

LA MICRORADIOGRAPHIE DANS L'ÉTUDE DES PARAMÈTRES TRABÉCULAIRES

B. FLAUTRE, P. HARDOUIN

La variation interméthode de la mesure du volume trabéculaire osseux (V.T.O.) et de l'estimation indirecte de sa microstructure selon Parfitt en 1983 [épaisseur MTPT (μm), densité MTPD (/mm) et séparation des travées osseuses MTPS (μm)] a été évaluée pour 7 biopsies de crête iliaque, par la technique d'os non décalcifié, au moyen de l'analyseur automatique d'images, sur microradiographie de coupe de $100\ \mu$ en se référant aux méthodes manuelles de référence de coupes de $7\ \mu\text{m}$ de la littérature.

Pour chaque biopsie, trois coupes contiguës de $7\ \mu\text{m}$ colorées par la méthode de Goldner suivies d'une coupe de $100\ \mu$ microradiographiée ont été réalisées. Une coloration de surface a été faite sur la face qui a servi à l'enregistrement microradiographique.

Le volume trabéculaire osseux a été mesuré par les méthodes manuelle et automatique.

La méthode automatique sur microradiographie sous-estime de 24,42% le volume trabéculaire osseux par rapport à la méthode manuelle de référence de la littérature de coupes colorées de $7\ \mu$. Il existe une bonne corrélation ($r = 0,75$; $p < 0,02$) entre la méthode automatique et la méthode manuelle de référence.

L'épaisseur des travées spongieuses MTPT (μm), la densité MTPD (/mm) et leur séparation MTPS (μm) ont été mesurées par la méthode semi-automatique et la méthode automatique d'images. La méthode automatique sur microradiographie sous-estime l'épaisseur des travées MTPT (μm) de 18,98% et leur densité MTPD (/mm) de 14,14% et surestime leur séparation MTPS (μm) de 23,17%. En ce qui concerne l'épaisseur des travées il existe une bonne corrélation entre les deux méthodes d'évaluation ($r = 0,88$; $p < 0,02$), de même pour leur densité MTPD (/mm) ($r = 0,97$; $p < 0,001$) et leur séparation MTPS (μm) ($r = 0,86$; $p < 0,002$).

Keywords : microradiography ; trabecular parameters.

Mots-clés : microradiographie ; paramètres trabéculaires.

INTRODUCTION

Depuis une vingtaine d'années (4, 5, 16, 19), l'histomorphométrie réalisée à l'aide d'oculaires à points et à lignes a permis de mesurer la diminution de la masse osseuse au niveau du spongieux de la crête iliaque à la fois en fonction de l'âge mais surtout en fonction du sexe (11, 21, 23, 24, 26). Plus récemment, l'analyseur automatique d'images a donné des possibilités nouvelles d'études à ce problème, en permettant, sur coupes colorées, la mesure de l'architecture des travées spongieuses (3, 6, 7, 15, 17, 18, 20, 22, 25, 27, 28, 29). Il nous est apparu plus intéressant d'évaluer la structure de cette architecture à partir des microradiographies (1, 2, 13). Cette technique, réalisée dans notre service, permet à faible grossissement, en automatique (IBAS II, Zeiss, pour la partie optique et Kontron, Munich, BRD, pour la partie informatique), une discrimination facile du tissu minéralisé.

L'objectif de notre travail est de recueillir des données quantitatives sur les microradiographies à propos de la surface et du périmètre de cette microstructure osseuse spongieuse en vue de l'éva-

Institut de Recherche sur les Maladies du Squelette. Institut Calot. Berck/s/Mer, France.

Correspondance et tirés à part : B. Flautre.

luation du volume trabéculaire osseux iliaque et de l'estimation des paramètres de son architecture, épaisseur, densité et séparation de ses travées traduite par Parfitt *et al.* en 1983 (25).

Nous allons comparer, les mesures faites sur les microradiographies de coupes de 100 μ avec celles de la littérature qui concernent des coupes semi-fines de 7 μ , en nous référant au travail de P. Chavassieux *et al.* (8, 9).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel

À partir de 7 biopsies de crêtes iliaques humaines prises au hasard nous avons réalisé pour chacune d'elles des coupes contiguës :

- 3 coupes semi-fines sériées de 7 μ prélevées à l'aide du microtome K de Yung (Jouan-Quetin, St-Nazaire, France). Ces coupes, «numérotées» F1, F2, F3 seront colorées selon la méthode de Goldner (1938).

- 1 coupe de 100 μ obtenue par une scie diamantée (Leitz 1600, Wetzlar, BRD) dont l'enregistrement microradiographique a été réalisé sur la face qui se trouve en vis-à-vis de la coupe F3.

- 1 coloration de surface de cette face de section.

À partir de toutes ces sections traitées différemment, les mesures du volume trabéculaire osseux ont été réalisées par les différentes méthodes d'évaluation :

2. Techniques de mesures

2.1. Méthode à points = méthode manuelle

On se sert de l'oculaire intégrateur Zeiss I à points selon une technique utilisée par Bordier *et al.* (4) et Meunier (19). Dans cet oculaire KPL8 se trouve un réticule de 6 lignes sur lesquelles sont marqués 25 points d'intersection. La lecture consiste à compter à un grossissement de X80 le nombre de points se projetant sur les travées osseuses spongieuses, os minéralisé et tissu ostéoïde. Le nombre obtenu divisé par 25 exprime le pourcentage de la surface occupée par le tissu spongieux. La précision de la méthode pour les 45 positions de l'oculaire est de 0,7% en valeur absolue sur la table des abaques de chez Zeiss. Cette méthode servira de méthode de référence.

2.2. Méthode automatique

L'analyseur automatique d'images IBAS II permet de visualiser sur l'écran d'un téléviseur un champ de tissu osseux spongieux par l'intermédiaire d'un microscope et d'une caméra de télévision noir et blanc. À l'aide d'une tablette digitalisée munie d'un curseur, l'opérateur va transformer au moyen d'un logiciel relié à une centrale, l'image réelle en image binaire. Les mesures sont réalisées en grandeur réelle après introduction d'un coefficient d'échelle de mesure, (millimètre) correspondant à l'agrandissement choisi (x25). À partir d'une même image binaire, la surface et la longueur de la structure osseuse visualisée sont mesurées simultanément. Trois à quatre champs par coupe ont été mesurés. Après avoir fait cinq fois la mesure par coupe, le coefficient de variation intra-observateur sur l'évaluation de la surface est de 2,63% et 0,70% pour la longueur.

2.3. Méthode semi-automatique

Outre les méthodes manuelle et automatique, le volume et la microstructure du tissu spongieux peuvent également être évalués à l'aide d'une méthode semi-automatique, où un ordinateur calcule la surface d'une structure dont le périmètre a été dessiné sur une tablette magnétique. M. C. de Vernejoul *et al.* (1981) (12) ont comparé les méthodes manuelle et semi-automatique et ont montré qu'il existait entre elles une corrélation hautement significative ($r = 0,97$, $P < 0,001$) sur coupes semi-fines de 7 microns. Il ne nous est donc pas paru nécessaire de reprendre ce moyen d'évaluation (test à lignes) comme méthode de référence pour la mesure des longueurs.

La méthode semi-automatique servira donc de référence pour l'évaluation des paramètres de l'architecture spongieuse ; épaisseur MTPT (μ m), densité MTPD (/mm) et séparation des travées osseuses MTPS (μ m). La précision sur la mesure est de 3,49% pour l'évaluation de la surface et 10,84% pour celle de la longueur.

3. Méthodes statistiques

3.1. Variation intra-observateur

La variation intra-observateur a été établie pour chaque méthode et inter-méthode en prenant toujours pour référence la méthode manuelle de la littérature sur coupes de 7 μ . Elle a été estimée par le rapport entre l'écart type et la moyenne (coefficient de variation). Les mesures ont été faites, pour chaque biopsie, cinq

fois, par un même observateur. Notre objectif était de savoir si la technique microradiographique était un moyen d'évaluation fiable dans l'étude histomorphométrique du tissu spongieux iliaque pour la population de nos sept malades constituant notre échantillon.

3.2. La variation intra-paire

a été calculée à partir de la formule

$$\frac{(d^2)}{\varepsilon \cdot 2n}$$

où $d = \times 1 - \times 2$ ($\times 1$ représentant la valeur trouvée par la méthode manuelle sur coupes semi-fines et $\times 2$ la valeur trouvée par la méthode automatique).

3.3. L'écart-type intra-paire

est la racine carrée de la variance intra-paire trouvée.

3.4. Le coefficient de variation intra-paire

est calculé comme suit :

$$c.v = \frac{s}{m} \times 100$$

où m est la moyenne de toutes les mesures $\times 1$ et $\times 2$.

3.5. Étude de la normalité d'une distribution

La normalité a été vérifiée par la méthode graphique (Droite de Henry), notre effectif étant inférieur à 30.

3.6. Étude de l'indépendance entre deux caractères quantitatifs

Le test d'indépendance entre deux valeurs quantitatives aléatoires est basé sur le coefficient r appelé coefficient de corrélation observée. Les variables suivent la loi de la normalité ; en fonction du degré de liberté

$(n - 2)$ et de la probabilité associée pour un risque égal à 5%, le coefficient de corrélation mesure l'intensité de la liaison.

RÉSULTATS

1. Pour l'évaluation du volume trabéculaire osseux de la crête iliaque humaine (VTO)

1.1. Le coefficient de variation intra-observateur de l'ensemble de la population effectué sur coupes semi-fines de 7μ est de 25% pour la méthode manuelle de référence (test à points). Pour la méthode automatique sur les microradiographies il passe à 23,5% pour atteindre 19,74% sur coupes semi-fines de 7μ en semi-automatique et 17,75% sur la coloration de surface de la coupe de 100μ (tabl. I).

1.2. Le coefficient de variation, en individualisant chaque malade, a été calculé à partir de 5 mesures effectuées par échantillon osseux à cinq reprises (tabl. II).

1.3. Variation inter-méthodes dans la mesure du VTO.

Elle donne pour un même paramètre (VTO) la variation de son évaluation en fonction des différents moyens techniques que nous avons utilisés.

— Étude globale :

La valeur moyenne du volume trabéculaire osseux par échantillon suivant les différentes techniques et méthodes est récapitulée dans le tableau III.

En ce qui concerne la méthode manuelle de référence (RMSF) (test à points), la valeur moyenne

Tableau I. — Volume trabéculaire moyen pour l'ensemble des 7 biopsies avec le coefficient de variation suivant les différentes techniques d'évaluation en %

V.T.O. moyen				C.V.			
Référence Manuelle SF	Semi-auto SF global	Semi-auto Surf	Auto Mx	Référence Manuelle SF	SF global	SURF	Mx
14 ± 3,5	15,7 ± 3,1	16,9 ± 3	10,2 ± 2,4	25	19,74	17,75	23,5

± SD : standard deviation ; VTO : Volume trabéculaire osseux ; SFGLOB : Coupes semi-fines (F1 + F2 + F3) ; SURF : Coloration de surface ; Mx : Microradiographie ; CV : Coefficient de variation intra-observateur en %.

Tableau II. — Coefficients de variation en pourcentage intra-observateur en individualisant chaque malade suivant les différentes méthodes et pour les différentes techniques d'évaluation du VTO

Malade	Référence Manuelle SF	Semi-auto			SF global F1 + F2 + F3	Semi-auto	Auto
		SF1	SF2	SF3		SURF	Mx
4691	3,34	13,02	12,25	9,53	8,40	10,7	11,52
4727	5,45	7,36	5,70	6,63	2,18	11,65	5,71
3913	3,15	3,32	3,92	5,59	2,19	5,77	4,90
071	4,36	11,60	10,48	3,14	3,13	10,14	3,84
4781	4,1	13,67	8,4	20,15	12,8	7,8	6,59
3606	9,13	7,8	3,68	6,07	2,56	12,04	5,04
3308	7,29	9,5	8,1	8,6	4,38	6	7,32

Référence Manuelle SF sur coupes semi-fines ; test à points (F1 + F2 + F3) ; SF1 : coupe semi-fine n° 1 ; SF2 : coupe semi-fine n° 2 ; SF3 : coupe semi-fine n° 3 ; SFGLOB : (F1 + F2 + F3) ; Mx : Microradiographie ; SURF : coloration de surface.

Tableau III. — Volume trabéculaire osseux moyen en % par biopsie suivant les différentes méthodes utilisées pour les différentes techniques de réalisation des sections

Malade	Référence Manuelle SF	Semi-auto			SF global	Semi-auto	Auto
		SF1	SF2	SF3		SURF	Mx
4691	9,57	14,66	13,79	15	14,28	17,63	7,20
	± 0,32	± 1,91	± 1,69	± 1,43	± 1,20	± 1,88	± 0,83
4727	14,68	15,07	16,12	14,32	15,12	14,07	9,45
	± 0,8	± 1,11	± 0,92	± 0,95	± 0,33	± 1,64	± 0,54
3913	18,38	20,15	18,60	18,77	19,13	17,67	14,68
	± 0,58	± 0,67	± 0,73	± 1,05	± 0,42	± 1,02	± 0,72
071	19,26	22,23	20,12	18,13	19,43	21,78	10,13
	± 0,84	± 2,58	± 2,11	± 0,57	± 0,61	± 2,21	± 0,39
4781	11,7	11,7	11,9	12,9	12,5	15,3	9,1
	± 0,48	± 1,6	± 1	± 2,6	± 1,6	± 1,2	± 0,6
3308	14,67	16,75	17,14	17,44	17,10	18,31	11,87
	± 1,07	± 1,6	± 1,4	± 1,5	± 0,75	± 1,10	± 0,87
3306	10,29	11,73	11,41	12,02	11,72	13,20	8,52
	± 0,94	± 0,92	± 0,42	± 0,73	± 0,30	± 1,59	± 0,43
Moyenne	14,07				15,61	16,85	10,13
	± 0,71				± 0,74	± 1,52	± 0,62

SF1 : coupe semi-fine n° 1 ; SF2 : coupe semi-fine n° 2 ; SF3 : coupe semi-fine n° 3 ; SURF : coloration de surface ; Mx : Microradiographie ; SFGLOB : (F1 + F2 + F3).

du volume trabéculaire osseux est de $14,07 \pm 0,71$ (extrêmes : min = 9,57 ; max = 19,26).

Cette valeur s'abaisse à $10,13 \pm 0,62$ (extrêmes : min = 7,20 ; max = 14,68) lorsqu'elle est obtenue de manière automatique à l'analyseur d'images de microradiographies (Mx).

En revanche elle s'élève à la fois lorsqu'elle est obtenue de manière semi-automatique sur coloration de surface (section de 100μ) $16,85 \pm 1,52$ (extrêmes : 13,20 ; 21,78) et sur coupes semi-fines de 7μ (SFGLOBAL) $15,61 \pm 0,74$ (extrêmes : 11,72 ; 19,43).

— Valeur absolue de la moyenne des différences et écart-type intra-paire :

La valeur absolue de la moyenne des différences et l'écart-type intrapaire sont rapportés à la méthode de référence manuelle (test à points). Ils sont récapitulés, pour les différentes techniques et méthodes d'évaluation, dans les tableaux IV et V.

— La différence en pourcentage des différentes méthodes par rapport à la référence manuelle est donnée dans le tableau VI.

Pour ce qui est de la microradiographie elle sous-estime l'évaluation du volume trabéculaire osseux de la crête iliaque de 24,42%.

Il existe une corrélation linéaire significative entre ces deux méthodes quantitatives d'évaluation : $r = 0,75$; ddl : 5, $p < 0,02$.

Tableau IV. — Valeur absolue moyenne des différences entre les méthodes semi-automatique, automatique et la référence manuelle sur coupe semi-fine pour évaluation du VTO

Malade	Semi-auto			SF global F1 + F2 + F3	Auto	Semi-auto
	SF1	SF2	SF3		Mx	SURF
4691	5,09	4,22	5,43	4,71	- 2,37	8,06
4727	0,39	1,44	- 0,36	0,44	- 5,23	- 0,61
3913	1,77	0,22	0,39	0,75	- 3,70	- 0,71
071	2,97	0,86	- 1,13	0,17	- 9,13	2,52
4781	0	0,2	1,2	0,8	- 2,6	3,6
3308	2,08	2,47	2,77	2,43	- 2,8	3,64
3306	1,44	1,12	1,73	1,43	- 1,77	2,91
Moyenne	1,96	1,50	1,43	2,51	- 3,9	2,77

SF1 : coupe semi-fine n° 1 ; SF2 : coupe semi-fine n° 2 ; SF3 : coupe semi-fine n° 3 ; SFGLOB : (F1 + F2 + F3) ; Mx : Microradiographie ; SURF : Coloration de surface ; \pm SD : Standard deviation.

Tableau V. — Coefficient de variation intra-paire entre technique manuelle sur coupes semi-fines et méthode automatique sur microradiographie et semi-automatique sur coloration de surface
Évaluation du VTO

	Semi-auto			Semi-auto	Auto	Semi-auto
	F1	F2	F3	SF global F1 + F2 + F3	Mx	SURF
Écart-type intra-paire	1,77	1,41	1,75	1,5	3,25	2,76
Coefficient de variation %	11,76	9,4	11,83	10,10	26,85	17,85

F1 : coupe semi-fine n° 1 ; F2 : coupe semi-fine n° 2 ; F3 : coupe semi-fine n° 3 ; Mx : Microradiographie ; SURF : Coloration de surface ; SFGLOB : F1 + F2 + F3.

Tableau VI. — Différence exprimée en pourcentage de la mesure manuelle de référence sur SF

Malades	Semi-automatique			SF global F1 + F2 + F3	Auto	Semi-auto
	SF1	SF2	SF3		Mx	SURF
4691	53,18	44,09	56,73	49,21	- 24,76	84,22
4727	2,65	9,80	- 0,024	2,99	- 35,63	- 0,041
3913	9,63	1,19	2,12	4,08	- 20,13	- 0,038
071	15,42	4,46	- 5,86	0,88	- 47,40	13,08
4781	0	1,71	10,25	6,83	- 22,22	30,76
3308	14,18	16,83	18,88	16,56	- 19,08	24,81
3306	13,99	10,88	16,81	13,89	- 1,72	28,27
Moyenne	15,58	12,71	14,13	13,49	- 24,42	25,86

SF1 : coupe semi-fine n° 1 ; SF2 : coupe semi-fine n° 2 ; SF3 : coupe semi-fine n° 3 ; SFGLOB : (F1 + F2 + F3) ; Mx : Microradiographie ; SURF : coloration de surface.

L'équation de la droite de régression s'écrit : VTP Mx automatique = 0,50 VTO semi-fines test à points + 3,02.

2. Évaluation de l'épaisseur des travées (MTPT μm), de leur densité (MTPD/mm) et de leur séparation (MTPS μm)

Elle permet par une estimation indirecte de traduire, en trois dimensions, l'architecture de la microstructure osseuse spongieuse.

2.1. Le tableau VII récapitule les données pour les différentes méthodes et techniques utilisées. Le tableau VIII donne le coefficient de variation intra-observateur des mesures.

2.2. L'évaluation de l'épaisseur moyenne des travées est sous-estimée de 18,98% sur les microradiographies par rapport à la méthode semi-automatique de référence. Il existe cependant une corrélation linéaire entre ces deux méthodes et ces deux techniques d'estimation ($r = 0,88$; $p < 0,02$; ddl 5). L'équation de la droite de régression est $\text{MTPT}/\text{Mx aut} = 0,66 \text{ MTPT semi-fines semi-aut} + 27,21$.

2.3. L'évaluation de la densité des travées sur les microradiographies est sous-estimée de 14,14% par rapport à la méthode semi-automatique sur les coupes semi-fines. Il existe une relation li-

néaire très significative entre ces deux méthodes et ces deux techniques d'estimation ($r = 0,97$; $p < 0,001$; ddl 5).

L'équation de la droite de régression est : densité/Mx en auto = 0,80 densité semi-auto sur coupes semi-fines + 0,045.

2.4. La valeur de la séparation des travées évaluée en automatique sur microradiographie est surestimée de 23,17% par rapport à la méthode de référence établie sur coupes semi-fines.

Il existe aussi une bonne corrélation linéaire entre ces deux méthodes pour ces deux techniques d'évaluation ($r = 0,86$; $p < 0,002$; ddl = 5).

L'équation de la droite de régression est : séparation des travées/Mx en auto = 1,51 séparation des travées sur coupes semi-fines - 252,39.

CONCLUSIONS

Plusieurs hypothèses concernant la sous-estimation dans l'évaluation du volume trabéculaire osseux et de sa microstructure, l'épaisseur et la densité de ses travées sur microradiographie d'une coupe de 100 μ viennent à l'esprit :

— La microradiographie n'évalue que la partie minéralisée du tissu osseux spongieux, la coupe semi-fine de 7 microns colorée par la technique de Goldner mesure le tissu minéralisé et le tissu

Tableau VII. — Microstructure spongieuse
Évaluation des paramètres MTPT, MTPD, MTPS
par malade et suivant les différentes méthodes et techniques de réalisation des sections

Malades	MTPT μm			MTPD/mm			MTPS μm		
	Mx Auto	SF global Semi-auto	SURF Semi-auto	Mx Auto	SF global Semi-auto	SURF Semi-auto	Mx Auto	SF global Semi-auto	SURF Semi-auto
4691	272,14 $\pm 37,16$	320,36 $\pm 12,79$	393,79 $\pm 16,8$	0,27 $\pm 0,021$	0,44 $\pm 0,029$	0,44 $\pm 0,03$	3504,68 $\pm 196,9$	1929,47 $\pm 135,08$	1850,9 $\pm 178,9$
4727	218,93 $\pm 12,38$	319,22 $\pm 5,75$	299,06 $\pm 25,36$	0,43 $\pm 0,028$	0,47 $\pm 0,015$	0,47 $\pm 0,025$	2099,45 $\pm 143,68$	2448,31 $\pm 49,48$	1831 $\pm 110,2$
3913	216,58 $\pm 22,46$	210,68 $\pm 4,66$	223,26 $\pm 13,10$	0,63 $\pm 0,054$	0,91 $\pm 0,03$	0,79 $\pm 0,037$	1255,84 $\pm 96,99$	894,39 $\pm 37,79$	1039,7 $\pm 53,99$
071	168,04 $\pm 10,72$	286,08 ± 24	289,53 $\pm 24,93$	0,61 $\pm 0,058$	0,69 $\pm 0,039$	0,74 $\pm 0,033$	1474,19 $\pm 143,26$	1166,56 $\pm 61,35$	1053,7 $\pm 67,09$
4781	174 $\pm 9,5$	201,74 $\pm 21,58$	240,88 $\pm 13,22$	0,73 $\pm 0,053$	0,60 $\pm 0,059$	0,61 $\pm 0,07$	1199,96 $\pm 97,11$	1461,82 $\pm 131,67$	1351,0 $\pm 153,6$
3308	72,47 $\pm 1,64$	87,31 $\pm 1,25$	94,83 $\pm 1,36$	1,60 $\pm 0,06$	1,95 $\pm 0,08$	1,92 $\pm 0,062$	539,66 $\pm 35,56$	423,19 $\pm 21,18$	423,42 $\pm 25,39$
3306	71,31 $\pm 3,3$	86,15 $\pm 2,42$	93,59 $\pm 2,63$	1,18 $\pm 0,09$	1,36 $\pm 0,07$	1,35 $\pm 0,053$	768,40 $\pm 64,21$	649,39 $\pm 33,93$	624,91 $\pm 98,84$
Moyenne	170,05 $\pm 28,6$	217,40 $\pm 38,3$	233,40 $\pm 41,2$	0,80 $\pm 0,2$	0,90 $\pm 0,2$	0,90 $\pm 0,2$	1548,7 $\pm 376,9$	1189,4 $\pm 216,1$	1168,3 $\pm 208,2$

MTPT : Mean Trabecular Plate Thickness ; MTPD : Mean Trabecular Plate Density ; MTPS : Mean Trabecular Plate Separation ; Mx : Microradiographie ; SFGLOB : Coupe semi-fine globale (F1 + F2 + F3) ; SURF : Coloration de surface.

Tableau VIII. — Coefficient de variation en pourcentage intra-observateur
en individualisant chaque malade suivant les différentes méthodes
automatique ou semi-automatique et pour les différentes techniques
Estimation des paramètres MTPT, MTPD, MTPS

Malade	MTPT μm			MTPD/mm			MTPS μm		
	Mx auto	SFGLOB semi-auto	SURF semi-auto	Mx auto	SFGLOB semi-auto	SURF semi-auto	Mx auto	SFGLOB semi-auto	SURF semi-auto
4691	13,6	3,9	4,26	7,4	6,6	6,8	5,61	7	9,6
4727	5,65	1,8	8,5	6,5	3,2	5,3	6,8	2,02	6,02
3913	10,37	2,21	5,9	8,6	3,2	4,7	7,72	4,2	5,1
071	6,38	8,38	8,61	9,5	5,6	4,4	9,7	5,25	6,4
4781	5,45	10,7	5,5	7,3	9,8	11,5	8,1	9	11,4
3308	2,26	1,43	1,43	3,7	4,1	3,2	6,6	5	5,99
3306	4,62	2,8	2,81	7,6	5,1	3,9	8,3	5,2	15,8
Moyenne	16,7	17,61	17,65	25	22,2	22,2	24,33	18,16	17,82

MTPT : Mean Trabecular Plate Thickness ; MTPD : Mean Trabecular Plate Density ; MTPS : Mean Trabecular Plate Separation ; Mx : Microradiographie ; SFGLOB : Coupe semi-fine globale (F1 + F2 + F3) ; SURF : Coloration de surface.

ostéoïde non minéralisé. L'explication reste toutefois insuffisante puisque ce tissu ostéoïde, même dans les pathologies à turn-over important, ne représente pas 20%.

— La même structure d'ensemble des deux sections (fig. 1) et la rétraction, non globale, de la coupe de 7 μ , évaluée à 14% sur la longueur, dans le sens de la section et 1,10% sur la largeur, n'expliquent pas non plus la diminution du volume trabéculaire dans son évaluation puisqu'il existe une diminution os et tissu mou équivalente. Par contre, cette rétraction entraîne une déformation des travées qui modifie la mesure de leurs périmètres et par là-même, l'estimation indirecte des paramètres architecturaux.

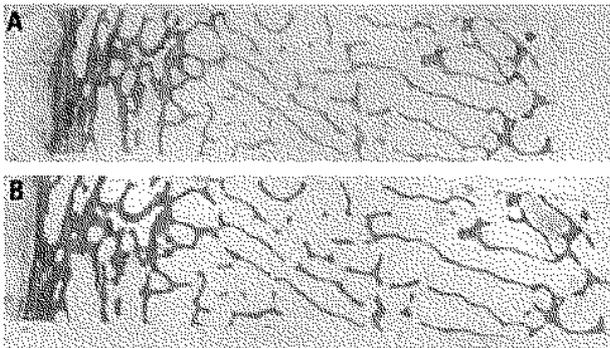


Fig. 1. — Coloration de Goldner de la coupe semi-fine F3 de 7 μ (A) et de la coloration de surface de la coupe de 100 μ qui a servi à l'enregistrement microradiographique (B). Aspect morphologique identique mais diminution de longueur (14%) et de largeur (1,10%) de la coupe A par rapport à la coupe B.

— La réalisation de la technique microradiographique entraîne une diminution de la structure osseuse minéralisée du fait du seuil de détection du rayonnement mou émis par le tube OEG 50 face à la densité osseuse traversée au cours de son enregistrement sur émulsion haute résolution.

La microradiographie représente cependant un moyen d'investigation fiable et reproductible. Les résultats de cette technique sont bien corrélés avec ceux obtenus sur coupes semi-fines de 7 μ . L'architecture trabéculaire peut être aussi étudiée sur une épaisseur plus importante et sans déformation. À faible grossissement, l'analyseur automatique d'images, par sa rapidité d'exécution, permet de

traduire simultanément sur un champ microscopique, les deux paramètres, surface et périmètre, qui estiment respectivement son volume et sa microstructure osseuse. Le coefficient de corrélation entre l'évaluation du volume trabéculaire osseux, effectuée sur microradiographie en automatique, et la méthode de référence manuelle réalisée au test à points sur coupes semi-fines de 7 μ ne peut se comprendre que comme étant une complémentarité face aux différentes techniques de quantification.

Cette méthode originale de mesures sur microradiographies qui ne tient pas compte du tissu préosseux, permet donc une bonne approche de la structure minéralisée qui constitue notre squelette. Dans le domaine de la pathologie où l'ostéoïdose est importante elle traduit mieux sa fragilité. Ce procédé permettra donc une approche plus serrée de l'architecture du tissu osseux spongieux avec une meilleure compréhension de l'incidence biomécanique qu'elle représente sur l'ensemble de notre squelette (14, 21, 23, 26).

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Monsieur le Professeur A. Dhem pour ses précieux conseils tout au long de la réalisation de ce travail, ainsi que M^{lle} M. C. Blary pour son assistance technique et Mesdames B. Langlois et L. Roussel pour le travail de secrétariat.

Travail réalisé grâce au soutien de la Caisse Régionale d'Assurance Maladie Nord-Picardie.

RÉFÉRENCES

1. Amprino R., Marotti G. A topographic quantitative study of bone formation and reconstruction. In: Bone and Tooth (H. J. J. Blackwood, ed.), 21-33, Pergamon Press, Oxford, 1964.
2. Amprino R., Sisto L. Analogies et différences de structure dans les différentes régions d'un même os. Acta Orthop. Belg., 1946, 2, 202-214.
3. Birkenhager-Frankel D. H., Coupron P., Clermonis E., Hupscher E., Coutinho M. R., Meunier P. J. Trabecular thickness, intertrabecular distance and age-related bone loss. Proceedings of the fourth international workshop on bone histomorphometry. Bone, 1965, 6, 401.
4. Bordier P., Matrajt H., Miravet L., Hioco D. Mesure histologique de la masse et de la résorption des travées osseuses. Path. Biol., 1964, 12, 23-24.
5. Bordier P., Matrajt H., Miravet L., Hioco D. Mesure histologique de la résorption osseuse dans l'ostéoporose :

- étude préliminaire. *Calcified Tissues Coll. Université Liège*, 1965, 31, 39-50.
6. Boyde A., Radcliffe R., Watson T. F., Jayasinghe J. A. P. Continuous motion parallax in the display and analysis of trabecular bone structure.
 7. Chappard D., Alexandre C., Riffat G. Relations entre la masse osseuse trabéculaire et la disposition dans l'espace des trabécules osseuses. Étude histomorphométrique d'une population de 145 femmes ostéoporotiques. *Rev. Rhum. Mal. Osteoartic.* 1988, 55, 19-25.
 8. Chavassieux P. M., Arlot M. Méthodologie en histomorphométrie osseuse. Comparaison des méthodes de mesure. Thèse, Lyon 1984.
 9. Chavassieux P. M., Arlot M. E., Meunier P. J. Inter-sample variation in bone histomorphometry : comparison between parameter values measured on two contiguous transiliac bone biopsies. *Calcif. Tissue Int.*, 1985, 37, 345-350.
 10. Compston J. E., Mellish R. W. E., Garrahan N. J. Age-related changes in iliac crest trabecular microanatomic bone structure in man. *Bone*, 1987, 8, 289-292.
 11. Croucher P. I., Mellish R. W. E., Vedi S., Garrahan N. J., Compston J. E. The relationship between depth and mean interstitial bone thickness : Age-related changes in man. *Calcif. Tissue Int.*, 1989, 45, 15-19.
 12. De Vernejoul M. C., Kuntz D., Miravet L., Goutallier D., Ryckewaert A. Bone histomorphometry reproducibility in normal patients. *Calcif. Tissue Res.*, 1981, 33, 369-374.
 13. Dhem A. Le remaniement de l'os adulte. *Arscia*, Bruxelles, 1967.
 14. Fyhrie D. P., Carter D. R. Femoral head apparent density distribution predicted from bone stresses. *J. Biomech.*, 1990, 23, 1-10.
 15. Keerekoper M., Villanueva A. R., Stanciu J., Sudhaker Rao D., Parfitt A. M. The role of three-dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression fractures. *Calcif. Tissue Int.*, 1985, 37, 594-597.
 16. Malluche H. H., Sherman D., Manaka R., Massry S. G. Comparison between different histomorphometric methods. In : *Bone histomorphometry. Third International Workshop.* W.S.S.J. Parfitt, Sun Valley, U.S.A., 1980, 449-451.
 17. Malluche H. H., Sherman D., Meyer W., Massry S. G. A new semi-automatic method for quantitative static and dynamic bone histology. *Calcif. Tissue Res.*, 1982, 34, 439-448.
 18. Melsen F., Melsen B., Mosekilde L., Bergmann S. Histomorphometric analysis of normal bone from iliac crest. *Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. A Pathol.*, 1978, 86, 70-81.
 19. Meunier P. J. La dynamique du remaniement osseux étudiée par lecture quantitative de la biopsie osseuse. Lyon, 1968.
 20. Meunier P. Use of an image analyzing computer for bone morphometry. In : *Clinical aspects of metabolic bone disease*, Frame B., Parfitt A. M., Ducan H., Excerpta, Amsterdam, 1973, 148-151.
 21. Mosekilde L. Sex differences in age-related loss of vertebral trabecular bone mass and structure. Biomechanical consequences. *Bone*, 1989, 10, 425-432.
 22. Mosekilde L. Consequences of the remodeling process for vertebral trabecular bone structure : a scanning electron microscopy study. *Bone Min. Res.*, 1990, 10, 73-75.
 23. Mosekilde L., Mosekilde L., Danielsen C. C. Biomechanical competence of vertebral trabecular bone in relation to ash density and age in normal individuals. *Bone*, 1987, 8, 79-85.
 24. Olah A. J. Effects of microscopic resolution on histomorphometrical estimates of structural and remodeling parameters in cancellous bone. *Path. Res. Pract.*, 1980, 166, 313-322.
 25. Parfitt A. M., Mathews C. H. E., Villanueva A. R., Kleerekoper M. Relationship between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. Implications for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss. *J. Clin. Invest.*, 1983, 72, 1396-1409.
 26. Parfitt A. M. Age-related structural changes in trabecular and cortical bone : cellular mechanisms and biomechanical consequences. *Calcif. Tissue Int.*, 1984, 36, S123-S128.
 27. Serra J. L'analyse d'images biomédicales par la morphologie mathématique. *Path. Biol.*, 1979, 27, 205-207.
 28. Smith C. St., Guttman L. Measurement of internal boundaries in three-dimensional structures by random sectioning. *Journal of Metals*, 1953, 81, 1953.
 29. Smith J. M., Webster S. S. J. Automated skeletal histomorphometry. In : *Bone histomorphometry : techniques and interpretation.* Recker R. R. Eds., C.R.C. Press, 1983, 285-295.
 30. Stellan A. J., Webb A., Compston J. E. Bone histomorphometry and structure in corticosteroid treated chronic active hepatitis. *Gut*, 1988, 29, 378-384.

SAMENVATTING

B. FLAUTRE en P. HARDUIN. De microradiografie bij de studie van trabeculaire parameters.

De intermethodische variatie van de meting van het trabeculaire botvolume en de indirecte schatting van zijn microstructuur volgens Parfitt in 1983 [dikte MTPT (μm), dichtheid MTPD ($/\text{mm}$) en de ruimte tussen de botbalkjes MTPS (μm)] is onderzocht met behulp van 7 bipten van de crista iliaca, door middel van de niet ontkalkte botmethode (met behulp van een automatische beeldanalyser) voor microradiografie van coupes

van 100 μ in vergelijking met de handmatige methoden van coupes van 7 μ m uit de literatuur.

Voor ieder biopt worden 3 opeenvolgende coupes van 7 μ m, gekleurd volgens de methode van Goldner, gevolgd door een coupe van 100 μ voor de microradiografie.

Een kleuring van de oppervlakte wordt gedaan grenzend aan die zijde welke wordt gebruikt voor de microradiografie. Het trabeculaire bot wordt gemeten volgens de handmatige en de automatische methode.

De automatische methode van de microradiografie geeft een onderwaardering van 24,42% van het trabeculaire botvolume t.o.v. het uitkomst van de handmatige methode van gekleurde coupes van 7 μ m waaraan in de literatuur wordt gerefereerd. Er bestaat een goede correlatie ($r = 0,75$; $p < 0,02$) tussen de automatische en de handmatige methode. De dikte van spongieuse balkjes MTPT (μ m), de dichtheid MTPD (/mm) en hun tussenruimte MTPS (μ m) wordt gemeten door de half automatische methode en automatische beeldmethode.

De automatische methode van de microradiografie geeft een onderwaardering van de dikte van de balkjes MTPT (μ m) van 18,98%, van hun dichtheid MTPD (/mm) van 14,14% en een overwaardering van de tussenruimte MTPS (μ m) van 23,17%. Wat betreft de dikte van de balkjes bestaat er een goede correlatie tussen de twee onderzochte methoden ($r = 0,88$; $p < 0,02$), hetzelfde geldt voor hun dichtheid ($r = 0,97$; $p < 0,001$), en hun tussenruimte ($r = 0,86$; $p < 0,002$).

SUMMARY

B. FLAUTRE and P. HARDOUIN. Microradiography in the study of trabecular parameters.

The intermethod variation in measurement of trabecular bone volume (VTO) and the indirect estimation of its

microstructure according to Parfitt MTPT (μ m), MTPD (/mm) and MTPS (μ m) were evaluated in seven undecalcified bone biopsies by analyzing the microradiograph of a 100- μ m-thick section with an automatic method (IBAS II Zeiss, Munich) in addition to reference methods (manual and semiautomatic) described in the literature and performed on 7- μ m-thick stained sections. Three consecutive 7- μ m-stained sections and one 100- μ m-thick microradiographed section were taken in each specimen. The 100 μ m-thick section was also superficially stained. Trabecular bone volume was measured with both a manual integrating eyepiece and an automatic method. The automatic method on the microradiograph underestimated the VTO by 24.42%. There was a correlation ($r = 0.75$; $p < 0.02$) between the manual and computerized methods.

Mean trabecular plate thickness (μ m), mean trabecular plate density (/mm) and mean trabecular separation (μ m) were measured with both semiautomatic and automatic methods. The automatic method on the microradiograph underestimated the MTPT (μ m) by 18.98% and the MTPD (/mm) by 14.14% and overestimated the MTPS (μ m) by 23.17%. For the MTPT (μ m) there was a correlation ($r = 0.88$; $p < 0.02$), between both methods, and the correlation was good for MTPD (/mm) ($r = 0.97$; $p < 0.001$), and MTPS ($r = 0.86$; $p < 0.002$).