette concordance qui n'est pas exprimée par la corrélation. Sur ce graphique, qui met en perspective le groupe des patients, des informations très pertinentes sur la différence de moyennes apparaissent. Tout d'abord, les deux variables (RLLE et FG) sont des pourcentages de graisse relatifs qui illustrent le rapport du signal des lipides par rapport à la somme du signal de l'eau et des lipides. Bien entendu, cette convention ne reflète pas entièrement la réalité, puisque les autres macromolécules au sein du tissu hépatique contribuent elles aussi au signal, tout comme l'environnement dans lequel les protons vont résonner. Ceci étant dit, l'application de la correction de T_2 et T_2^* a permis de réduire au maximum les différences entre les deux méthodes.

Dans le graphique (Figure 31), la moyenne des différences se situe aux alentours de 3,4 %. Le RLLE a donc tendance à bonifier de 3,4 % en moyenne la quantité de graisse par rapport à la FG. Seulement le groupe des patients a été pris en considération pour cette analyse de Bland-Altman, puisque chez les volontaires, la dispersion des données est trop faible pour mener à une analyse concluante. Dans le cas des patients, la dispersion des points du graphique est constante (hormis le patient #3) et ne semble pas être influencée par la hausse de la moyenne mathématique des deux variables (axe des abscisses). Finalement,

un patient est situé à l'extérieur des bornes de confiance du graphique (#3). Il est donc clairement identifié comme étant une valeur aberrante.

Une étude récente a donné sensiblement les mêmes résultats, avec une méthode expérimentale multiécho. La corrélation obtenue entre les valeurs corrigées de FG et de RLLE est presque parfaite ($r^2 = 0,99$). Le graphique de Bland-Altman démontre une différence de 0,03% entre la SRM et la méthode multiécho. Ces données de Bland-Altman sont donc plus optimistes au niveau de la concordance que celles décrites dans ce mémoire. Par contre, la faible taille de l'échantillon ($n = 10$) diminue la valeur statistique de leur étude (O'Regan *et al.*, 2008).

Le graphique de Bland-Altman confirme l'excellent accord existant entre les variables de SRM et d'IDÉ permettant de détecter la présence de lipides dans le foie. Cette méthode élimine toute source d'ambiguïté car selon les auteurs de la méthode statistique, une forte corrélation entre deux variables ne veut pas nécessairement dire que leur degré d'accord est élevé (Bland et Altman, 1986; Bland et Altman, 1999). De plus en plus, la SRM est même considérée comme étant la méthode étalon (*gold standard*) de quantification des lipides hépatiques (Irwan *et al.*, 2008).

4.2. Corrélations avec les paramètres histologiques

La deuxième corrélation significative est celle entre les valeurs de SRM et d'IDÉ avec l'histopathologie. La présente étude s'est penchée sur deux types de corrélations. La première lie les valeurs de RLLE et de FG avec le pourcentage de stéatose (rapport de surface des hépatocytes atteints par une charge lipidique, et détecté à l'œil par le pathologiste) et la deuxième lie la quantité de stéatose détectée par l'algorithme de segmentation d'images (Annexe 5). Par rapport à ce qui a déjà été rapporté dans la littérature, cette étude pousse plus loin l'analyse de la corrélation existant avec la méthode étalon qu'est l'histopathologie.

En comparant les données des 14 patients pour qui le pourcentage de stéatose a été évalué et inscrit dans le rapport de pathologie (trois rapports de patients n'ayant aucun pourcentage donné) avec les valeurs calculées par l'algorithme de segmentation, une très

nette surestimation de la quantité de graisse se manifeste. Selon un autre type de graphique Bland-Altman, où cette fois le ratio entre les deux variables examinées remplace leur différence (Figure 35), la moyenne du ratio est de 3,71. Il y a donc une surestimation du pourcentage de stéatose par la méthode semi-quantitative effectuée par les pathologistes, qui en moyenne va conclure une valeur quatre fois trop élevée.

Les estimations des pathologistes sont basées sur le pourcentage d'hépatocytes contenant de la graisse alors que les méthodes de RM sont basées sur la quantité de graisse dans le tissu, un pourcentage beaucoup plus faible. Cette différence dans le critère de quantification de la graisse des deux méthodes explique la divergence et la surestimation de la quantité de graisse par les pathologistes.

La valeur des rapports de moyenne de 3,71 (Figure 35) est somme toute plus élevée que ce qui est mentionné dans la littérature. Par contre, en effectuant le rapport de la moyenne des valeurs d'histopathologie relues avec celle calculée avec l'algorithme de segmentation, la valeur se rapproche de 2,8. Selon une étude de 49 échantillons de lames de biopsie, le pathologiste a surestimé la quantité de stéatose selon un facteur de 1,9-2,0 par rapport à une méthode automatisée provenant d'un logiciel d'analyse commercial (Marsman *et al.*, 2004). Nos valeurs sont donc assez proches de celles de la littérature.

La corrélation de Pearson entre le pourcentage de stéatose estimé par segmentation et les valeurs corrigées de RLLE (Tableau XVI et Figure 33) sont en accord avec ce qui est dans la littérature. Dans une étude de 22 échantillons, la force de relation était identique ($r = 0,61$; $p < 0,001$), sauf que le degré de signification de la figure est moins élevé ($p = 0,03$). Il est intéressant de constater que la corrélation des valeurs de SRM avec les valeurs de graisse calculées par l'algorithme de segmentation soit plus élevée et surtout, plus significative. Là encore, la valeur de notre projet est très proche de celle d'une autre étude (une des premières se penchant sur le sujet). Les auteurs ont calculé la corrélation entre les valeurs de SRM et l'histomorphométrie chez 29 sujets ($r = 0,70$; p non spécifié) (Longo *et al.*, 1995). Cette tendance explique la pertinence d'utiliser de moyens quantitatifs et informatiques afin d'enlever les multiples sources de biais et d'hétérogénéité qui apparaissent dans les lames de tissus hépatiques. La méthode automatisée élimine l'influence des variations sub-

jectives comme le choix arbitraire d'une échelle de quantification par le pathologiste ou les variations interobservateurs.

La variable de FG mesurée par IDÉ ne donne aucune corrélation significative avec le pourcentage de stéatose déterminé par les pathologistes. Par contre, elle corrèle plus fortement que les valeurs de RLLE avec les valeurs issues de l'algorithme, quoique le coefficient de corrélation ne soit pas très élevé. Il faudrait être prudent avant de s'avancer sur des raisons expliquant cet écart par rapport aux valeurs de RLLE, et ce serait une des avenues de recherche intéressantes à vérifier au fur et à mesure que le nombre de patients augmentera.

4.3. Corrélations avec les paramètres biochimiques

4.3.1. Bilan lipidique

Parmi les paramètres biochimiques du bilan lipidique, la corrélation entre le cholestérol, le LDL et les valeurs de RLLE et de FG ressort grandement du lot. Il est intéressant de constater que la valeur du cholestérol corrèle autant avec les valeurs de RLLE. Étonnamment, la plupart des études s'intéressent plus aux triglycérides en général qu'au cholestérol. Cependant, une étude n'a pas réussi à trouver de corrélation ($r = 0.12$, $p = 0.8$ par ANOVA) (Vuppalanchi *et al.*, 2007), quoiqu'elle s'est penchée sur l'analyse du cholestérol hépatique plutôt que sanguin.

4.4. Analyse du grade et stade de stéatose

L'absence totale de toute corrélation entre la fibrose (correspondant au stade de stéatose) et les valeurs de RM déçoit, surtout pour le paramètre du CDA. L'ANOVA n'a pas été en mesure de détecter une différence de moyennes significatives entre les volontaires et les patients. Nous avons espoir de trouver une corrélation inverse entre le stade de stéatose et le CDA puisque la fibrose agit comme une barrière au passage de l'eau. Chez 5 volontaires, le signal n'était pas assez significatif pour pouvoir déceler et calculer le CDA. Avec un nombre suffisant de sujets, il y a espoir d'améliorer la corrélation, tel que découvert dans la

littérature où l'ANOVA est en mesure de détecter une différence de moyennes (Aubé *et al.*, 2004).

4.5. Analyse des caractéristiques anthropométriques

Avant de regarder plus à fond les résultats des différentes méthodes non invasives utilisées dans ce protocole, il importe de discuter globalement des différents sujets qui ont pris part à ce projet. Le Tableau VII regroupe les principaux paramètres se rattachant à la description de l'échantillon. Le groupe témoin et le groupe patients ont le même poids échantillonnal ($n = 17$). Avec un total de 34 valeurs d'observation, la puissance statistique des résultats des tests est jugée satisfaisante.

L'IMC est un paramètre qui semble lié plus étroitement aux valeurs de RLLE ($r = 0,577$; $p < 0,001$) et d'IDÉ ($r = 0,543$; $p = 0,003$). Les valeurs significatives du coefficient de Pearson s'appuient sur d'autres études ayant abouti au même constat. L'étude de Tarasow *et al.* comporte une valeur de corrélation comparable ($r = 0,61$; $p < 0,005$ pour 24 volontaires sains). Finalement, une autre recherche a décelé que la quantité de graisse mesurée par la SRM varie en fonction de l'IMC (Thomas *et al.*, 2005).

4.6. Évaluation de la distribution spatiale graisseuse

4.6.1. Analyse des diagrammes de surface intervoxels

Le premier élément à discuter dans l'ensemble des données recueillies consiste à évaluer la distribution lipidique dans le foie. En effet, pour chaque patient, trois différents voxels ont été positionnés dans le foie, selon des endroits homogènes, sans aucune présence d'artéfacts tels que des vaisseaux sanguins ou des amas de tissus autres que le parenchyme (à l'apparence différente sur l'image en termes de niveaux de gris).

Pour chaque méthode de RM, un diagramme de surfaces a été créé afin de mesurer à la fois la distribution des valeurs de graisse recueillies, et aussi évaluer la constance de cette distribution à travers les trois voxels (Figures 25 et 26). L'idée derrière ce graphe est de pouvoir constater à la fois l'intra et l'inter variabilité des données. Selon ces graphes, pour

une même catégorie de sujets, il y a très peu de variabilité entre chaque voxel, ce qui témoigne de la grande homogénéité de la quantité de graisse dans le foie, peu importe le sujet.

Par contre, la taille des boîtes de surface est grande, surtout pour les patients. Il y a donc une grande dispersion des valeurs de graisse dans le cas de l'intervariabilité pour ce groupe, à la fois pour les valeurs de RLLE et de FG. L'intervalle de données de RLLE s'étend de 2,4% à 40,5% chez les patients et de 1,4% à 34,1% pour les valeurs de FG.

Le cas du CDA (Figure 27) est complètement différent des deux autres variables mesurées. Pour ce paramètre, à la fois l'intra et l'inter variabilité des valeurs sont significatives. Les résultats de l'ANOVA du Tableau IX en font foi, puisque la seule statistique ayant un degré de signification en deçà du seuil est celle calculée à partir des résultats de CDA. Le test *post hoc* a permis aussi de déceler la différence précise de moyennes entre les voxels 1 et 2.

La présente étude se base donc sur des valeurs qui n'ont pas de différence significative selon l'emplacement des voxels dans le foie. Par contre, un sujet A et un sujet B peuvent démontrer une très grande différence de pourcentage de graisse mesuré dans le même emplacement du foie. Il y a donc une grande variabilité inter sujets.

4.6.2. Comparaison des moyennes vs la surface totale

Un aspect intéressant de ce projet de recherche a été de comparer deux modalités de mesures appliquées sur deux des trois variables de RM, soit la FG et le CDA. Dans les deux cas, les quantités de graisse ont été calculées soit à partir de la moyenne d'intensité de pixels compris dans trois ROI placées exactement selon les coordonnées des trois voxels de SRM, soit à partir d'une ROI couvrant toute la surface du foie. Les deux séries de valeurs ont fait l'objet d'un test de Student apparié qui n'a déterminé aucune différence significative entre l'utilisation de l'une ou l'autre des méthodes, et ce, pour les deux variables (se référer à la section 3.2.2). Ainsi, afin de faciliter les comparaisons avec les études déjà réalisées, la modalité des trois voxels moyennés a été retenue comme principale façon de recueillir les données, l'assertion de l'homogénéité du foie ayant été vérifiée préalablement.

4.6.3. Mise en contexte avec les résultats de la littérature

L'homogénéité de la quantité de graisse dans le foie a fait l'objet d'abondantes recherches. Dans la majorité des cas, tous les résultats convergent dans le même sens de ce qui a été exposé dans la section précédente. Les différences entre les sujets de l'échantillon peuvent aller jusqu'à 50% de quantité de graisse pour deux voxels donnés (Thomas *et al.*, 2005). En parallèle, la variation de quantité de graisse entre des individus différents est moindre et atteint 38,8% (Machann *et al.*, 2006). Ces pourcentages sont en accord avec la valeur expérimentale déterminée dans ce projet (voir section 4.6.1). Une seule étude souvent mentionnée dans la littérature rapporte une différence significative de quantité de graisse à l'intérieur du foie (hétérogénéité significative), allant jusqu'à 87% (Tarasow *et al.*, 2002). Par contre, la faible puissance statistique ($n = 5$) amène à relativiser l'importance de ce résultat. Les résultats de la présente étude sont cohérents avec les résultats exposés dans la littérature.

4.7. Explications possibles des données non significatives

Plusieurs résultats comportent des données qui sont non significatives ou aberrantes. Cette section met en contexte ces valeurs et propose des explications.

4.7.1. Le cas des valeurs aberrantes et extrêmes

Selon la Figure 30 et la Figure 31, deux cas sont considérés comme des valeurs aberrantes. Il s'agit du Patient 3 et du Patient 9. Dans le cas du Patient 3, une erreur dans la prise de mesure est l'explication la plus logique justifiant l'écart de ce cas par rapport aux autres. En révisant les données de ce patient problématique, il serait possible qu'une erreur dans l'acquisition des données (paramétrage incorrect par exemple) ait pu occasionner ce résultat fautif. Quant au patient 9, il est beaucoup moins problématique, puisqu'il ne s'écarte pas vraiment de la droite de la régression de la Figure 30. Il n'a finalement pas été écarté des analyses puisque la moyenne des variables à l'étude ne s'en trouve pas affectée.

4.7.2. Le cas des valeurs négatives de l'effet T_2^*

L'effet T_2^* a un impact non négligeable dans l'acquisition des spectres de SRM et des images d'IDÉ. L'effet spin-spin et les inhomogénéités magnétiques perturbent la captation nette du signal de résonance, causant une sous-estimation du signal. C'est pourquoi il y a présence de certaines valeurs négatives au sein de l'échantillon des données de FG, même après correction de T_2^* . Ces valeurs négatives perturbent l'interprétation et l'analyse statistique, puisque le recours à la transformée logarithmique permettant de respecter la normalité ne peut être utilisée. De plus, ces valeurs n'ont aucune signification physique, outre le fait de les assumer comme étant des valeurs nulles.

4.7.3. Facteurs liés à l'IPD

Seulement une variable dans tous les résultats ne donne pas les résultats escomptés. Il s'agit de l'IPD qui mesure les valeurs de CDA. Aucune corrélation avec les valeurs de stéatose et l'échelle de fibrose n'est décelée. Aucune différence de moyenne par le test de Student et l'ANOVA n'est détectable non plus. L'hypothèse concernant cette variable lorsque le projet a été conçu était la possibilité qu'il y ait un lien entre l'IPD et le stade de fibrose observé par l'histopathologie. Or, cette hypothèse ne peut être vérifiée.

La principale explication se trouve dans la présence d'hémochromatose. L'accumulation drastique de fer dans le foie va causer un effet de relaxation qui va entraîner la chute prématurée du signal de RM. Cette chute drastique empêche la création de la cartographie d'IPD et en bout de ligne, le calcul du CDA (Aubé *et al.*, 2004).

Bien que créant des images dont le SNR est satisfaisant, l'échantillon de sujets contenait trop de patients hémochromatosés.

4.7.4. La concordance interobservateur de l'histopathologie

Au départ, trois pathologistes différents ont contribué au diagnostic de stéatose chez les patients. Chacun semble avoir utilisé sa propre échelle de convention pour quantifier la stéatose, puisque ces mesures ont été effectuées dans un cadre clinique et non celui d'un

projet de recherche. Ceci entraîne donc une source additionnelle de biais dans l'analyse et l'interprétation des résultats. Pour remédier à cette erreur induite, une relecture en aveugle par deux pathologistes différents a été menée pour uniformiser les critères d'évaluation de stéatose utilisés en histopathologie. Nous avons pu ainsi obtenir une échelle arbitraire de stéatose qui coïncidait bien avec les valeurs de RLLE calculées, et ce, pour tous les patients.

4.7.5. Puissance statistique

Bien que jugée suffisante pour ce projet de recherche, la puissance statistique aurait intérêt à être bonifiée, surtout en ce qui a trait à la taille de l'échantillon, pour pouvoir obtenir divers autres types de comparaison. Par contre, l'équilibre entre le nombre de volontaires et de patients permet d'obtenir des tests significatifs et sans équivoque.

4.8. Limites de l'étude

4.8.1. Caractéristiques liées à l'âge et au sexe

Parmi tous les participants ayant pris part au projet, la moyenne d'âge est grandement différente selon le classement entre les volontaires et les patients. De plus, il y a une disproportion entre les sexes. Le groupe des patients est plus âgé que le groupe des volontaires (la différence de moyenne étant très significative). L'âge moyen des patients est au-dessus du seuil critique considéré comme facteur de stéatose (> 45 ans) (Clark, 2006). L'analyse des corrélations a permis de déceler une faible relation entre l'âge des participants et le RLLE ($r = 0,353$ avec un $p = 0,041$), mais la valeur du coefficient de Pearson n'est pas assez élevée pour vraiment s'attarder sur ce lien. L'étude de Tarasow *et al.*, malgré sa faible puissance statistique, n'a d'ailleurs pas permis de déceler un lien fort entre l'âge et la quantité de graisse (Tarasow *et al.*, 2002). Selon nous, cette différence significative de moyenne n'a pas d'impact quant à la précision et la justesse des résultats, la stéatose ayant maintenant des chances équivalentes de se développer chez les jeunes que chez les adultes (Fishbein *et al.*, 2006).

Il y a un équilibre entre le nombre de participants masculins et féminins dans le groupe des volontaires, alors que le groupe des patients comporte une prépondérance marquée (rapport 5 :1) d'hommes. Cette tendance s'explique par une disponibilité restreinte de candidats et des contraintes liées à l'éligibilité de l'étude. Par contre, il semblerait que le sexe mâle soit un facteur prédictif de la maladie (Browning *et al.*, 2004). Dans la présente étude, le facteur de la race n'a pas été pris en considération, malgré qu'il soit toujours retenu comme étant un agent majeur responsable de la stéatose (Browning *et al.*, 2004; Szczepaniak *et al.*, 2005). L'étude de Browning et al. démontre que la stéatose prévaut le plus chez les Hispaniques (45%) et les Blancs (33%) que chez les Noirs (24%). Tous les patients et sujets contrôles recrutés étaient de race blanche.

4.8.2. Rigidité des contraintes des critères d'inclusion

Maintenant que des liens significatifs entre les variables de RM et la quantité de lipides dans le foie ont été validés, il serait de mise d'élargir les critères d'inclusion de patients. Ce facteur a grandement handicapé la bonne cadence du recrutement et a sans nul doute contribué à la faible taille de l'échantillon. Nous avons uniquement recruté des patients dont la principale pathologie était la stéatose ou la cirrhose, en évitant les patients dont la stéatose fait partie d'un syndrome plus large comme l'hépatite virale, le cancer du foie, le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) ou le choc subi lors d'une transplantation.

4.8.3. Mouvements du foie et matériel

Finalement, même si les acquisitions de RM ont été faites en apnée, le mouvement inhérent du foie dû à la respiration et au péristaltisme engendre une dégradation systématique du SNR des images et des spectres de RM. De plus, la limitation de puissance de l'aimant à 1,5 T ne permet plus d'obtenir une qualité optimale d'images telle que fournie par des appareils à 3,0 T.

4.9. Implications cliniques de la SRM

Les résultats discutés jusqu'à présent démontrent que la SRM est adéquate pour quantifier la stéatose. Par contre, est-il justifié de l'utiliser dans un cadre clinique, où des contraintes de temps et de coût sont impliquées? À la lumière du déroulement des examens chez les sujets et de l'application du protocole expérimental, il apparaît clair que le recours à cette technique de RMN est justifié. En moyenne, l'examen complet dure une heure, où le sujet demeure dans le tunnel de l'aimant pendant 45 minutes. Aucun commentaire négatif n'a été recueilli à propos de la durée et des nombreuses apnées requises durant les acquisitions d'images. Le protocole est facile à utiliser au quotidien et les techniciens de radiologie ont eu une grande facilité à l'appliquer.

Il s'agit également d'une méthode servant à établir un diagnostic. Elle est donc moins appropriée dans le cadre d'un simple test de dépistage, considérant les enjeux de coût reliés à l'utilisation de la radiologie. Par contre, la grande précision des résultats de SRM suite à la comparaison avec l'IDÉ est un atout dans le suivi de la stéatose pour le patient, de faibles variations de graisse pouvant être détectées. En outre, le recours à l'histopathologie demeure inévitable suite à l'incapacité de la SRM, de l'IDÉ et de l'IPD à détecter la fibrose et la nécroinflammation.

4.10. Perspectives futures du projet

Selon les résultats obtenus et ce qui a été discuté, ce projet de recherche est prometteur et offre plusieurs avenues de développement. Notre laboratoire est présentement en train de mettre au point une technique de segmentation en trois dimensions qui permettra de couvrir non pas la surface d'une tranche de foie unique, mais son volume en entier. Des paramètres très importants tels que la FG et le facteur T_2^* seront d'autant plus précis. La corrélation entre le cholestérol et les valeurs de SRM méritent certainement un examen plus en profondeur. Finalement, l'utilisation de la métabonomique, technique de détection et de quantification par SRM de métabolites à très haut champ magnétique, essaiera de trouver des marqueurs biochimiques en quantifiant plusieurs molécules dans le sang et dans l'urine. À partir de ces données, elle tentera de détecter l'origine alcoolique ou non alcoolique de la

stéatose. Le but ultime avec le développement de ces nouvelles techniques d'analyse est de pouvoir trouver la meilleure combinaison de méthodes pour détecter la stéatose de façon fiable et de manière totalement non invasive.

5. CONCLUSION

Ce travail de maîtrise vise à mettre au point une méthode basée sur des comparaisons entre trois techniques de RMN, de bioessais et d'analyse histopathologique par catégories et par segmentation dans le but de déterminer avec précision et rapidité la quantité de graisse dans le foie, et ce, de façon non invasive. La SRM, l'IPD et l'IDÉ ont été utilisées. Chacune des techniques a été corrélée à l'histopathologie et à des prélèvements sanguins.

À la lumière des résultats, deux techniques sur trois, soit la SRM et l'IDÉ, apparaissent concluantes pour mesurer efficacement le pourcentage de graisse induite par la stéatose dans le foie. Le RLLE et la FG ont servi pour évaluer la quantité de graisse intrahépatique. Une très forte corrélation existe entre les deux méthodes. De plus, les deux techniques corrélaient bien avec les valeurs de cholestérol sanguin, d'ALT et de LDL. Il existe également une corrélation significative avec le pourcentage d'histopathologie déterminé à l'œil nu par le pathologiste. Par contre, il est préférable selon les résultats d'utiliser une méthode de segmentation d'images pour évaluer le pourcentage d'hépatocytes atteints à partir des photos numérisées de lames. Cette variable corréla encore mieux et de façon encore plus significative que la méthode classique de pathologie. Par contre, les deux méthodes ne corrélaient pas avec la fibrose (stade) et l'incidence de l'inflammation (grade).

La méthode de l'IPD ne corréla avec aucune autre des méthodes de RMN, ni avec aucun des bioessais. La CDA ne corréla pas non plus avec les données des rapports de pathologie, à savoir le pourcentage de stéatose, le grade de nécroinflammation et le stade de fibrose. Il n'y a donc pas de différence de CDA notable entre le groupe des volontaires et des patients. Cette absence de différence est en accord avec la littérature.

En résumé, cette étude permet d'ouvrir une avenue de recherche prometteuse permettant aux cliniciens de minimiser l'utilisation systématique de la biopsie, technique inva-

sive et comportant certains risques. La SRM jumelée à l'IDÉ permet efficacement et rapidement de mesurer la graisse intrahépatique.

BIBLIOGRAPHIE

- AGARWAL, N. et SHARMA, B. C. (2005) Insulin resistance and clinical aspects of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Hepatol Res*, 33, 92-96.
- ANGULO, P. (2002) Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*, 346, 1221-1231.
- ANNET, L., PEETERS, F., ABARCA-QUINONES, J., LECLERCQ, I., MOULIN, P. et E. VAN BEERS, B. (2007) Assessment of diffusion-weighted MR imaging in liver fibrosis. *J Magn Reson Imaging*, 25, 122-128.
- AUBÉ, C., RACINEUX, P. X., LEBIGOT, J., OBERTI, F., CROQUET, V., ARGAUD, C., CALES, P. et CARON, C. (2004) Diagnostic et quantification de la fibrose hépatique par IRM de diffusion : résultats préliminaires. *J Radiol*, 85, 301-306.
- BAMMER, R. (2003) Basic principles of diffusion-weighted imaging. *Eur J Radiol*, 45, 169-184.
- BLAND, J. J. M. et ALTMAN, D. D. G. (1986) Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1, 307-310.
- BLAND, J. J. M. et ALTMAN, D. D. G. (1999) Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res*, 8, 135-160.
- BLOCH, F. (1946) Nuclear Induction. *Phys Rev*, 70, 460.
- BLOEMBERGEN, N., PURCELL, E. M. et POUND, R. V. (1948) Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption. *Phys Rev*, 73, 679.
- BOTTOMLEY, P. A.; General Electric Company. Selective volume method for performing localized NMR spectroscopy, Brevet É-U. 4480228. 30 octobre 1984.
- BOULANGER, Y., AMARA, M., LEPANTO, L., BEAUDOIN, G., NGUYEN, B. N., ALLAIRE, G., POLIQUIN, M. et NICOLET, V. (2003) Diffusion-weighted MR imaging of the liver of hepatitis C patients. *NMR Biomed*, 16, 132-136.
- BROWNING, J. D., SZCZEPANIAK, L. S., DOBBINS, R., NUREMBERG, P., HORTON, J. D., COHEN, J. C., GRUNDY, S. M. et HOBBS, H. H. (2004) Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology*, 40, 1387-1395.
- BRUNT, E. M., JANNEY, C. G., DI BISCEGLIE, A. M., NEUSCHWANDER-TETRI, B. A. et BACON, B. R. (1999) Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*, 94, 2467-2474.

- BRUNT, E. M., NEUSCHWANDER-TETRI, B. A., OLIVER, D., WEHMEIER, K. R. et BACON, B. R. (2004) Nonalcoholic steatohepatitis: histologic features and clinical correlations with 30 blinded biopsy specimens. *Hum Pathol*, 35, 1070-1082.
- CABANA, T. "CHAPITRE 14: PANCREAS, FOIE, VESICULE BILIAIRE". Université de Montréal. *Laboratoire du Dr. Thérèse Cabana*, [En ligne]. <http://mapageweb.umontreal.ca/cabanat/bio2412/Chapitre14.html> (Page consultée le 08/06/2007).
- CASTERA, L., NEGRE, I., SAMII, K. et BUFFET, C. (1999) Pain experienced during percutaneous liver biopsy. *Hepatology*, 30, 1529-1530.
- CLARK, J. M. (2006) The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults. *J Clin Gastroenterol*, 40, S5-10.
- COX, I. J. (1996) Development and applications of in vivo clinical magnetic resonance spectroscopy. *Prog Biophys Mol Biol*, 65, 45-81.
- DAY, C. P. (2002) Pathogenesis of steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 16, 663-678.
- DAY, C. P. et JAMES, O. F. (1998) Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology*, 114, 842-845.
- DIXON, W. T. (1984) Simple proton spectroscopic imaging. *Radiology*, 153, 189-194.
- DOTAN, Y., LICHTENBERG, D. et PINCHUK, I. (2004) Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res*, 43, 200-227.
- FARRELL, G. C. et LARTER, C. Z. (2006) Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology*, 43, S99-S112.
- FIORINI, R. N., KIRTZ, J., PERIYASAMY, B., EVANS, Z., HAINES, J. K., CHENG, G., POLITO, C., RODWELL, D., SHAFIZADEH, S. F., ZHOU, X., CAMPBELL, C., BIRSNER, J., SCHMIDT, M., LEWIN, D. et CHAVIN, K. D. (2004) Development of an unbiased method for the estimation of liver steatosis. *Clin Transplant*, 18, 700-706.
- FISCHBACH, F. et BRUHN, H. (2008) Assessment of in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy in the liver: a review. *Liver Int*, 28, 297-307.
- FISHBEIN, M. H., GARDNER, K. G., POTTER, C. J., SCHMALBROCK, P. et SMITH, M. A. (1997) Introduction of fast MR imaging in the assessment of hepatic steatosis. *Magn Reson Imaging*, 15, 287-293.

- FISHBEIN, M. H., MOGREN, C., GLEASON, T. et STEVENS, W. R. (2006) Relationship of hepatic steatosis to adipose tissue distribution in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 42, 83-88.
- FRANZEN, L. E., EKSTEDT, M., KECHAGIAS, S. et BODIN, L. (2005) Semiquantitative evaluation overestimates the degree of steatosis in liver biopsies: a comparison to stereological point counting. *Mod Pathol*, 18, 912-916.
- GANDON, Y., OLIVIÉ, D., GUYADER, D., AUBÉ, C., OBERTI, F., SEBILLE, V. et DEUGNIER, Y. (2004) Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet*, 363, 357-362.
- GEVA, T. (2006) Magnetic resonance imaging: historical perspective. *J Cardiovasc Magn Reson*, 8, 573-580.
- GIANNINI, E. G., TESTA, R. et SAVARINO, V. (2005) Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ*, 172, 367-379.
- GRANT, A. et NEUBERGER, J. (1999) Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice. British Society of Gastroenterology. *Gut*, 45 Suppl 4, IV1-IV11.
- HAASE, A., FRAHM, J., HANICKE, W. et MATTHAEI, D. (1985) ¹H NMR chemical shift selective (CHESS) imaging. *Phys Med Biol*, 30, 341-344.
- HEIKEN, J. P., LEE, J. K. et DIXON, W. T. (1985) Fatty infiltration of the liver: evaluation by proton spectroscopic imaging. *Radiology*, 157, 707-710.
- HUSSAIN, H. K., CHENEVERT, T. L., LONDY, F. J., GULANI, V., SWANSON, S. D., MCKENNA, B. J., APPELMAN, H. D., ADUSUMILLI, S., GREENSON, J. K. et CONJEEVARAM, H. S. (2005) Hepatic fat fraction: MR imaging for quantitative measurement and display--early experience. *Radiology*, 237, 1048-1055.
- IRWAN, R., EDENS, M. A. et SIJENS, P. E. (2008) Assessment of the variations in fat content in normal liver using a fast MR imaging method in comparison with results obtained by spectroscopic imaging. *Eur Radiol*, 18, 806-813.
- ISHII, M., YOSHIOKA, Y., ISHIDA, W., KANEKO, Y., FUJIWARA, F., TANEICHI, H., MIURA, M., TOSHIHIRO, M., TAKEBE, N., IWAI, M., SUZUKI, K. et SATOH, J. (2005) Liver fat content measured by magnetic resonance spectroscopy at 3.0 tesla independently correlates with plasminogen activator inhibitor-1 and body mass index in type 2 diabetic subjects. *Tohoku J Exp Med*, 206, 23-30.
- JALAN, R., TAYLOR-ROBINSON, S. D. et HODGSON, H. J. (1996) In vivo hepatic magnetic resonance spectroscopy: clinical or research tool? *J Hepatol*, 25, 414-424.
- JOY, D. et SCOTT, B. B. (2003) To perform or not to perform liver biopsy: an alternative view. *Gut*, 52, 610.

- JOY, D., THAVA, V. R. et SCOTT, B. B. (2003) Diagnosis of fatty liver disease: is biopsy necessary? *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 15, 539-543.
- KAWAMITSU, H., KAJI, Y., OHARA, T. et SUGIMURA, K. (2003) Feasibility of quantitative intrahepatic lipid imaging applied to the magnetic resonance dual gradient echo sequence. *Magn Reson Med Sci*, 2, 47-50.
- KOINUMA, M., OHASHI, I., HANAFUSA, K. et SHIBUYA, H. (2005) Apparent diffusion coefficient measurements with diffusion-weighted magnetic resonance imaging for evaluation of hepatic fibrosis. *J Magn Reson Imaging*, 22, 80-85.
- KREMER, S., OPPENHEIM, C., SCHMITT, E. et DIETEMANN, J. L. (2007) Imagerie de diffusion : principes et applications cliniques. *J Radiol*, 88, 428-443.
- LARREY, D. (2003) De la stéatose hépatique de l'obèse à la cirrhose, en l'absence d'intoxication alcoolique. *Presse Med*, 32, 512-518.
- LARREY, D. (2003) Stéato-hépatite non alcoolique: histoire naturelle et diagnostic. *Gastroenterol Clin Biol*, 27, 793-798.
- LEE, J. K., DIXON, W. T., LING, D., LEVITT, R. G. et MURPHY, W. A., JR. (1984) Fatty infiltration of the liver: demonstration by proton spectroscopic imaging. Preliminary observations. *Radiology*, 153, 195-201.
- LEVENSON, H., GREENSITE, F., HOEFS, J., FRILOUX, L., APPLGATE, G., SILVA, E., KANEL, G. et BUXTON, R. (1991) Fatty infiltration of the liver: quantification with phase-contrast MR imaging at 1.5 T vs biopsy. *Am. J. Roentgenol.*, 156, 307-312.
- LIEBER, C. S. (2004) Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis. *Alcohol*, 34, 9-19.
- LONGO, R., POLLESELLO, P., RICCI, C., MASUTTI, F., KVAM, B. J., BERCICH, L., CROCE, L. S., GRIGOLATO, P., PAOLETTI, S., DE BERNARD, B. et ET, A. L. (1995) Proton MR spectroscopy in quantitative in vivo determination of fat content in human liver steatosis. *J Magn Reson Imaging*, 5, 281-285.
- LUPSOR, M. et BADEA, R. (2005) Imaging diagnosis and quantification of hepatic steatosis: is it an accepted alternative to needle biopsy? *Rom J Gastroenterol*, 14, 419-425.
- LUYPAERT, R., BOUJRAF, S., SOURBRON, S. et OSTEAX, M. (2001) Diffusion and perfusion MRI: basic physics. *Eur J Radiol*, 38, 19-27.
- MACHANN, J., THAMER, C., SCHNOEDT, B., STEFAN, N., HARING, H. U., CLAUSSEN, C. D., FRITSCH, A. et SCHICK, F. (2006) Hepatic lipid accumula-

tion in healthy subjects: a comparative study using spectral fat-selective MRI and volume-localized ^1H -MR spectroscopy. *Magn Reson Med*, 55, 913-917.

MARSMAN, H., MATSUSHITA, T., DIERKHISING, R., KREMERS, W., ROSEN, C., BURGART, L. et NYBERG, S. L. (2004) Assessment of donor liver steatosis: pathologist or automated software? *Hum Pathol*, 35, 430-435.

MCCULLOUGH, A. J. (2006) Pathophysiology of nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol*, 40, S17-29.

MENNECIER, D. "Anatomobase: Foie". [En ligne]. <http://www.hepatoweb.com/anatomobase/foie.htm> (Page consultée le 11/06/2007).

NEUSCHWANDER-TETRI, B. A. et CALDWELL, S. H. (2003) Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology*, 37, 1202-1219.

O'REGAN, D. P., CALLAGHAN, M. F., WYLEZINSKA-ARRIDGE, M., FITZPATRICK, J., NAOUMOVA, R. P., HAJNAL, J. V. et SCHMITZ, S. A. (2008) Liver Fat Content and T2*: Simultaneous Measurement by Using Breath-hold Multiecho MR Imaging at 3.0 T--Feasibility. *Radiology*, 247, 550-557.

ORRISON, J. R., WILLIAM, W. et SANDERS, J. A. (1995) *Functional Brain Imaging*, St-Louis, Mosby, 479 p.

POWELL, E. E., ALI, A., CLOUSTON, A. D., DIXON, J. L., LINCOLN, D. J., PURDIE, D. M., FLETCHER, L. M., POWELL, L. W. et JONSSON, J. R. (2005) Steatosis is a cofactor in liver injury in hemochromatosis. *Gastroenterology*, 129, 1937-1943.

PROVENCHER, S. W. (1993) Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med*, 30, 672-679.

RATZIU, V., CHARLOTTE, F., HEURTIER, A., GOMBERT, S., GIRAL, P., BRUCKERT, E., GRIMALDI, A., CAPRON, F. et POYNARD, T. (2005) Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 128, 1898-1906.

RATZIU, V. et POYNARD, T. (2003) Stéatopathies non alcooliques: limites de nos connaissances et leçons pour l'hépatologue d'aujourd'hui. *Gastroenterol Clin Biol*, 27, 715-717.

RIEDERER, S. J. (2004) MR imaging: its development and the recent Nobel Prize. *Radiology*, 231, 628-631.

SAADEH, S., YOUNOSSI, Z. M., REMER, E. M., GRAMLICH, T., ONG, J. P., HURLEY, M., MULLEN, K. D., COOPER, J. N. et SHERIDAN, M. J. (2002) The util-

- ity of radiological imaging in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 123, 745-750.
- SCHEEN, A. J. et LUYCKX, F. H. (2002) Obesity and liver disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 16, 703-716.
- SERGEANT, O., GRIFFON, B., CILLARD, P. et CILLARD, J. (2001) Alcool et stress oxydatif. *Pathol Biol (Paris)*, 49, 689-695.
- SHEELA, H., SEELA, S., CALDWELL, C., BOYER, J. L. et JAIN, D. (2005) Liver biopsy: evolving role in the new millennium. *J Clin Gastroenterol*, 39, 603-610.
- SORBI, D., BOYNTON, J. et LINDOR, K. D. (1999) The ratio of aspartate aminotransferase to alanine aminotransferase: potential value in differentiating nonalcoholic steatohepatitis from alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol*, 94, 1018-1022.
- SPARCHEZ, Z. (2005) Complications after percutaneous liver biopsy in diffuse hepatopathies. *Rom J Gastroenterol*, 14, 379-384.
- SZCZEPANIAK, L. S., BABCOCK, E. E., SCHICK, F., DOBBINS, R. L., GARG, A., BURNS, D. K., MCGARRY, J. D. et STEIN, D. T. (1999) Measurement of intracellular triglyceride stores by ¹H spectroscopy: validation in vivo. *Am J Physiol*, 276, E977-989.
- SZCZEPANIAK, L. S., NURENBERG, P., LEONARD, D., BROWNING, J. D., REINGOLD, J. S., GRUNDY, S., HOBBS, H. H. et DOBBINS, R. L. (2005) Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 288, E462-468.
- TAOULI, B., VILGRAIN, V., DUMONT, E., DAIRE, J. L., FAN, B. et MENU, Y. (2003) Evaluation of liver diffusion isotropy and characterization of focal hepatic lesions with two single-shot echo-planar MR imaging sequences: prospective study in 66 patients. *Radiology*, 226, 71-78.
- TARASOW, E., SIERGIEJCZYK, L., PANASIUK, A., KUBAS, B., DZIENIS, W., PROKOPOWICZ, D. et WALECKI, J. (2002) MR proton spectroscopy in liver examinations of healthy individuals in vivo. *Med Sci Monit*, 8, MT36-40.
- TE SLIGTE, K., BOURASS, I., SELS, J. P., DRIESSEN, A., STOCKBRUGGER, R. W. et KOEK, G. H. (2004) Non-alcoholic steatohepatitis: review of a growing medical problem. *Eur J Intern Med*, 15, 10-21.
- TESIRAM, Y. A., SAUNDERS, D. et TOWNER, R. A. (2005) Application of proton NMR spectroscopy in the study of lipid metabolites in a rat hepatocarcinogenesis model. *Biochim Biophys Acta*, 1737, 61-68.

- THOMAS, E. L., HAMILTON, G., PATEL, N., O'DWYER, R., DORE, C. J., GOLDIN, R. D., BELL, J. D. et TAYLOR-ROBINSON, S. D. (2005) Hepatic triglyceride content and its relation to body adiposity: a magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy study. *Gut*, 54, 122-127.
- THOMSEN, C., BECKER, U., WINKLER, K., CHRISTOFFERSEN, P., JENSEN, M. et HENRIKSEN, O. (1994) Quantification of liver fat using magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Imaging*, 12, 487-495.
- VUPPALANCHI, R., CUMMINGS, O. W., SAXENA, R., ULBRIGHT, T. M., MARTIS, N., JONES, D. R., BANSAL, N. et CHALASANI, N. (2007) Relationship Among Histologic, Radiologic, and Biochemical Assessments of Hepatic Steatosis: A Study of Human Liver Samples. *J Clin Gastroenterol*, 41, 206-210.
- WESTPHALEN, A. C. A., QAYYUM, A., YEH, B. M., MERRIMAN, R. B., LEE, J. A., LAMBA, A., LU, Y. et COAKLEY, F. V. (2007) Liver Fat: Effect of Hepatic Iron Deposition on Evaluation with Opposed-Phase MR Imaging. *Radiology*, 242, 450-455.
- ZAFRANI, E. S. (2004) Non-alcoholic fatty liver disease: an emerging pathological spectrum. *Virchows Arch*, 444, 3-12.

ANNEXE 1 : Dérivation de l'équation de Larmor

La magnitude du signal émis par un dipôle magnétique N (son moment magnétique μ) est définie selon l'équation suivante :

$$\mu_N = \gamma_N J \quad (\text{Équation 1.1})$$

Dans l'équation 1.1, le symbole grec gamma représente le ratio gyromagnétique. Ce paramètre est une constante de proportionnalité inhérente à chaque dipôle magnétique, donc chaque élément atomique aura son propre ratio gyromagnétique. Le symbole J quant à lui représente le spin angulaire du dipôle. Ce paramètre possédant une direction et une magnitude, donc étant un vecteur, il est plus aisé de le décomposer en un scalaire. L'équation 1.1 deviendra donc :

$$\mu_N = \gamma_N \hbar I \quad (\text{Équation 1.2})$$

Dans cette équation, le spin angulaire J est remplacé par son équivalent, soit le produit du spin I scalaire (sans dimension) avec la constante de Planck, qui est divisée par 2π . Le spin est une variable dite quantifiée, puisqu'elle ne peut comporter que des valeurs précises d'énergie, qui sont des incréments de $\frac{1}{2}$. Un spin comportera toujours $2I + 1$ états de spin, c'est-à-dire des niveaux où l'énergie sera émise ou reçue dans un intervalle $[-I, +I]$. Pour l'hydrogène, son numéro de spin pourra prendre 2 valeurs (soit $\frac{1}{2}$ et $-\frac{1}{2}$, I étant égal à $\frac{1}{2}$ en valeur absolue). Ces valeurs correspondent à deux niveaux d'énergie, ou deux états, soit l'état *spin up* pour un niveau I correspondant à $-\frac{1}{2}$ et *spin down* pour un niveau I correspondant à $+\frac{1}{2}$. Cette discrimination des niveaux d'énergie se nomme l'*effet Zeeman*.

Lorsque les dipôles magnétiques dans l'espace ne sont pas influencés par le champ magnétique externe B_0 , les spins sont tous au même niveau d'énergie, sans toutefois avoir la même orientation spatiale. Dès l'induction du B_0 , les spins s'aligneront dans l'espace selon la direction de ce dernier et le niveau d'énergie va changer. Cette interaction entre deux vecteurs prend la forme d'un produit scalaire, car l'énergie est indépen-

dante de toute direction. Une nouvelle équation illustre cette interaction en fonction de l'énergie I_z , soit le niveau d'énergie distribuée dans l'axe des z :

$$E = \mu \cdot B = \gamma \hbar I \cdot B \quad (\text{Équation 1.3})$$

Dans l'équation 1.3, il y a intégration de l'équation 1.2 et disparition du N en indice pour illustrer l'énergie qui résulte de l'interaction entre la somme des dipôles et du champ magnétique externe. Cette équation peut être encore plus simplifiée puisque le B_0 ne comporte qu'une seule composante vectorielle orientée dans l'axe des z . Donc, le produit vectoriel se simplifie, ce qui donne une nouvelle équation de l'énergie :

$$E = \gamma \hbar I_z B_0 = \pm \frac{1}{2} \gamma \hbar B_0 \quad (\text{Équation 1.4})$$

La constante $\pm \frac{1}{2}$ dans l'équation 1.4 provient des deux valeurs assignées au moment de spin I . Selon la physique, l'énergie qui sera émise par les dipôles lorsque ces derniers seront sous l'emprise du champ magnétique externe B_0 correspondra à la différence d'énergie (ΔE) entre les deux états de spin, soit l'état $I_z = + \frac{1}{2}$ et $I_z = - \frac{1}{2}$. Cette différence d'énergie s'exprime selon l'équation de Planck :

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \nu_0 = \gamma \hbar B_0 \quad (\text{Équation 1.5})$$

L'équation 1.5 se simplifie davantage, car la constante de Planck s'annule des deux côtés de l'équation, ce qui donne en fin de compte :

$$\nu_0 = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (\text{Équation 1.6})$$

ou

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (\text{Équation 1.7})$$

Les équations 1.6 et 1.7 expriment toutes deux la même fréquence appelée fréquence de Larmor. L'équation 1.6 l'exprime en fonction d'une fréquence linéaire alors que l'équation 1.7 utilise l'opérateur ω ($\omega=2\pi\nu$) pour convertir le tout en fréquence angulaire.

ANNEXE 2 : La transformée de Fourier

La transformée de Fourier (TF) permet de soustraire trois informations principales qui sont difficiles à analyser dans le domaine temporel, à savoir l'intensité, la fréquence et la phase. La Figure ci-après permet de décortiquer la fonction de l'outil mathématique. Lorsqu'un spin tourne selon une composante M_x , le signal qu'il décrira sera une courbe de type cosinus. L'intensité du signal (l'amplitude de l'onde sinusoïdale) et sa fréquence étant constantes, la TF produit une raie verticale localisée à un point bien précis sur l'axe des abscisses, correspondant à sa fréquence. La longueur de la raie correspond à l'amplitude de l'onde. Cependant, deux sens de rotation sont possibles, à savoir horaire et antihoraire.

La TF de ce signal produira donc deux raies qui graphiquement, sont positionnées de part et d'autre de l'axe d'intensité en ordonnée, et seront équidistantes, selon l'axe des fréquences en abscisse. La fonction cosinus étant paire, les deux raies sont donc toutes les deux positives. Le même raisonnement s'applique pour la composante M_y de la magnétisation. La courbe du signal dans le domaine temporel équivaut à un sinus. Deux possibilités de direction rotationnelle sont possibles, et cette fois, les deux raies seront d'amplitude inversée, puisque la fonction sinus est impaire.

La TF permet donc d'additionner ces fréquences ($\pm \nu_x$ et ν_y), en prenant en charge deux fonctions d'entrée orthogonales, soit une composante réelle et une autre composante imaginaire. Les appareils d'imagerie d'aujourd'hui permettent de détecter ces deux composantes de la TF en appliquant une méthode de détection en quadrature plutôt que linéaire. Par convention, la composante M_x de la magnétisation est la partie réelle, alors que la composante M_y est imaginaire.

En considérant l'équation de la TF, il s'agit d'appliquer une sommation de la fonction $f(t)$ avec une autre fonction, de nature ondulatoire, qui contient une composante réelle, le cosinus, et une composante imaginaire, le sinus. Cette sommation peut aussi être interprétée comme étant la fusion des deux fonctions. Ainsi, la TF permettra de sommer les amplitudes dans le domaine fréquentiel à partir de données dans le domaine temporel.

Également, la transformée de Fourier inverse (TFI) permet d'effectuer la sommation d'ondes ondulatoires dans le domaine temporel à partir des fréquences obtenues dans le domaine fréquentiel (Figure 36).

LA TRANSFORMÉE DE FOURIER

$$f(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) e^{-i\omega t} dt = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) [\cos(\omega t) - i \sin(\omega t)] dt$$

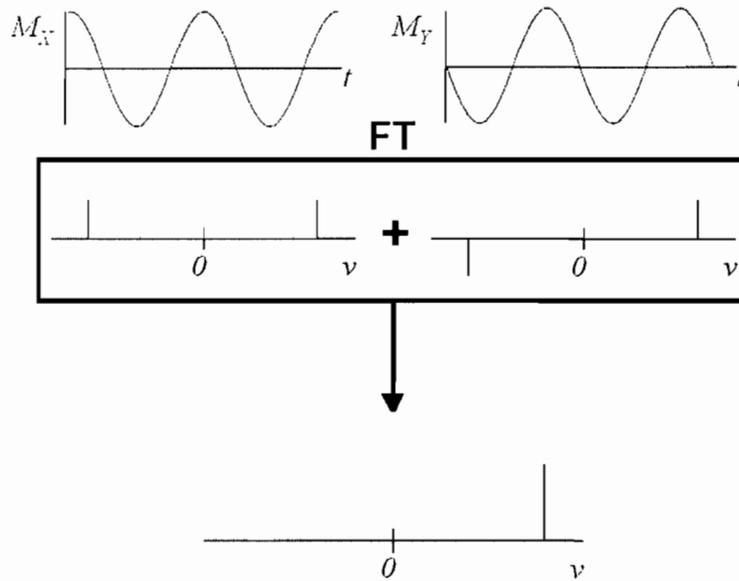


Figure 36: Schéma représentant le résultat d'une transformée de Fourier

ANNEXE 3 : Le déplacement chimique

Le champ B_{local} possède l'équation suivante :

$$B_{local} = B_0(1 - \sigma) \quad (\text{Équation 3.1})$$

En se référant à l'équation 1.6 de l'Annexe 1, la vitesse angulaire ν_0 s'exprimera en fonction du B_{local} , ce qui donnera une nouvelle équation :

$$\nu_0 = \frac{\gamma B_0(1 - \sigma)}{2\pi} \quad (\text{Équation 3.2})$$

L'incorporation de la constante de blindage vient pondérer l'influence du facteur B_0 dans l'équation. Ainsi, un noyau dont le blindage électronique est faible aura une plus grande fréquence de résonance, le paramètre B_0 étant moins pondéré à la baisse que lorsque le blindage électronique est élevé (la constante σ étant affectée à la soustraction). L'électronégativité d'un groupement chimique influencera significativement le blindage. Un groupement contenant un atome fortement électronégatif provoquera une hausse de la fréquence de résonance des protons qui le constituent, puisque les électrons sont plus proches de l'atome électronégatif.

Par convention, et dans un souci pratique, un système d'unités spécial a été développé pour contrer le fait que l'information chimique recherchée est soutirée à partir de très petites différences entre de très grands nombres (dans l'ordre des *MHz* de fréquence). Chaque groupement chimique sera donc comparé à une fréquence de référence relative calibrée à zéro, autant pour la spectroscopie du proton et du carbone-13. Cette fréquence est associée au tétraméthylsilane $[(CH_3)_4Si]$, plus communément abrégé TMS, une substance relativement soluble dans les solvants organiques, et dont les atomes de silicone possèdent une très faible électronégativité. Les atomes de carbone et les protons sont donc fortement blindés par les électrons. Ce blindage est tellement intense que la fréquence de résonance du TMS est extrêmement faible par rapport à celles des autres groupements chimiques.

Le déplacement chimique (DC) est donc la mesure de la distance fréquentielle d'une substance lorsque celle-ci est comparée avec la fréquence de référence. L'équation 3.2 devra donc être réécrite deux fois, avec les paramètres ν_i et σ_i pour le noyau d'intérêt, et ν_r et σ_r pour le TMS, la référence. Le déplacement s'exprimera donc ainsi :

$$\Delta\nu = \nu_i - \nu_r = \frac{\gamma B_0(\sigma_r - \sigma_i)}{2\pi} = \frac{\gamma B_0 \Delta\sigma}{2\pi} \quad (\text{Équation 3.3})$$

Plus le champ magnétique externe B_0 est intense, plus la différence fréquentielle, ou le déplacement chimique, est grande. Pour pouvoir uniformiser les données et les utiliser indépendamment de la force du champ externe, le déplacement chimique sera reformulé pour se débarrasser du paramètre B_0 dans l'équation. Pour ce faire, il suffit de diviser l'équation 3.3 par l'équation 3.2 avec le paramètre ν_r et σ_r . Les constantes vont ainsi s'annuler pour donner le rapport suivant :

$$\delta = \frac{\Delta\nu}{\nu_r} = \frac{\sigma_r - \sigma_i}{1 - \sigma_r} \approx \sigma_r - \sigma_i \quad (\text{Équation 3.4})$$

L'équation 3.4 introduit un nouveau paramètre, δ , qui symbolise le déplacement chimique. Son échelle est graduée en parties par million (ppm), car le rapport entre la différence fréquentielle et la fréquence de référence s'exprime, en unités, en Hz/MHz. Également, le paramètre δ exprime la différence entre le blindage du noyau de référence (σ_r) et celui d'intérêt (σ_i), puisque le blindage de référence est considéré comme étant infiniment minime ($1 - \sigma_r \approx 1$). Cette nouvelle échelle relative permet d'éviter de prendre en considération le facteur du champ magnétique B_0 , facteur qui entre obligatoirement en ligne de compte lorsque l'échelle fréquentielle absolue est utilisée.

Les spectromètres modernes, lors de l'acquisition du signal, vont faire varier l'impulsion RF B_1 tout en gardant le champ B_0 constant. Par conséquent, selon l'équation 3.2, une augmentation du blindage (constante σ) fait diminuer la valeur de la partie à droite de l'équation. Ainsi, dans le but de garder le champ B_0 constant, il faut que la fréquence de résonance ν_0 diminue aussi. Par convention, l'échelle δ des fréquences du dé-

placement chimique augmente de droite à gauche, avec la fréquence de référence (le TMS) à l'extrême droite. Cette inversion est requise pour garder le sens conventionnel de la hausse d'intensité du champ magnétique externe B_0 de gauche à droite. La Figure 37 illustre les conventions de variation des paramètres selon l'axe du DC.

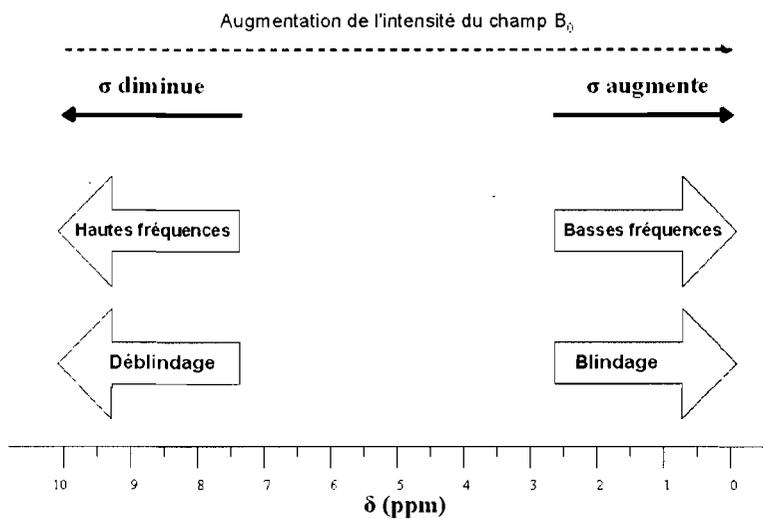


Figure 37: Conventions de l'axe du déplacement chimique δ

ANNEXE 4: Le couplage scalaire

Le cas le plus simple de couplage scalaire est lorsqu'un spin, appelé « A » possède, dans son voisinage immédiat, un autre spin, appelé « X », qui résonne à la même fréquence, mais qui appartient à un groupement chimique différent. Cet arrangement porte le nom de **couplage AX**. Le voisinage de chaque spin H_A , dans lequel se trouve un spin H_X , a une équiprobabilité d'avoir un moment magnétique de spin I_Z de $+\frac{1}{2}$ et $-\frac{1}{2}$. Inversement, chaque spin H_X , ayant dans son voisinage un spin H_A , a lui aussi une équiprobabilité d'avoir un moment magnétique de spin de $\pm \frac{1}{2}$. Dans les deux situations, il existe donc deux environnements chimiques différents (l'orientation du vecteur de magnétisation étant opposée) qui ont une possibilité équivalente de se produire. Le rapport de probabilité est donc de 1 :1. Le pic de résonance va se séparer en deux pour tenir compte de ces deux environnements distincts. Graphiquement parlant, le spectre de RM aura par conséquent deux pics principaux composés chacun de deux multiplets ayant chacun la même amplitude.

D'autres dissociations spin-spin peuvent avoir lieu lorsqu'un spin donné se trouve à proximité de deux spins équivalents dans son voisinage. Le couplage devient alors AX_2 (Figure 22). Les probabilités que les spins H_X aient dans leur entourage des spins H_A résonnant avec un I_Z de $\pm \frac{1}{2}$ sont égales, ce qui revient au cas du couplage AX. Le pic de résonance des spins H_X va donc être composé de deux multiplets ayant la même amplitude. Cependant, les spins H_A vont avoir deux spins H_X voisins dans leur voisinage immédiat. Trois possibilités d'alignement vont donc être possibles. Considérant les spins H_X collectivement, les deux peuvent être alignés positivement ($++ \frac{1}{2}$), les deux peuvent être négatifs ($-- \frac{1}{2}$) ou bien un est aligné positivement ($+ \frac{1}{2}$) et un négativement ($- \frac{1}{2}$). Dans ce dernier cas, la probabilité d'obtenir un tel alignement global est deux fois plus élevée, puisque les possibilités peuvent être $+ -$ ou $- +$. Les probabilités ne sont donc plus équiprobables, elles respectent un rapport de type 1 :2 :1. Le pic de résonance du spin A aura donc l'allure d'un triplet, avec le multiplet central ayant une amplitude deux fois plus grande que les multiplets latéraux formant le pic. En résumé, un couplage AX_2 donnera un spectre composé d'un triplet, suivi d'un doublet.

COUPLAGE AX₂

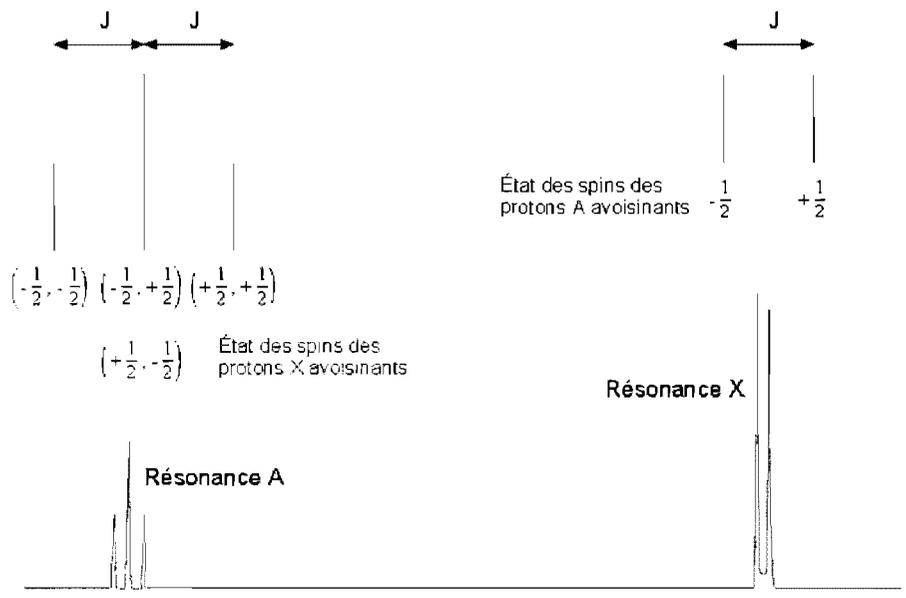


Figure 38: Le couplage AX₂, où 2 spins de protons H_X résonnent dans le voisinage d'un troisième, le proton H_A. Le spectre sera composé d'un triplet (résonance du spin H_A) et d'un doublet (résonance du spin H_X).

La Figure 38 schématise la répartition des pics d'un multiplet à l'aide d'une constante appelée *constante de couplage J*. Elle représente la distance, mesurée en Hertz, entre deux multiplets composant la résonance d'un noyau. Elle demeure constante pour tous les noyaux résonnant au sein du voxel, car elle mesure les interactions entre ceux-ci. Elle est aussi indépendante du champ B_0 , et n'est donc pas influencée par la force du champ magnétique. La constante de couplage se calcule en multipliant la valeur du déplacement chimique (constante δ) avec la fréquence de résonance (ν_0), ce qui donnera une valeur en Hertz.

Afin de trouver l'arrangement spectral d'un couplage de type AX_N, il suffit d'appliquer la règle suivante. Le noyau à n spins équivalents avoisinants aura un pic composé de $n + 1$ multiplets dont les amplitudes obéissent aux coefficients de l'expansion binomiale du triangle de Pascal (Figure 39).

LE TRIANGLE DE PASCAL

# de spins voisins	intensités relatives						dispositions			
0	1						singulet			
1	1		1				doublet			
2	1	2		1			triplet			
3	1	3	3		1		quartet			
4	1	4	6	4		1		quintet		
5	1	5	10	10		5		1		sextet

Figure 39: Le triangle de Pascal se construit en additionnant les deux entiers adjacents d'une ligne horizontale, pour ensuite placer le résultat entre ces deux entiers, une ligne en dessous. Chaque ligne représente l'arrangement des amplitudes relatives de chaque multiplet au sein du pic de résonance d'un noyau ayant n spins dans son voisinage.

ANNEXE 5: La segmentation automatique des vacuoles de graisse dans des coupes histologiques du foie

Voici la description de l'algorithme de segmentation des vacuoles lipidiques à partir des images numériques des lames histologiques tel que conçu par Claude Kauffmann, chercheur en traitement d'images médicales au Département de radiologie de l'hôpital Notre-Dame du CHUM.

«La méthode de segmentation automatique développée se divise en trois étapes principales.

La première consiste à analyser l'image brute du microscope afin de corriger les inhomogénéités engendrées par les conditions et le type d'éclairage de l'échantillon photographié. Dans cette étape, deux approches sont possibles. La première approche consiste à tirer avantage du fait que l'image est en couleur. On peut ainsi convertir l'image en standard format RGB vers un format HSV (*Hue, Saturation, Value*) qui permet de séparer les composantes propres à la variation de l'éclairage de celles propres aux teintes des objets. Dans ce cas on peut travailler directement avec le canal H (*Hue*) qui est très peu affecté par les variations spatiales de l'intensité de l'éclairage. La seconde approche consiste à transformer l'image couleur RGB en une image monochrome en noir et blanc et d'en extraire la composante qui caractérise les variations spatiales de l'intensité de l'éclairage. La Figure 40 présente le motif d'éclairage extrait de l'image originale et la Figure 41 montre l'image corrigée.

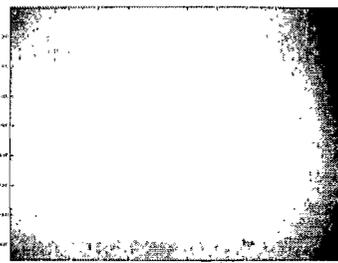


Figure 40: Motif d'éclairage extrait après avoir séparé les composantes de variations spatiales d'éclairage de celles des teintes des objets.

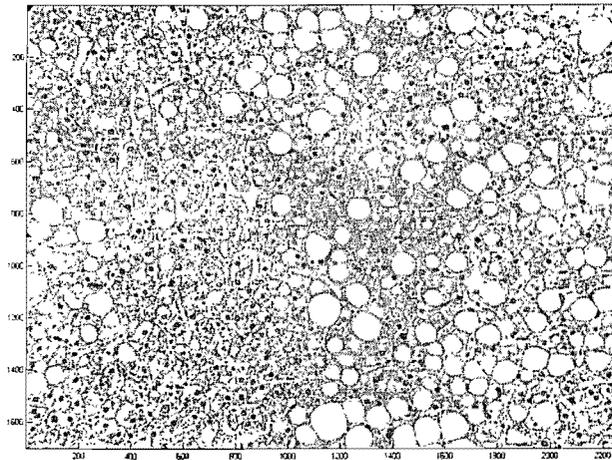


Figure 41: Image monochrome corrigée après l'extraction des variations spatiales de l'éclairage.

À présent, l'intensité des objets est homogène dans la totalité de l'image et l'on peut procéder à l'étape 2 qui consiste à classifier les niveaux de gris de l'image afin de segmenter les vacuoles. L'étape 3 consiste à effectuer une analyse de forme basée sur la circularité des vacuoles et sur une connaissance *a priori* de la surface minimale acceptable. La Figure 42 montre un échantillon mettant en évidence les vacuoles segmentées par un contour jaune. Le taux de graisse est calculé en divisant la somme des surfaces des vacuoles segmentées par la surface totale de l'échantillon.»

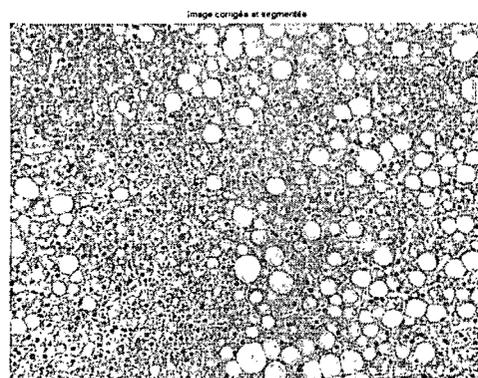


Figure 42: Image des vacuoles lipidiques segmentées. Le pourcentage de graisse se calcule en faisant le rapport entre la somme des surfaces des vacuoles segmentées et la surface totale de l'échantillon.