



HAL
open science

Approche micromécanique du remodelage osseux

Anne Devulder

► **To cite this version:**

Anne Devulder. Approche micromécanique du remodelage osseux. Autre. Ecole Centrale Paris, 2009. Français. NNT : 2009ECAP0020 . tel-00453306

HAL Id: tel-00453306

<https://theses.hal.science/tel-00453306v1>

Submitted on 4 Feb 2010

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

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



**ÉCOLE CENTRALE DES ARTS
ET MANUFACTURES
« ÉCOLE CENTRALE PARIS »**

THÈSE
présentée par

Anne DEVULDER

pour l'obtention du

GRADE DE DOCTEUR

Spécialité : Mécanique et Matériaux

Laboratoire d'accueil : MSSMat (CNRS UMR 8579)

Sujet :

Approche micromécanique du remodelage osseux

Soutenue le : 29 Juin 2009

devant un jury composé de :

**Chabrand Patrick
Kondo Djimédo
Ramtani Salah
Sedel Laurent
Aubry Denis
Hoc Thierry**

**Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse
Directeur de thèse**

2009 ECAP0020

Table des matières

Table des matières	i
Résumé	1
Contexte de l'étude	3
1 Bibliographie sur le processus de remodelage de l'os cortical, matériau multiéchelle vivant	7
1.1 Structure, microstructure et nanostructure : organisation et composition du tissu osseux cortical	8
1.1.1 Structure de l'os long, aspect généraux	8
1.1.2 L'ostéon : une entité déterminante	9
1.1.3 Les lamelles ostéonitiques : composition et rôle	10
1.1.4 Hétérogénéité du tissu cortical	11
1.1.5 Techniques de mesures des propriétés morphométriques de l'os cortical	12
1.2 Propriétés mécaniques de l'os cortical	13
1.2.1 Comportement macroscopique	13
1.2.2 Comportement microscopique	20
1.2.3 Comportement nanoscopique	23
1.3 Le processus biologique du remodelage osseux	27
1.3.1 Les cellules osseuses	28
1.3.2 Le remodelage osseux	29
1.3.3 Le phénomène de mécanotransduction	31
1.4 L'endommagement de l'os cortical	33
1.4.1 Influence du mode de sollicitation sur le type d'endommagement	33
1.4.2 L'endommagement <i>in vivo</i>	33
1.4.3 Ténacité de l'os cortical	35
1.4.4 Un vecteur majeur du remodelage osseux	37
1.4.5 Modèles d'endommagement	38
1.4.6 Modèles de remodelage osseux associés à l'endommagement	41
1.4.7 Modèles de fatigue	42
1.5 Conclusion de l'étude bibliographique	43
2 Comportement mécanique macroscopique du tissu cortical	47
2.1 Introduction	47
2.2 Matériels et méthodes	47

2.2.1	Préparation des échantillons	48
2.2.2	Microscanner (microCT)	50
2.2.3	Essais de compression <i>in situ</i> sur microscope optique	52
2.2.4	Corrélation d'images	53
2.3	Résultats	55
2.3.1	Paramètres morphométriques et densitométriques	55
2.3.2	Paramètres mécaniques	57
2.3.3	Corrélation entre les paramètres mécaniques et biologiques	60
2.4	Conclusion et discussion	64
3	Caractérisation des échantillons à l'échelle de la microstructure	67
3.1	Introduction	67
3.2	Matériels et méthodes	67
3.2.1	Microscopie électronique à balayage	67
3.2.2	Nanoindentation	68
3.3	Résultats	70
3.3.1	Observation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	70
3.3.2	Résultats de nanoindentation	75
3.3.3	Relation entre le module de Young local et l'âge	77
3.3.4	Relation entre l'écart type du module de Young local et l'écart type de la densité minérale	78
3.4	Conclusions	79
4	Comportement mécanique microscopique du tissu cortical	81
4.1	Introduction	81
4.2	Définitions des grandeurs analysées	81
4.2.1	Déformation macroscopique ε_{11}	81
4.2.2	Déformation moyenne locale $\varepsilon_l \pm \Delta\varepsilon_l$ (déformation du tissu)	82
4.2.3	Déformation seuil ε_s	83
4.2.4	Etape de fissuration	83
4.3	Analyse macroscopique	84
4.3.1	Détermination de l'étape de fissuration	84
4.3.2	Etat mécanique à l'étape de fissuration	84
4.3.3	Corrélation entre les paramètres mécaniques macroscopiques et biologiques à l'étape de fissuration	86
4.4	Analyse de la déformation du tissu	88
4.4.1	Comparaison entre la déformation du tissu et la déformation macroscopique	88
4.4.2	Déformation à l'étape de fissuration	90
4.4.3	Corrélation entre les déformations du tissu à l'étape de fissuration et les paramètres biologiques	91
4.5	Conclusions et Perspectives	95
5	A cortical bone remodelling scenario integrating osteon generation and damage	99
5.1	Introduction	99
5.2	Modelling of the cortical bone remodelling process	101

5.2.1	Mechanical properties of cortical bone	102
5.2.2	Scenario of the remodelling process	104
5.2.3	Particular numerical aspects	116
5.3	First application	116
5.3.1	A heterogeneity needed to activate bone remodelling : Damage and bone remodelling activation	117
5.3.2	Osteon generation from a heterogeneity	119
5.3.3	A significant interaction between the remodelling process and the mechanical behavior	122
5.4	Conclusions	126
6	Two-time-scale fatigue modelling : application to damage	129
6.1	Introduction	129
6.2	Bone damage constitutive equation	130
6.3	A two time scales fatigue simulation	132
6.3.1	General assumptions	133
6.3.2	Series expansion with respect to small period	133
6.3.3	Separation of the two time scales	135
6.4	Validation of the time homogenization method	137
6.4.1	Definition of the example	137
6.4.2	Comparison between the low frequency case, the full and the homogenized computations	139
6.5	Conclusion	143
7	A cortical bone remodelling scenario and fatigue damage applied to real human microstructures	145
7.1	Introduction	145
7.2	Data on the experimentally-determined microstructures of human cortical bone	147
7.3	Sensitivity analyses of the determining factors for remodelling acti- vation on microstructures 1 and 2	149
7.3.1	Initial microstructures	149
7.3.2	Activation sites	150
7.3.3	Mechanical fields at the initial state	151
7.3.4	Effect of the high frequency cycles	152
7.3.5	Influence of the equivalent strain value	153
7.3.6	Influence of the quasi static loading amplitude	153
7.4	Quantitative analyses : Influence of the damage and the remodelling laws	154
7.5	Interaction between biology and mechanics	156
7.5.1	Mechanical fields evolution during the remodelling process for a whole microstructure	157
7.5.2	Local strain evolution for each remodelling phases	159
7.5.3	Viability of the final microstructure	162
7.6	Discussion and Perspectives	165
	Conclusions Générales et Perspectives	167

A Outils de caractérisation	171
A.1 Essai de compression	171
A.2 Microscanner, microtomographie 3D	171
A.3 Analyse des images scannées : Logiciel Gimp et Amira 4.5	174
A.4 Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	175
B Méthode de corrélation d'images	177
B.1 Théorie	177
B.2 Calculs du bruit de mesure	178
C Evolution du module de Young des microstructures 6 et 7 résultant du remodelage osseux	181
D Le processus de remodelage osseux	185
D.1 Les différentes étapes du remodelage	185
D.1.1 Activation	185
D.1.2 Résorption	185
D.1.3 Réversion	187
D.1.4 Formation	187
D.1.5 Latence	188
D.2 Le cône de coupe (ou "cutting cone")	188
D.3 Le front de formation	189
D.4 Le cas d'une fracture	190
D.5 Facteurs environnants nécessaires	190
D.5.1 Vascularisation et innervation du tissu osseux	190
D.5.2 Facteurs alimentaires et hormonaux	191
E Le rôle des cellules dans le processus de remodelage osseux	193
E.1 Les unités multicellulaires de base ou Basic Unit Multicellular (BMU's)	193
E.2 Les cellules du remodelage	193
E.2.1 Les ostéoclastes	193
E.2.2 Les ostéoblastes	195
E.2.3 Les ostéocytes (Rappel)	197
E.2.4 Les cellules bordantes (lining cell)	199
E.3 Le front de remodelage	199
F La Mécanotransduction	201
F.1 Généralités	201
F.2 La mécanotransduction réalisées par les cellules osseuses	202
F.2.1 Les ostéoclastes	202
F.2.2 Les ostéoblastes	203
F.2.3 Les ostéocytes	204
F.3 La stimulation des cellules osseuses	206
F.4 Les différents déclencheurs de la mécanotransduction	206
F.4.1 Le flux de fluide	206
F.4.2 Les potentiels électriques générés par les déformations (SGP) .	208
F.4.3 Les jonctions communicantes ou « gap junction »	209
F.4.4 Influence de la gravité	210

F.5	Le processus de mécano-transduction appliqué au remodelage osseux.	211
F.5.1	Des récepteurs aux effecteurs	211
F.5.2	Les cycles du processus de mécano-transduction.	212
F.6	La Mécanotransduction du point de vue de la biologie cellulaire. . . .	214
F.6.1	Le cytosquelette	214
F.6.2	La signalisation cellulaire	215
G	Le modelage osseux	225
G.1	Généralités	225
G.2	L'ossification endochondrale	225
G.3	L'ossification membranaire	226
G.4	L'ossification périostique	227
G.5	Les chondrocytes, cellules du modelage	227
H	Glossaire de biologie	229
	Bibliographie	235
	Table des figures	245
	Liste des tableaux	251

Résumé

Dans le cadre de la prédiction du risque fracturaire associée à diverses pathologies, comme l'ostéoporose, cette étude vise à une meilleure compréhension du comportement mécanique de l'os cortical humain, notamment à l'échelle de la microstructure, et, en particulier, du processus biologique de remodelage osseux. Ce phénomène permet, en effet, le renouvellement continu de la microstructure au cours du temps et contribue ainsi à une diminution de l'endommagement de l'os et, par conséquent, des risques de fracture. Les facteurs déterminants et les conséquences sur les champs mécaniques locaux au sein de la microstructure sont ici recherchés. Une approche couplée, expérimentale et numérique, est proposée. Huit spécimens de fémurs humains, de sexes féminins, âgés de 74 à 101 ans sont analysés.

L'analyse expérimentale est réalisée à différentes échelles. A l'échelle macroscopique, le module de Young et les paramètres à la rupture sont déterminés via des essais de compression et les relations potentielles avec les caractéristiques morphométriques, que sont l'âge, la porosité et la densité minérale, sont évaluées. L'analyse de l'évolution des champs de déformations locaux au cours de ces essais de compression et des essais de nanoindentation permet d'accéder à des échelles plus fines (micro- et nanoscopique) afin d'apprécier l'hétérogénéité de la microstructure. On s'intéresse plus particulièrement à l'endommagement de l'os et à l'étape d'initiation de microfissures ainsi qu'à l'hétérogénéité du module de Young. Macroscopiquement, le paramètre le plus influent semble être la porosité. Microscopiquement, les paramètres mécaniques recueillis, notamment les valeurs de déformations pour lesquelles l'os commence à se fissurer, sont intégrés dans les simulations numériques.

Un scénario simplifié du remodelage osseux est alors mis en place au sein des microstructures étudiées expérimentalement et, par ailleurs, supposées endommageables. Une loi d'évolution de l'endommagement est introduite et fait l'objet d'un travail

d'homogénéisation temporelle afin de considérer l'endommagement par fatigue. Les facteurs d'activation du remodelage et l'évolution des champs mécaniques au cours du processus sont, en particulier, étudiés. L'interaction du phénomène biologique et du comportement mécanique, à l'échelle de l'ostéon, est ainsi mise en évidence.

Abstract

The understanding of the cortical bone remodelling process at the microscopic scale is essential in the prediction of the risk of fracture. Indeed, bone remodelling allows the perpetual regeneration of damage or old bone. The determining factors as well as the consequences of the phenomenon on the mechanical parameters of the microstructure are assessed. An experimental and numerical approach is proposed. Eight femurs from old women are analysed.

Experiments are achieved at different scales. At the macroscopical scale, the Young modulus and the fracture parameters are estimated through compression testing and their eventual relations with the morphometrical characteristics (age, porosity and mineral density) are checked. Analyses of the local deformation evolution and of nanoindentation tests give access to the micro- and nanoscales and reveal the bone heterogeneity. Bone damage, especially the stage of microcracks initiation and the heterogeneity of the Young modulus as well as the mineral density are assessed. Macroscopically, porosity is determining. Microscopically, the mechanical values obtained, particularly the deformation value at the stage of microcracks initiation, are implemented in the numerical simulation.

A bone remodelling scenario is carried out in the former experimental microstructures, supposed damageable. A damage evolution law is set and is improved by taking into account the fatigue damage through a time homogenization method. The factors of remodelling activation and the mechanical parameters evolution during the remodelling process are investigated. Eventually, the interaction between the biological phenomenon and the mechanical behaviour, at the osteon scale, is revealed.

Contexte de l'étude

La population vieillissante, le nombre de personnes sujettes à des pathologies osseuses, telle que l'ostéoporose, s'accroît. L'ostéoporose, qui induit une perte de masse osseuse ainsi qu'une diminution de la qualité du tissu osseux [1] [2] et donc un fort risque fracturaire, est considérée comme un véritable problème de santé publique et fait l'objet actuel d'une recherche médicale accrue. En effet, environ 45% des femmes de plus de 50 ans souffrent de cette maladie : 50 000 nouveaux cas de fractures de fémurs sont détectés chaque année en France, entraînant la mort dans 20% des cas. De plus, seulement 20 % de femmes souffrant d'une ostéoporose avec fracture bénéficient d'un traitement adapté (d'après la société française de Rhumatologie). Ce terrible coût humain implique un coût financier également important. L'ostéoporose féminine, représentée majoritairement par des fractures du col du fémur, induit des dépenses hospitalières annuelles de l'ordre de 600 millions d'euros et l'ostéoporose masculine a un coût estimé à 200 millions d'euros. Dépister à temps l'ostéoporose, notamment avant la survenue de la première fracture, est en conséquence essentiel. La recherche à ce sujet s'intensifie mais des études récentes montrent toutefois l'insuffisance des examens médicaux, appliqués de nos jours, pour évaluer cette pathologie. L'évaluation clinique repose principalement sur la technique d'absorptiométrie biphotonique à rayons X (DXA) qui permet la mesure de la densité minérale osseuse, dont la relation avec le risque de fracture a été établie. Toutefois, bien d'autres facteurs peuvent intervenir dans l'ostéoporose, notamment mécaniques et morphométriques. De nouveaux outils de diagnostic doivent être ainsi considérés afin de mieux identifier les patients à risque.

L'appréciation de la qualité du tissu, déterminée en grande partie par le remodelage osseux [1], processus biologique qui permet le renouvellement continu de l'os, semble nécessaire. En effet, le vieillissement s'accompagne d'une diminution

ou d'une activité anormale du processus de remodelage, ce qui contribue à fragiliser l'os, à modifier ses propriétés mécaniques et son architecture. Une activité trop importante de remodelage peut, par exemple, contribuer à un fort taux de porosité et ainsi un risque fracturaire ostéoporotique élevé (Cf. figure 1).

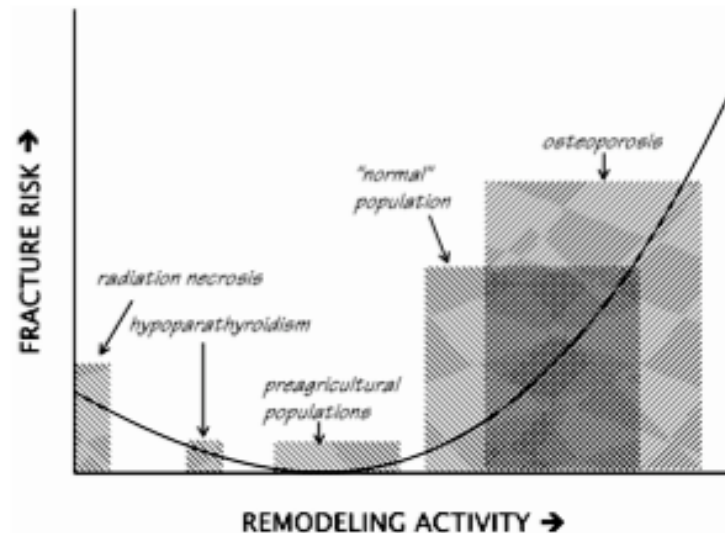


Figure 1 – Relation entre le risque fracturaire et l'activité de remodelage osseux [1]

Une analyse de l'os, à l'échelle de la microstructure, ainsi que la connaissance du processus de remodelage s'impose alors.

On s'attachera ainsi, dans cette étude, à modéliser le processus de remodelage au sein de microstructures réelles d'os cortical humain. Pour ce faire, une caractérisation expérimentale de ces microstructures sera préalablement effectuée. Cette approche couplée, expérimentale et numérique, a plusieurs avantages. Il s'avère, en effet, que les propriétés morphométriques et mécaniques de l'os cortical humain sont encore mal connues car propres à chaque individu. Leur détermination, selon différentes échelles, est réalisée dans les trois premiers chapitres de ce travail. Ces données permettent ensuite de définir chaque microstructure au sein d'un code éléments finis et interviendront dans l'initiation du scénario de remodelage puisque ce processus est activé par divers stimuli, notamment mécaniques. Les champs de dé-

formations et l'endommagement par fatigue de l'os, étant reconnus comme stimuli par diverses études [3] [4], feront l'objet d'une attention particulière afin d'être intégrés dans la partie numérique.

*Un scénario simplifié du processus complet du remodelage, à l'échelle de l'ostéon, unité élémentaire de la microstructure corticale, est mis en place dans le quatrième chapitre. L'activation du remodelage est notamment examinée. Un travail spécifique sur l'endommagement par fatigue est également effectué, dans le cinquième chapitre, afin de tenir compte des chargements physiologiques se produisant *in vivo*. Finalement, l'interaction entre le remodelage et le comportement mécanique de la microstructure est évaluée dans le sixième et dernier chapitre.*

L'objectif de ce travail est, ainsi, de pouvoir mieux appréhender les facteurs déterminants du remodelage osseux et d'évaluer l'impact de ce processus sur la micro-architecture et le comportement mécanique de l'os cortical humain.

Chapitre 1

Bibliographie sur le processus de remodelage de l'os cortical, matériau multiéchelle vivant

Ce chapitre a pour objectif de donner un aperçu de la littérature sur la microstructure de l'os cortical et sur son comportement mécanique mais aussi sur ses caractéristiques biologiques, notamment sur le processus de remodelage osseux, phénomène vecteur de cette étude. Des informations plus détaillées à ce sujet sont, en outre, données en annexe.

L'os cortical est un élément constitutif du squelette, dont le rôle est de servir de charpente pour l'organisme. Le squelette forme de grandes cavités (crâne, thorax, bassin) afin de protéger les organes et est un élément majeur de la mobilité du corps, via les articulations, qui permettent aux muscles d'actionner ses différentes composantes. Il a aussi pour rôle de contenir la moelle osseuse et de servir de réserve en minéraux, en particulier de calcium et de phosphore.

L'os cortical nécessite une description multiéchelle en terme de matériau et de comportement mécanique. Ce matériau vivant est, de plus, le siège de phénomènes biologiques, notamment du processus de remodelage qui permet son renouvellement continu. Ce processus a pour but principal de remédier à l'endommagement de l'os, en particulier de l'endommagement par fatigue, qui se produit, *in vivo*, quoti-

diennement. Ces différents points seront ainsi abordés dans ce qui suit.

1.1 Structure, microstructure et nanostructure : organisation et composition du tissu osseux cortical

L'organisation et la composition du tissu cortical est complexe mais relativement bien connue. De nombreuses études, comme celle de Bonucci [5], de Yuehuei [6] ou encore Nyman [7] présentent les différents niveaux structurels de ce tissu très riche.

1.1.1 Structure de l'os long, aspect généraux

Le squelette se constitue de trois grandes catégories d'os : court, plat et long.

Les os courts (vertèbres, phalanges) sont composés d'un noyau d'os spongieux entouré d'une corticale ou os compact.

Les os plats (sternum, côtes, omoplates, os crânien) sont constitués de deux couches d'os compact, les tables externe et interne, enfermant une couche d'os spongieux.

Les os longs (fémur, tibia, humérus) sont constitués de plusieurs éléments : la diaphyse, les épiphyses et les métaphyses. La diaphyse constitue la partie centrale cylindrique de l'os composé lui-même d'un tissu compact, l'os cortical, et d'un tissu plus poreux, l'os spongieux. Cette diaphyse est creusée par le canal médullaire rempli de moelle jaune et est entourée d'une membrane (le périoste) riche en vaisseaux nourriciers qui participent à l'ossification. Les épiphyses, situées aux extrémités, sont formées de tissu spongieux et sont très riches en moelle hématopoïétique. Elles sont recouvertes de cartilage articulaire. Enfin, les métaphyses ou cartilage de croissance connectent la diaphyse à chaque épiphyse et sont le siège de la croissance de l'os.

La forme particulière des os longs participe à leur capacité de résistance à la traction, aux cisaillements et à la compression.

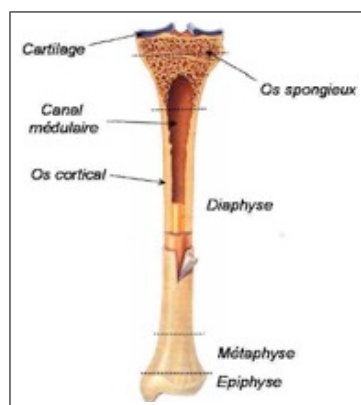


Figure 1.1 – Composantes d'un os long

En terme d'éléments constitutifs, on distingue le tissu "frais" formé (en terme de volume) de 49% d'eau, 16% de lipides et de glucides, 12% de protides et 23% de matières minérales et le tissu desséché caractérisé par une matrice organique (30% en masse) (essentiellement des fibres de collagène de type I) et par une matrice minérale (70% en masse) très riche en calcium, en phosphore (cristaux minéraux d'hydroxyapatite caractérisé par un ratio calcium/phosphore de 1.66).

1.1.2 L'ostéon : une entité déterminante

Au sein de ces catégories, on peut distinguer trois "classes" d'os : l'os fibreux ("woven bone"), l'os fibreux fasciculé ("bundle bone") et l'os lamellaire ("lamellar bone").

L'os cortical est initialement de type lamellaire. Au sein d'une matrice dite primaire, car formée lors de l'embryogenèse (via le processus de modelage osseux), s'édifie l'os haversien ou secondaire. Le terme "secondaire" s'explique par le fait que cet os se crée après l'os primaire. Cependant, l'os haversien se reforme de manière perpétuelle.

La structure Haversienne de l'os cortical consiste en une multitude de canaux qui sont creusés puis comblés par de nouvelles lamelles concentriques. Pour l'os spongieux, on a formation de nouvelles trabécules.

Les structures haversiennes corticales sont nommées ostéons. Un ostéon se définit comme un tube cylindrique (de diamètre moyen de 200 μm) percé en son centre par le canal de Havers (diamètre de 50 μm environ) et composé d'une dizaine de lamelles concentriques (de 1 à 3 μm d'épaisseur chacune), les lamelles ostéonitiques.

La formation de ces structures sera présentée dans la partie concernant le remodelage osseux.

1.1.3 Les lamelles ostéonitiques : composition et rôle

L'organisation lamellaire fait encore beaucoup débat.

Les fibres de collagène, constitutives des lamelles concentriques qui forment l'ostéon (environ 8 à 10 lamelles par ostéon), seraient orientées différemment selon les ostéons. Elles possèdent toutes cependant des propriétés de biréfringence qui donnent, en lumière polarisée, des lamelles claires et foncées.

Au sein d'une lamelle concentrique de l'os lamellaire, les fibres de collagène peuvent être, par exemple, parallèles entre elles, orientées soit toutes dans la direction longitudinale soit toutes dans la direction transversale. Dans la lamelle adjacente, les fibres sont soit dans la même direction (toutes longitudinales ou transversales) que la lamelle précédente soit à 90 degrés (lamelles alternées) (d'après Ascenzi et Bonutti [8] ou encore Gebhardt). Cette configuration a pour but d'améliorer la résistance mécanique. De plus, l'hypothèse de densité ou de taux de collagène différents entre deux lamelles contiguës a été évoquée respectivement par Marotti [9]. Cette organisation expliquerait entre autre la propriété de biréfringence de ce type d'os. D'autres possibilités d'organisation sont également proposées par Frasca [10], Giraud-Guille [11]...

Les lamelles sont composées de matières organiques (30 % en masse) dont essentiellement du collagène de type I, mais aussi d'autres protéines non collagéniques comme les glycosaminoglycanes et les protéoglycanes, de petites protéines comme l'ostéocalcine et de matière minérale (70 % en masse), notamment des sels minéraux de phosphate de calcium, majoritairement sous la forme de cristaux d'hydroxyapatite ($3\text{Ca}_3\text{PO}_4_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$).

A l'échelle nanoscopique, les fibres de collagène ont un arrangement périodique avec les cristaux d'hydroxyapatite (période de 67 nm environ). Ces fibres ont un arrangement hélicoïdale dans les lamelles ostéonitiques autour du canal de Havers d'après [12].

On remarque que la lamelle la plus à l'extérieure de l'ostéon, appelée ligne cémentante, sépare l'ostéon de la matrice interstitielle et est très particulière. Sa composition chimique et ses propriétés mécaniques diffèrent des deux précédents milieux. Elle caractérise la période de réversion dans le processus de remodelage osseux (Cf. partie 1.3), i.e la transition entre les phases de résorption et de formation du processus.

1.1.4 Hétérogénéité du tissu cortical

La densité minérale du tissu osseux est une des caractéristiques déterminantes du tissu cortical et participe à son hétérogénéité. En effet, de nombreuses études cliniques mettent en avant une relation significative entre la densité minérale et l'augmentation du risque fracturaire [13] mais également son caractère décisif quant au diagnostic de l'ostéoporose [2].

La phase minérale est l'une des phases caractéristiques de la microstructure de l'os. De manière général, l'os primaire est plus minéralisé que l'os secondaire. De même, un ostéon formé antérieurement à un autre possède une fraction minérale plus importante que l'ostéon récent [14] [15].

Les propriétés mécaniques de cette phase minérale sont précisées dans la partie suivante 1.2.

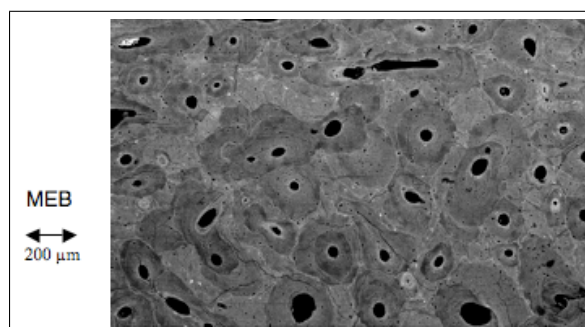


Figure 1.2 – Microstructure d'un os cortical humain (image par microscopie électronique à balayage)

1.1.5 Techniques de mesures des propriétés morphométriques de l'os cortical

Dans cette section, on ne fera qu'évoquer les techniques propres à la mesure des diverses propriétés morphométriques de l'os, qui sont explicitées de manière plus précise dans l'annexe A et utilisées dans cette étude. On peut également se reporter à certaines études comme celles de Boskey et al. [16] ou de Roschger et al. [17].

La microstructure particulièrement riche de l'os cortical peut être observée via différents moyens. La technique la plus accessible est l'observation par microscope optique. L'observation par microscope électronique à balayage (MEB) donne une meilleure résolution mais reste une technique de surface. Une technique plus raffinée pour quantifier la densité minérale est la microtomographie 3D utilisée en pratique au sein d'un microscanner et détaillée dans l'annexe A. Cette méthode se fonde sur l'atténuation par absorption et par diffusion d'un faisceau de rayon X (effet photoélectrique et Compton) en fonction de la densité du matériau et permet, à partir d'une série de prises de vues 2D, de reconstruire par rétroprojection la géométrie tridimensionnelle d'un objet.

L'évaluation clinique de la densitométrie osseuse est, elle, réalisée par absorptiométrie biphotonique par rayons X (DXA) ou par méthodes ultrasonores.

Le principe de la DXA repose sur la mesure de l'atténuation des rayons X issus de deux faisceaux d'énergies différentes et permet la quantification surfacique de la densité minérale. Cette méthode est la plus répandue. Les méthodes ultrasonores sont, elles, basées sur l'atténuation d'une onde ultrasonore en transmission qui dépend de la vitesse de propagation, vitesse elle-même liée à la densité et au module d'élasticité du matériau.

1.2 Propriétés mécaniques de l'os cortical

Pour compléter l'analyse microstructurale du tissu osseux, l'évaluation des caractéristiques mécaniques de l'os cortical semble nécessaire, d'autant plus que le nombre d'études à ce sujet sur l'os cortical humain est relativement faible.

Ce tissu étant multi-échelle, ces propriétés peuvent être examinées selon trois niveaux : macroscopique (mm), microscopique (μm) et nanoscopique (nm).

1.2.1 Comportement macroscopique

1.2.1.1 Paramètres mécaniques

A ce niveau d'étude, les paramètres d'intérêt sont notamment le module de Young E , la contrainte σ et la déformation ε . On s'intéresse principalement aux valeurs de ces deux derniers paramètres à la rupture que l'on désignera alors par σ_m et ε_m . Les essais de caractérisations associés sont variés et notre attention se portera particulièrement sur les essais mécaniques de compression puisqu'il s'agit de ceux réalisés dans cette étude.

Le tableau 1.1 donne un aperçu des tests expérimentaux réalisés et des résultats obtenus dans la littérature.

La littérature montre l'influence notable du type d'essai et de la direction de sollicitation considérée sur les valeurs des paramètres mécaniques.

Dans la direction longitudinale, en traction, le module de Young E et la contrainte maximale σ_m varient respectivement de 14 à 23 GPa et de 54 à 166 MPa alors qu'en compression, E s'étend de 11 à 23 GPa et σ_m de 106 à 205 MPa.

Dans la direction transversale, le nombre d'étude est nettement plus faible et aboutit, en compression, à des valeurs comprises entre 2 et 13 GPa pour le module de Young et entre 11 et 130 MPa pour la contrainte maximale, marquant ainsi une forte dispersion.

Les essais de flexion trois points donnent, dans le sens longitudinal, des modules de Young compris entre 12 et 18 GPa et des contraintes maximales entre 128 et 174 MPa.

Références	âge	Spécimens N	site	Essais	E (GPa)	σ_m (MPa)	ϵ_m (%)
Reilly et al. [18]	[20 à 86]	101	Fémur (D)	Traction	16,4 (L)	128	
		95		Compression	17,3 (L)	190	
Reilly et al. [19]	[21 à 71]	21	Fémur (D)	Traction	$17,4 \pm 1,2$ (L) / $12,7 \pm 1,8$ (T)	$135 \pm 15,6$ (L) / $53 \pm 10,7$ (T)	
		20		Compression	$18,2 \pm 0,85$ (L) / $11,7 \pm 1,01$ (T)	$205 \pm 17,3$ (L) / $131 \pm 20,7$ (T)	
Burstein et al. [20]	[20 à 86]	33	Fémur (D)	Traction	$16,9 \pm 0,66$ (L)	$132 \pm 6,98$ (L)	
		19		Compression	$17,4 \pm 1,24$ (L)	$194 \pm 12,43$ (L)	
Wachter et al. [21]	[56 à 88]	24	Fémur (D)	Compression	$1,76 \pm 0,72$ (T)	$11,64 \pm 4,91$ (T)	
Kaneko et al. [22]	[78]	5 ± 16 7 à 16	Fémur (D)	Traction	$22,7 \pm 1,7$ (L)	$95,6 \pm 10,9$ (L)	$1,29 \pm 0,47$ (L)
				Compression	$23 \pm 1,8$ (L)	$161,8 \pm 5,9$ (L)	$1,18 \pm 0,19$ (L)
Vincentelli et al. [23]	[19 à 35]	49	Tibia	Traction	$18 \pm 2,25$ (L)	$133,1 \pm 16,14$ (L)	$2,17 \pm 0,76$ (L)
Currey et al. [24]	[35]	4	Fémur (D)	Traction	16,7 (L)	165,7 (L)	
Bayraktar et al. [25]	[54 à 85]	74	Fémur (D)	Traction	$19,9 \pm 1,8$ (L)	54 ± 20 (L)	
Duchemin [26]	[54 à 101]	46	Fémur (D)	Traction	$14,3 \pm 3,99$ (L)	106 \pm 30	
		19		Compression	$11,77 \pm 3,56$ (L)		
Keller et al. [27]	[46 à 70]	155	Fémur (D)	Flexion 4 points	$12,1 \pm 4,14$ (L)	$174 \pm 84,1$ (L)	
Lutz et al. [28]	[28 à 90]	36	Fémur (D)	Flexion 3 points	$12,5 \pm 2,14$ (L) / $5,99 \pm 1,52$ (T)	128 ± 16 (L) / 47 ± 12 (T)	
Cuppone et al. [29]	[62 à 88]	180	Fémur (D)	Flexion 3 points	$18,6 \pm 1,9$ (L)		
Ashman et al. [30]	[NC]	60	Fémur (D)	Ultrasons	20 (L) / 12 (radial) / $13,4$ (tangent)		
Hobatho et al. [31]	[45 à 68]	96	Fémur (D)	Ultrasons	$19,9 \pm 2,7$ (L) / $11,7 \pm 1,9$ (radial) / $12,3 \pm 2$ (tangent)		

Tableau 1.1 – Caractéristiques mécaniques macroscopiques (module de Young E et contrainte maximale σ_m) de l'os cortical humain [moyenne \pm écart type], (L) : direction longitudinale, (T) : direction transversale, N : nombre d'échantillons, (D) : diaphyse, NC : non communiqué.

Quant aux essais ultrasonores, dans la direction longitudinale, le module vaut approximativement 20 GPa et est proche de 12 et 13 GPa, respectivement dans le sens radial et tangent.

Pour les études considérant les deux directions de sollicitations [19] et [28], le rapport entre le module de Young longitudinal et transversal est de 1.37 en traction, de 1.56 en compression et de 2.09 en flexion trois points. En ce qui concerne le rapport entre la contrainte longitudinale et celle transversale, il est de 2.54 en traction, de 1.56 en compression et de 2.72 en flexion trois points. De manière globale, les propriétés mécaniques de l'os cortical sont anisotropes et meilleures dans l'axe longitudinal (axe de la diaphyse) que dans l'axe transversal.

Cela semble conforter l'idée que l'os s'adapte à son environnement puisque, *in vivo*, l'axe principal de sollicitation est l'axe de la diaphyse [32] [4].

On peut également noter que très peu de revues offrent des relevés des déformations, paramètre toutefois déterminant quant à l'amorçage de fissure dans l'os cortical ou encore du processus de remodelage osseux [4] [3] [33].

1.2.1.2 Caractéristiques morphométriques

Concernant les caractéristiques morphométriques à cette échelle, la quantification de la densité minérale, relativement complexe, semble essentielle du fait de son lien avec la résistance et les propriétés mécaniques osseuses.

L'utilisation du microscanner pour calculer la densité minérale à partir d'un échantillon (fantôme) de référence est relativement récente : on parle alors de densité équivalente, notée BMD par la suite. Les études font le plus souvent référence à la densité de cendre (ρ_{ash}) qui révèle le contenu minéral après calcination : cette méthode destructive n'est bien évidemment pas applicable en vue d'un diagnostic médical. La densité dite apparente (ρ_{app}) est également une donnée plus courante que la densité équivalente et réfère à la fois au contenu minéral et organique (soit le rapport de la masse de l'échantillon sur son volume).

D'un point de vue macroscopique, l'autre paramètre morphométrique d'importance est la porosité. Le tableau 1.2 présente quelques valeurs de densité minérale équivalente et de porosité issues de la littérature.

Les valeurs de densité minérale données ici varient de 930 à 1345 mgHA/ml et celles de porosité de 1 à 36 % environ, reflétant ainsi la diversité morphométrique des spécimens humains. A noter que la dispersion de porosité se retrouve selon l'âge des spécimens étudiés mais également au sein d'un même spécimen [37].

Les techniques utilisées sont également variées. Binkley et al. [34] et Boivin et al. [35] obtiennent des valeurs de densité par analyse tomographique pQCT (peripheral quantitative computed tomography) et microradiographique (computerized quantitative contact microradiography) respectivement. La porosité relevée par Bayraktar et al. [25] résulte de l'observation avec segmentation des niveaux de gris des images (résolution de 2.15 μm) de trois fines couches découpés dans chaque échantillon. Celle donnée par Wachter et al. [21] provient de l'analyse des images binaires 2D obtenues par microscanner (CT microscope, Stratec, résolution spatiale de 30 μm) : la porosité est définie en dessous d'un seuil de densité minérale de 850 mg/cm³. Cooper et al. [36] obtiennent la porosité par analyse des images scannées par micro-CT d'une résolution de 7 μm (Skyscan 1072). Enfin, L. Duchemin [26] utilise un microscanner CT (Somatom Plus 4) et ne fournit pas de valeurs de porosité.

1.2.1.3 Relations inter-paramètres

A ce niveau d'observation, la porosité et la densité minérale de l'os cortical constituent des éléments importants pour déterminer la qualité du tissu osseux. La recherche des relations entre ces caractéristiques morphométriques et les paramètres mécaniques apparaît essentielle. Cependant, le nombre d'études proposant de telles données reste faible. Les tableaux 1.3 et 1.4 présentent quelques corrélations trouvées entre ces divers paramètres.

Les corrélations obtenues entre la densité apparente ρ_{app} et le module de Young ou la contrainte maximale sont significatives, notamment dans la direction longitudinale (r^2 variant de 0.67 à 0.77 dans le sens longitudinal et de 0.47 à 0.61 dans le sens transversal pour le module et de 0.78 à 0.91 (sens longitudinal uniquement) pour la contrainte maximale).

Références	Spécimens		Densité minérale (mgHA/ml)	Porosité (%)
	âge	site		
Binkley et al. [34]	[3 à 20]	Tibia	1014 ± 83	
Boivin et al. [35]	[20 à 93]	Iliac	1082 ± 17	
Bayraktar et al. [25]	[54 à 85]	Fémur (D)	/	[4.6 à 35.6]
Cooper et al. [36]	[20 à 87]	Fémur (D)	NC	[2.1 à 35.9]
Wächter et al. [21]	[56 à 88]	Fémur (D)	[939 à 1345]	[1 à 31]
Kaneko et al. [22]	78	Fémur (D)	1169 ± 32	/
Duchemin [26]	[54 à 101]	Fémur (D)	1173 ± 249	/

Tableau 1.2 – Densité minérale et taux de porosité de l'os cortical humain [moyenne ± écart type], (L) : direction longitudinale, (T) : direction transversale, N : nombre d'échantillons, (D) : diaphyse, NC : non communiqué.

Références	âge	Spécimens N	site	Essais	E (GPa) ρ_{app}	E (GPa) BMD	σ_m (MPa) ρ_{app}	σ_m (MPa) BMD
Keller et al. [38]	[46 et 67]	297	Fémur (D)	Compression	0.69 (L)		0.91 (L)	
Kaneko et al. [22]	[78]	12	Fémur (D)	Traction		0.05(L)		0.05 (L)
				Compression		0.02 (L)		0.90 (L)
Wachter et al. [21]	[56 à 88]	24	Fémur (D)	Compression		0.67 (T)		0.72 (T)
Duchemin [26]	[54 à 101]	46	Fémur (D)	Traction		0.51 (L)		0.57 (L)
				Compression		0.43 (L)		0.72 (L)
Keller et al. [27]	[46 à 70]	170	Fémur (D)	Flexion 4 points	0.72 (L)			0.70 (L)
Loitz et al. [28]	[28 à 90]	36	Fémur (D)	Flexion 3 points	0.67 (L)		0.78 (L)	
Cuppone et al. [29]	[62 à 88]	170	Fémur (D)	Flexion 3 points		<0.12 (L)		
Hobatho et al. [31]	[45 à 68]	96	Fémur (D)	Ultrasons	0.77 (L)			
Rho et al. [39]	[45 à 68]	96	Fémur (D)	Ultrasons	0.77 (L) / [0.47 à 0.61] (T)	< 0.2 (L et T)		

Tableau 1.3 – Coefficients de détermination (r^2) entre la densité minérale apparente (BMD) et les caractéristiques mécaniques macroscopiques (module de Young E et contrainte maximale σ_m) de l'os cortical humain [moyenne \pm écart type], (L) : direction longitudinale, (T) : direction transversale, N : nombre d'échantillons, (D) : diaphyse, NC : non communiqué.

Références	âge	Spécimens	Essais	E (GPa)	σ_m (MPa)	ε_m
Schaffler et al. [40]		N	site			
Bayraktar et al. [25]	[54 à 85]	74	Fémur (D)	0.24 (L)		~ 0 (L)
Wachter et al. [21]	[56 à 88]	24	Fémur (D)	0.45 (T)	0.64 (T)	

Tableau 1.4 – Coefficients de détermination (r^2) entre la porosité et les caractéristiques mécaniques macroscopiques (module de Young E, contrainte maximale σ_m et déformation associée ε_m) de l'os cortical humain [moyenne \pm écart type], (L) : direction longitudinale, (T) : direction transversale, N : nombre d'échantillons, (D) : diaphyse, NC : non communiqué.

Les valeurs de coefficients de détermination sont plus dispersées quant à la densité minérale équivalente BMD : pour le module de Young, dans la direction longitudinale, elles varient entre 0.02 et 0.51 et entre une valeur inférieure à 0.2 et 0.67 dans le sens transversal. La relation entre cette même densité équivalente et la contrainte maximale est forte (r^2 entre 0.57 et 0.9 pour la contrainte longitudinale, si l'on ne considère pas l'étude de Kaneko et al. [22] en traction, et de 0.72 pour la contrainte transversale).

Wachter et al. [21] obtiennent une relation significative entre la porosité et la contrainte maximale transversale en compression ($r^2=0.64$). Avec le module de Young, les relations restent faibles mais notables ($r^2= 0.24$ lors d'une sollicitation dans le sens longitudinal en traction et 0.45 en compression transversale).

De nouveau, le manque de données sur le champ de déformation est important.

De cette étude bibliographique sur le comportement macroscopique, il ressort que la contrainte à la rupture de l'os cortical s'accroît avec le degré de minéralisation et au contraire décroît avec le taux de porosité. Cette tendance se retrouve pour le module de Young bien que les conclusions soient plus partagées.

Par ailleurs, la majeure partie des études portent sur le comportement mécanique dans la direction longitudinale. Peu de travaux comparent le comportement mécanique de l'os dans les deux directions longitudinale et transversale. De même, rares sont les données sur les relations pouvant exister entre les caractéristiques mécaniques et la densité minérale équivalente ou la porosité.

L'anisotropie de l'os cortical est reconnue [41], [42] tout comme la pertinence des paramètres morphométriques que sont la densité minérale et la porosité. Ces facteurs sont importants pour réaliser le diagnostic de l'ostéoporose. Il semble donc essentiel de pouvoir déterminer ces caractéristiques.

1.2.2 Comportement microscopique

La résistance osseuse est non seulement liée à la masse et à la géométrie de l'os mais aussi aux propriétés intrinsèques du tissu osseux. Ce tissu subit des changements en réponse à son environnement mécanique extérieur via le remodelage osseux. Ses propriétés mécaniques évoluent en conséquence.

Le comportement mécanique à cette échelle est fortement relié à l'unité élémentaire du tissu osseux qu'est l'ostéon, dont on peut distinguer les lamelles ostéonitiques (agrégat collagène / hydroxyapatite) et la ligne cémentante, qui se trouve au sein de la matrice interstitielle.

On rappelle que trois types d'ostéons peuvent se distinguer : ceux dont les fibres de collagènes sont toutes orientées dans le sens transversal (type I, qui apparaissent en clair en lumière polarisée), ceux dont les fibres sont toutes dans le sens longitudinal (type III, en sombre en lumière polarisée) et ceux dont les fibres sont alternativement dans le sens transversal et longitudinal (type II, alternativement clair et sombre) [8].

1.2.2.1 Comportement mécanique

Plusieurs études à ce sujet ont notamment été réalisées par Ascenzi et al. Les propriétés mécaniques des ostéons ont été déterminés pour divers modes de sollicitation : traction [8], compression [43], cisaillement [44] et flexion [45]. Notre intérêt se porte en particulier sur la compression des ostéons puisqu'il s'agira de l'essai mécanique réalisé dans ce travail. La contrainte à la rupture et le module de Young sont plus élevés pour les ostéons de type I que pour les deux autres types d'ostéons. Quelque soit le type d'ostéons, les ostéons les plus calcifiés ont un module de Young et une contrainte à la rupture plus élevés mais ils se déforment moins à la rupture. Par ailleurs, il semble que l'âge ne soit pas un paramètre influent sur les propriétés en compression à cette échelle. Le tableau 1.5 résume les valeurs obtenues.

1.2.2.2 Relation avec les paramètres histomorphométriques

Vincentelli et al [15] ont étudié la relation entre les paramètres mécaniques en élasticité et le type d'ostéons considérés (i.e. en fonction de l'orientation des fibres dans les lamelles ostéonitiques) et le degré de calcification d'os corticaux issus de tibias adultes humains. Une corrélation négative est donnée ($r^2 \approx 0.7$) entre les ostéons de type I et la déformation. Cette corrélation devient positive ($r^2 \approx 0.5$) entre les ostéons de type III et la déformation.

Types d'ostéon / dg min	n	E (GPa)	σ_m (MPa)	ε_m (%)
I / +	13	9.5 ± 1.6	167 ± 12	1.88 ± 0.3
I / -	7	7.4 ± 0.5	102 ± 10	2.82 ± 0.5
II / +	12	7.5 ± 1.6	136 ± 9	2.09 ± 0.5
II / -	7	3.3 ± 1.7	79.9 ± 1	3.04 ± 0.6
III / +	7	6.4 ± 1.8	112 ± 10	2.46 ± 0.4
III / -	7	4.9 ± 1.5	89.6 ± 9	2.97 ± 0.3

Tableau 1.5 – Propriétés mécaniques en compression (module de Young (E), contrainte σ_m , déformation ε_m à la rupture) selon le type d'ostéons (n échantillons) et le degré de minéralisation (dg min) élevé (+) ou faible(-). Les valeurs correspondent à la moyenne \pm l'écart type.

Une analyse par corrélation d'images menée par Hoc et al. [46] montre une forte hétérogénéité de la déformation locale à l'échelle de l'ostéon. Cependant, la distribution de ces déformations ne semble pas significativement corrélée avec la densité minérale obtenue d'après l'analyse des niveaux de gris des images obtenues par microscopie électronique à balayage ($r^2 = 0.4$).

Wachter et al [47] ont évalué l'influence de paramètres tels que le nombre et la dimension des ostéons sur la résistance de l'os cortical humain (23 patients considérés). La fraction d'ostéon (sur une section donnée) est comprise entre 16 et 58% et est corrélée avec des facteurs de détermination de 0.6, 0.54 et 0.67 avec respectivement la limite d'élasticité, le module de Young et la densité minérale obtenue par tomographie QCT. La densité d'ostéons (de 5 à 22 μm^{-2}) est corrélée avec ces mêmes paramètres avec un coefficient de détermination de respectivement 0.6, 0.49 et 0.48. La tendance est d'ailleurs à une augmentation des valeurs des propriétés mécaniques avec la fraction d'ostéons.

Zioupos et al. [48] montrent des changements importants de résistance, de rigidité et de ténacité avec le vieillissement. La différence de module élastique et donc de degré de minéralisation entre la matrice (de plus en plus minéralisée avec l'âge) et les ostéons peut également influencer un amorçage et une propagation privilégiée dans la matrice interstitielle.

1.2.3 Comportement nanoscopique

1.2.3.1 Composition : collagène, cristaux d'hydroxyapatite

A l'échelle nanoscopique, les fibres de collagène et les cristaux d'hydroxyapatite font l'objet de nombreuses études. Le tableau 1.6 donne les principales caractéristiques mécaniques du collagène et de l'hydroxyapatite HA d'un fémur bovin (d'après [49]).

	E (GPa)	G (GPa)	ν	ρ (kg/dm ³)
Collagène	1.5	1	/	1.41
HA	114	45	0.27	3

Tableau 1.6 – Propriétés mécaniques du collagène et de l'hydroxyapatite d'un fémur bovin.

Les cristaux d'hydroxyapatite (longueur de 20 à 70 nm) s'imbriquent entre les fibrilles de collagène (longues de 100 à 500 nm). La périodicité (HA/ collagène) est de l'ordre de 65-70 nm. Ces fibres ont un arrangement hélicoïdal dans les lamelles ostéonitiques autour du canal de Havers d'après [12].

D'après Burr [50], la phase minérale apporterait résistance et rigidité à l'os alors que la phase collagénique, plus ductile, aurait un rôle préférentiel dans le comportement après passage de la limite d'élasticité. Les changements de teneur en collagène ou de l'organisation inter- et intra-fibrillaire, dus à l'âge ou à certaines pathologies, peuvent augmenter le risque fracturaire en diminuant l'énergie nécessaire à la rupture.

1.2.3.2 Caractérisations par nanoindentation

A cette échelle, une technique intéressante pour déterminer les caractéristiques mécaniques, notamment en terme de module de Young et de dureté, est la nanoindentation dont le principe détaillé est explicité dans le chapitre 3.2.2.

Rho et al [51] [52] ont montré, via cette technique de nanoindentation, qu'au sein d'un même ostéon, les lamelles intérieures (proches du niveau du canal de Havers) ont de meilleures propriétés mécaniques en terme de module de Young et de dureté (à l'échelle nanoscopique) que les lamelles extérieures proches de la ligne cémentante

($E_{int} = 20.8 \pm 1.3$ GPa; $H_{int} = 0.65 \pm 0.06$ GPa et $E_{ext} = 18.8 \pm 1$ GPa; $H_{ext} = 0.55 \pm 0.05$ GPa).

Ce même auteur [53] a obtenu un module de Young et une dureté plus élevés d'environ 15% dans la matrice (lamelles interstitielles) que dans les ostéons lors d'essais de nanoindentation (profondeur d'indentation de 1000 nm) dans la direction longitudinale sur des tibias humains ($E_{matrice} = 25.8 \pm 0.7$ GPa et $H_{matrice} = 0.74 \pm 0.03$ GPa vs $E_{osteon} = 22.5 \pm 1.3$ GPa et $H_{osteon} = 0.61 \pm 0.04$ GPa).

Au cours d'un autre travail, Rho et al. [54] ont étudié neuf fémurs d'hommes âgés de 35 à 95 ans. La même constatation que précédemment a été faite : l'os interstitiel est plus rigide et plus dur que les ostéons. Le lieu de prélèvement (péri-, mid- ou end-oste) ainsi que l'âge des patients ne semblent pas intervenir. Les variations des propriétés mécaniques macroscopiques proviendraient donc plutôt de changements au niveau de l'architecture et de l'organisation du tissu osseux [55].

Bensamoun et al. [56], au cours d'une étude par ultrasons sur six os corticaux fémoraux de femmes, ont déterminé que le niveau de gris, i.e. le degré de minéralisation était relié au module de Young au sein des ostéons. Les ostéons les moins minéralisés possèdent un module élastique plus faible que les ostéons à teneur minérale plus forte.

Hengsberger et al. [57] trouvent également que le module d'indentation est plus élevé dans les zones les plus minéralisées (le degré de minéralisation étant quantifié par microradiographie) mais la corrélation entre ces deux paramètres est faible.

Cependant, Hoc et al. [46] obtiennent une corrélation significative entre le module de Young nanoindenté et la densité minérale obtenue par interprétation des niveaux de gris d'images d'os corticaux bovins ($r^2=0.75$).

On peut également remarquer que la plupart des études sont effectuées sur des échantillons desséchés ce qui induit une surévaluation du module de Young du tissu osseux de l'ordre de 15 à 30% environ [58] [59]. Seules certaines études [60] [57] ont été réalisées en milieu aqueux.

1.2.3.3 Anisotropie de l'os cortical

Les essais de nanoindentation sont dépouillés via la méthode d'Oliver and Pharr [61] qui se base sur l'hypothèse d'un matériau élastique isotrope. Or, l'os cortical est un matériau anisotrope [62] [41] [63]. Cependant, à cette échelle, la mesure de l'anisotropie reste fastidieuse : les petites dimensions des échantillons ne permettent pas l'indentation locale dans diverses directions. De plus, les lamelles ostéonitiques peuvent prendre différentes orientations au sein de l'ostéon (type I, II et III) et l'arrangement même des fibres de collagène dans ces lamelles peut influencer l'anisotropie du tissu et ainsi induire des difficultés d'évaluation.

Quelques études, telles que celles menées par Swadener et al. [59], Vlassak et al. [64] [65] ou Franzoso et al. [66], s'attachent à examiner l'influence de l'anisotropie de l'os sur la technique de nanoindentation. Ce dernier développe une méthode pour estimer les constantes élastiques orthotropes de l'os cortical haversien en utilisant la nanoindentation dans deux directions orthogonales sur le même ostéon. A partir des composantes du tenseur de rigidité, la direction d'indentation étant connue, un modèle orthotrope élastique, basé sur le tenseur de fabrication, quantifie le module d'indentation des lamelles ostéonitiques. L'étude expérimentale met en évidence différents degrés d'anisotropie au sein même des systèmes haversiens et entre le module de ces systèmes et le module macroscopique du spécimen complet étudié. Les ostéons sont plus rigides dans la direction axiale et plus souples dans la direction radiale. Le module nanoindenté est plus élevé que le module macroscopique quelle que soit la direction considérée. Ce travail donne des ratios d'anisotropie (module longitudinal sur module circonferentiel) variant, selon l'ostéon considéré, entre 0.992 et 1.855, la valeur moyenne (sur 22 ostéons de fémurs humains males) étant de 1.446 ± 0.247 (soit un Coefficient de Variance COV de 17.1 %). En moyenne, le module circonferentiel est de 18 GPa (COV de 10%) et celui axial de 22 GPa (COV de 9.7 %). Le fort COV obtenu sur le ratio d'anisotropie démontre la forte anisotropie et l'hétérogénéité intra-ostéons. D'autre part, l'étude confirme que les propriétés macroscopiques de l'os cortical résultent d'une composition des propriétés de tous les éléments de la microstructure, notamment des ostéons et de la matrice interstitielle. Cowin [67] donne les inégalités suivantes à l'échelle macroscopique sur le module de Young E , le module de cisaillement G et le coefficient de Poisson ν : $E_1 < E_2 < E_3$, $G_{12} <$

$G_{13} < G_{23}$ et $\nu_{23} < \nu_{31} < \nu_{12}$. Franzoso et al. [66] retrouvent, à l'échelle de l'ostéon, les deux premières inégalités mais obtiennent que $\nu_{12} < \nu_{23} < \nu_{31}$. Cela induit que le comportement volumétrique en déformation (donné par le coefficient de poisson ν) soit différent entre les lamelles ostéonitiques et l'os cortical global.

Une autre étude (Fan et al. [68]) observe également une variation de valeur de module de Young selon la direction indentée donnée dans les tableaux 1.7 pour les ostéons et 1.8 pour la matrice. Là encore, quelle que soit la direction considérée, le module d'élasticité est plus élevé dans la matrice que dans les ostéons.

	C_{11} (GPa)	C_{22} (GPa)	C_{33} (GPa)	C_{12} (GPa)	C_{13} (GPa)	C_{23} (GPa)
$\theta = 0^\circ$	16.6 ± 1.5	17 ± 2.2	25.1 ± 2.1	/	/	/
$\theta = 30^\circ$	/	/	/	15.7 ± 2.3	18.4 ± 1.1	17.6 ± 1.3
$\theta = 45^\circ$	/	/	/	16 ± 2	18.4 ± 0.9	18.2 ± 1.4
$\theta = 60^\circ$	/	/	/	14.9 ± 2	21.8 ± 2.6	21.9 ± 2

Tableau 1.7 – Module de Young obtenu par nanoindentation de lamelles ostéonitiques dans diverses directions (1 et 2 : direction transversales, 3 : longitudinale, ex : C_{12} et $\theta=30^\circ$: indentation dans le plan (1-2), à 30° par rapport à l'axe radial 1.

	C_{11} (GPa)	C_{22} (GPa)	C_{33} (GPa)	C_{12} (GPa)	C_{13} (GPa)	C_{23} (GPa)
$\theta = 0^\circ$	19.7 ± 1.5	18.5 ± 1.1	27.1 ± 1.7	/	/	/
$\theta = 30^\circ$	/	/	/	20.4 ± 1.8	20 ± 1.4	20 ± 1.4
$\theta = 45^\circ$	/	/	/	21.1 ± 1.4	22.4 ± 1.6	21.7 ± 1.2
$\theta = 60^\circ$	/	/	/	18.9 ± 1.4	24.8 ± 1	25.2 ± 1

Tableau 1.8 – Module de Young obtenu par nanoindentation de lamelles interstitielles (matrice) dans diverses directions (1 et 2 : direction transversales, 3 : longitudinale, ex : C_{12} et $\theta=30^\circ$: indentation dans le plan (1-2), à 30° par rapport à l'axe radial 1.

L'ensemble de ces études conforte le comportement anisotrope de l'os cortical et cela à différentes échelles. Toutefois, une rigidité plus importante dans la direction longitudinale, direction principale de sollicitation *in vivo*, est mise en évidence et prouve l'adaptation à toutes les échelles de l'os vis à vis de son environnement.

1.2.3.4 La ligne cémentante

On peut relever aussi les propriétés spécifiques de la lamelle la plus à l'extérieure de l'ostéon ou ligne cémentante qui sépare l'ostéon de la matrice interstitielle. Elle possède une teneur moindre en calcium (Ca) et en phosphore (P) mais plus de soufre. Le ratio Ca/ P est significativement plus important que dans les autres lamelles. Schaffler et al [69] montrent que la ligne cémentante contiendrait moins de collagène (relativement aux autres lamelles ostéonitiques). Lakes et Saha [70] ont également montré que la déformation due au fluage en torsion était localisée au niveau de la ligne cémentante, celle ci possédant des propriétés de viscosité différentes des autres lamelles. Cette ligne cémentante joue un rôle notable dans le phénomène d'endommagement de l'os qui sera spécifié dans le paragraphe 1.4.3.2.

Cette analyse à l'échelle de la microstructure démontre l'hétérogénéité des propriétés mécaniques (notamment du module de Young) à l'échelle de l'ostéon ainsi que son anisotropie. Le paramètre morphométrique le plus influent semble être l'hétérogénéité de la minéralisation et l'orientation cristalline des cristaux d'hydroxyapatite.

On s'intéresse maintenant au phénomène biologique de remodelage osseux au sein de l'os cortical qui permet justement de reformer continuellement cette microstructure, très riche, afin de l'adapter à son environnement extérieur.

1.3 Le processus biologique du remodelage osseux

L'os cortical est un matériau vivant complexe et multiéchelle capable de se régénérer lorsque ses propriétés mécaniques sont inadaptées à son environnement. En effet, l'os est sujet à de nombreuses sollicitations mécaniques qui induisent de l'endommagement par fatigue. En réponse à cet endommagement, le processus biologique de remodelage osseux s'initie. A l'échelle microscopique, des changements des propriétés morphométriques et mécaniques sont constatées. Ces modifications ont pour objectif de conférer une meilleure résistance à l'os.

1.3.1 Les cellules osseuses

Trois grandes classes de cellules osseuses, les ostéoclastes, les ostéoblastes et les ostéocytes, chacune ayant un rôle spécifique, interviennent lors du processus de remodelage osseux (Cf. Annexe E).

Les ostéoclastes, cellules multinuclées géantes, sont issues de cellules hématopoïétiques circulant dans le sang. Elles sont pourvues d'une "bordure" qui peut, par effet ventouse, s'attacher à la matrice osseuse : elles peuvent alors sécréter des ions H^+ qui dissoudront la matière minérale de cette matrice. La partie organique est, elle, dégradée ou "digérée" par des acides et protéines spécifiques.

Les ostéoblastes sont formées à partir de la moelle osseuse et migrent vers la matrice osseuse lorsqu'elles y sont "appelées". Ces cellules mononuclées ont pour fonction de synthétiser la matrice osseuse et d'en contrôler la minéralisation. Elles synthétisent donc majoritairement des molécules de collagène de type I, protéine présente sous forme de procollagène, mais également des protéines non collagéniques telle que l'ostéocalcine ou des facteurs de croissance. Le contrôle de la minéralisation est effectué via le dépôt des ions Ca^{2+} et PO_4^- qui réagissent avec les fibres de collagène.

Les ostéocytes sont d'anciens ostéoblastes enlisés dans la matrice osseuse. Ils forment entre eux et avec les ostéoblastes un réseau tridimensionnel via des jonctions présentes au niveau de leurs filopodes (protubérances de la membrane plasmique). Ces cellules, les plus nombreuses du tissu osseux, sont dites "mécano-sensibles" car capable de détecter des stimuli extérieurs tels que des stimuli mécaniques, chimiques, hormonaux... Leur réseau permet ainsi de transférer les divers messages environnants et d'(inter)agir en conséquence. Ainsi, ce sont notamment ces cellules ostéocytaires qui déclencheront, sous certaines conditions environnementales, le processus de remodelage osseux.

Il est également important de noter que la différenciation des cellules souches en cellules ostéoclastiques nécessite la présence de cellules ostéoblastiques. Les trois types principaux de cellules intervenant dans le processus de remodelage osseux sont donc étroitement liés. Notons enfin que l'ensemble formé par les cellules osseuses intervenant dans ce processus est nommé BMU (Basic Multicellular Unit ou Unité Multicellulaire de Base).

1.3.2 Le remodelage osseux

Comme déjà évoqué précédemment, le squelette a pour rôle principal de supporter les charges mécaniques que subit le corps et de protéger les organes vitaux. Le tissu osseux, complexe, qui le constitue a ainsi pour fonctions de former ce squelette et de maintenir son intégrité, d'être une réserve de calcium pour l'organisme et de servir de contenant à la moelle osseuse.

Le remodelage osseux (Cf. Annexe D), qui a lieu tout au long de la vie, permet de remplacer, via un "front de résorption", de l'os "ancien" aux propriétés (mécaniques notamment) dégradées par du nouveau tissu osseux. La matrice osseuse se renouvelle avec une périodicité de quelques années [71]. Ce processus permet également d'équilibrer (homéostasie) la concentration en minéraux dans le sérum physiologique, d'adapter notre squelette aux efforts mécaniques qu'il subit et de réduire ainsi les risques de fractures en lui conférant de nouvelles propriétés mécaniques mieux adaptées à ces contraintes environnantes.

Par an, le taux de renouvellement du tissu osseux est de l'ordre de 10%. La durée d'un cycle de remodelage est approximativement de 4 mois chez l'adulte, la phase de formation de nouveau tissu osseux étant plus longue que celle de la résorption (qui correspond à la destruction de l'os dégradé). Le renouvellement de la totalité du squelette est d'environ 10 ans.

Le remodelage osseux consiste donc à générer de nouveaux systèmes haversiens nommés ostéons (cylindres percés, constitués de lamelles concentriques coaxiales) au sein de la microstructure d'os cortical ancienne, dégradée ou inadaptée à son environnement. Le processus met en jeu divers phénomènes (cellulaire, hormonal, chimique, électrique et mécanique) qui sont interdépendants. Les cellules osseuses intervenant lors de ce processus ont été présentées dans le paragraphe précédent 1.3.1 : il s'agit des ostéoclastes, des ostéoblastes et des ostéocytes.

Le processus de remodelage osseux se déroule selon six grandes étapes : Activation, Résorption, Réversion, Formation, Minéralisation et Latence (Figure 1.3).

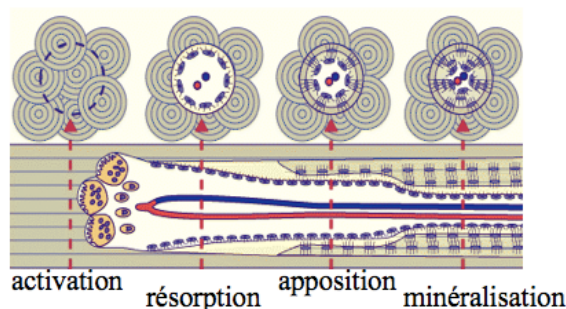


Figure 1.3 – Principales phases du remodelage osseux

La phase d'activation dure deux à trois jours. Les cellules mécano-sensibles ostéocytaires vont être activées via divers stimuli environnants notamment, et par exemple, lorsque leur déformation due au champs mécaniques locaux dépassera un certain seuil. Elles vont alors envoyer différents messages chimiques et /ou électriques pour activer la différenciation de cellules souches du sang (cellules hématopoïétiques) ou de la moelle osseuse (cellules mésenchymateuses) en futures cellules osseuses : les ostéoclastes et les ostéoblastes.

La phase de résorption se déroule sur trente à quarante jours. Quelques ostéoclastes se fixent sur la matrice osseuse par effet "ventouse" et sécrètent des substances à pH basique pour résorber l'os ancien. Elles creusent ainsi dans la microstructure, à une vitesse de $40 \mu\text{m}/\text{jour}$, une sorte de tunnel long au final de quelques millimètres. Ces cellules ayant une durée de vie d'une dizaine de jours environ sont remplacées dès leur mort par d'autres ostéoclastes au cours de cette phase.

La phase de réversion, longue de deux à trois jours, correspond au changement de cellules "actives" : les ostéoclastes laissent place aux ostéoblastes.

La phase d'apposition s'étend sur quatre vingt jours environ. Les ostéoblastes déposent de la matière collagénique majoritairement mais également des protéines non collagéniques et des facteurs de croissance pour former l'ostéoïde. Lors de cette phase, l'avancée longitudinale s'effectue à la vitesse de $15 \mu\text{m}/\text{jour}$ et l'apposition radiale à la vitesse de $1 \mu\text{m}/\text{jour}$.

La phase de minéralisation s'étale, elle, sur plusieurs mois. Ces mêmes cellules déposent ensuite des cristaux minéraux d'hydroxyapatite. 60% de la minéralisation s'effectuent les premiers jours (minéralisation dite primaire), les 40% restant sont apposés à un taux décroissant sur une durée de 6 mois environ (phase de minérali-

sation secondaire). Certaines études (Burr et al. [72]) ont établi, par ailleurs, que la lamelle périphérique, la ligne cimentante, possède des propriétés mécaniques différentes de celles des autres lamelles, notamment son degré de minéralisation diffère des autres lamelles ostéonitiques.

Le remodelage osseux aboutit donc à la génération au sein de la microstructure d'un nouvel ostéon, cylindre percé en son centre par le canal de Havers et constitué de lamelles coaxiales.

La dernière phase correspond à une phase de repos ou de latence : la structure haversienne ou ostéon est totalement formée jusqu'à ce qu'un nouveau processus de remodelage vienne la remplacer. Les ostéoclastes meurent et les ostéoblastes se transforment en cellules bordantes ou en ostéocytes.

1.3.3 Le phénomène de mécanotransduction

Le terme de mécanotransduction définit la propriété d'une cellule à "ressentir" les stimuli mécaniques environnants et à transcrire ce signal mécanique en un signal d'une autre forme (chimique, hormonal..) que les autres cellules sont capables d'interpréter (Cf. Annexe F).

Dans le cas de l'os cortical, les cellules capables de mécanotransduction sont les ostéocytes ou anciens ostéoblastes. Ces cellules ont donc un rôle essentiel dans la réception et la transmission des divers stimuli environnants. Elles se logent dans les lacunes ostéocytaires et leurs filopodes se trouvent dans des petits conduits de 0.2 μm de diamètre environ, les canaliculi. Ce sont notamment ces filopodes qui sont sensibles aux stimuli. Chaque filopode peut se connecter à 12 cellules environ. Les cellules ostéocytaires sont organisées par couches. La matrice entourant ces ostéocytes est non calcifiée, la minéralisation de l'ostéoïde s'arrêtant à l'approche d'un ostéocyte. L'eau et autres petites molécules peuvent pénétrer le réseau de lacunes et canaliculi. Les canaliculi peuvent eux mêmes traverser les lignes cimentantes ce qui permet la communication entre ostéon et matrice interstitielle. La surface d'échange totale de ces canalicules dans l'os cortical représente 1000 à 4000 m^2 .

Le réseau tridimensionnel que les ostéocytes forment entre eux, avec les ostéoblastes et les cellules bordantes est parfois nommé CNN (Connected Cellular Network [73]). Ce réseau opère de façon analogue au réseau neuronale. C'est un système dynamique

stable, la rétroaction y est possible. Il peut être oscillatoire : les signaux rétroactifs permettent sa réorganisation afin de l'adapter aux événements extérieurs. L'information n'y est pas stockée de façon discrète mais y est distribuée continûment, plusieurs informations pouvant être stockées simultanément. Ce réseau s'adapte et s'organise en fonction de l'activité du cytosquelette (ajustement des charges mécaniques). Selon Turner et al. [74], la transmission du signal via le réseau de filopodes des ostéocytes serait limitée en distance ($< 800 \mu\text{m}$). De même, la diffusion des nutriments étant peu efficace, les ostéocytes ne pourraient survivre que s'ils se trouvent à moins de $200 \mu\text{m}$ environ d'un vaisseau sanguin. Cette limitation peut expliquer la taille des ostéons (diamètre maximale de $200 \mu\text{m}$ approximativement) [75].

Les filopodes des ostéocytes, aux parois relativement rigides, contiennent un espace rempli de faisceau de filaments d'actine qui sont liés, transversalement et à intervalles réguliers le long de l'axe du filopode, via les fimbrines (molécules de liaisons). Les filaments d'actine sont soumis à des charges internes dues aux fimbrines et externes dues à la matrice extracellulaire. Entre la membrane cytoplasmique des protubérances et la paroi des canaliculi se trouve un fluide additionné de complexes macromoléculaires qui va induire des contraintes auxquelles seront sensibles les filopodes ostéocytaires. Les filopodes sont donc des acteurs majeurs de la mécano-transduction. La déformation de la membrane des filopodes nécessaire pour obtenir une réponse biochimique est de l'ordre de 1 à 10% in vitro (1 à 3% d'après Burger [76]). En général, macroscopiquement, la déformation du tissu osseux varie de 0.04 à 0.3% (elle excède d'ailleurs rarement 0.1%). Une amplification du signal via le cytosquelette des cellules a donc probablement lieu (Cf. annexe F).

En plus de leur mécano-sensibilité, les ostéocytes permettent de réguler la concentration en calcium dans le corps. En effet, le taux de calcium dans le sang est régulé par une hormone sécrétée par la glande parathyroïdienne, la PTH, hormone qui stimule la mobilisation par les ostéocytes du calcium de la matrice adjacente. Sous l'action de la PTH et de la vitamine D, les ostéocytes résorbent la matrice adjacente, tandis que sous l'action de la calcitonine, ils favorisent le stockage de calcium au niveau de cette même matrice, assurant ainsi l'homéostasie du calcium dans le plasma.

Le rôle majeur des ostéocytes quant au maintien des qualités du tissu osseux

est incontestable et suscite encore beaucoup d'interrogations. C'est d'ailleurs pourquoi actuellement un grand nombre d'études et de groupes de recherche travaillent activement sur ce sujet.

On rappelle également que les ostéocytes sont très sensibles aux stimuli mécaniques, notamment à l'endommagement de l'os cortical. C'est pourquoi, cet endommagement est traité dans la section suivante.

1.4 L'endommagement de l'os cortical

In vivo, l'os supporte quotidiennement des chargements cycliques associés aux activités physiques telles que la marche, la course ou des occupations ménagères. L'os cortical diaphysaire est notamment exposé aux contraintes de compression qui induisent l'accumulation d'endommagement [77][78].

1.4.1 Influence du mode de sollicitation sur le type d'endommagement

Selon le mode de sollicitation, l'endommagement se manifeste différemment. En traction, on observe majoritairement un endommagement diffus (diffuse damage) [79] [80] [81], qui correspond à des décohésions de la matière se développant à des échelles inférieures au micromètre et peut être observé, après coloration de l'os, par fluorescence. Cet endommagement peut apparaître également autour de microfissures [82]. En compression, l'endommagement se manifeste plutôt sous la forme de fissures et micro-fissures (cracks et microcracks) observables au microscope optique et de longueur variant entre 10 et 300 μm [79] [80] [82].

1.4.2 L'endommagement *in vivo*

1.4.2.1 Valeurs de déformations *in vivo*

De nombreuses études montrent que les valeurs de déformations dans la vie quotidienne peuvent s'accroître jusqu'à 0.45 %. Ces données proviennent d'essais réalisés au moyen de jauges de déformation [83]. Toutefois, Milgrom et al. [84] ont

mesuré les valeurs principales de déformation et de taux de déformation sur des tibias humains lors d'activités physiques "normales". Le tableau 1.9 donne des valeurs en compression qui apparaissent bien plus faibles.

	marche	bicyclette	escalier	course
Déformation ε (%)	0.04	0.03	0.1	0.17
Taux de déformation $\dot{\varepsilon}$ (%)	0.33	0.15	0.31	0.98

Tableau 1.9 – Déformations et taux de déformations obtenus sur tibia humain lors de différents exercices d'après [84].

1.4.2.2 Visualisation de l'endommagement

La présence d'endommagement *in vivo* peut être mise en évidence par des techniques de coloration, comme le basic fuschin [85] [13] [86]. Il s'initie au niveau de l'ultrastructure [13]. Les fissures se localisent en particulier dans la matrice interstitielle [85] [86] et leur nombre augmente en fonction de l'âge du patient. En effet, la matrice est plus ancienne donc plus minéralisée que les ostéons et a donc également été plus sollicitée. Norman et al [85] estime que 75% des fissures sont situées dans la matrice et 62% se sont propagées jusqu'à être déviées et arrêtées par une ligne cémentante, qui fait office de barrière. O'Brien et al [87] ont montré que la capacité d'arrêt de la fissure par les lignes cémentantes est fonction de la longueur L de cette fissure. De courtes fissures ($L < 100 \mu\text{m}$) sont arrêtées, celles de longueur comprises entre 100 et 250 μm se propagent le long de la ligne cémentante et les plus longues ($L > 300 \mu\text{m}$) peuvent traverser la ligne cémentante et pénétrer dans l'ostéon.

Le degré de minéralisation, relié au module d'élasticité et différent dans la matrice, les lamelles ostéonitiques et la ligne cémentante, peut également avoir un rôle dans l'amorçage et la propagation de fissure. Guo et al [88] ont prouvé (via simulation numérique) qu'une fissure sollicitée en mode I dans un milieu élastique de module E_0 , proche d'une fibre circulaire (module E_1) engendre une concentration de contrainte en se rapprochant de la fibre si $E_1 > E_0$ et une diminution si $E_1 < E_0$. La matrice interstitielle ayant un module de Young plus élevé que les ostéons (\sim fibre), la fissure se propage préférentiellement dans la matrice.

De manière générale, les zones présentant des microfissures et les zones d'endommagement diffus sont exposées à une plus importante résorption de l'os.

1.4.3 Ténacité de l'os cortical

Différents mécanismes contribuent à la ténacité de l'os cortical :

- déviation et arrêt des fissures par les lignes cémentantes [87] ou par l'hétérogénéité de minéralisation [88].
- dissipation d'énergie en pointe de fissure par développement d'endommagement diffus [89]
- pontage des lèvres des fissures par des fibres de collagènes (collagen crack-bridging) [90] [91] ou par des portions de matériau non rompu (incracked ligaments crack-bridging)

D'après Nalla et al. [91], le mécanisme prépondérant lors d'une sollicitation en mode I serait le pontage par portion de matériau non rompu. Ce même auteur [92] montre une dégradation des propriétés à la rupture de l'os avec l'âge. Il évalue, *in vitro*, la ténacité en terme de R-courbes pour des sujets de 40 à 60 ans présentant des fractures osseuses. La ténacité diminue de 40% environ lorsqu'il y a eu initiation de fissure et devient nulle dès lors qu'il y a eu propagation. Yeni et al. [93] constatent que l'endommagement induit une diminution de la rigidité et de la résistance à l'amorçage de fissure. Les zones endommagées supportent une moins grande charge maximale et la déflexion à la charge maximale et à la charge critique conséquente est également plus petite.

La mécanique élastique linéaire de la rupture (LEFM) a toutefois démontré que l'interprétation des R-courbes expérimentales est sujette à caution, l'os semblant incapable d'empêcher la propagation instable de fissures microscopiques en fissures macroscopiques.

1.4.3.1 Conséquence de l'endommagement

Le micro-endommagement est associé à une diminution de la résistance et de la rigidité osseuse et peut mener progressivement à la rupture via le phénomène de fatigue. L'endommagement par fatigue correspond à l'accumulation de microfissures, dont la coalescence peut aboutir à des macro-fissures et à la rupture de l'os [93]. Ces phénomènes de fatigue et de rupture de l'os sont complexes du fait de la présence de plusieurs échelles structurales (cristaux de minéraux, molécules de

collagène, fibrilles, fibres, lamelles, ostéons, tissu).

Dans un premier temps, l'endommagement induit une dégradation des propriétés mécaniques, notamment une perte de rigidité de l'ordre de 15 à 30% [78] [94]. La quantité d'endommagement accumulée apparaît alors comme une fonction non linéaire du nombre de cycles lors d'essais de fatigue cyclique mais dépendant, en traction du moins, du niveau de contrainte et de son histoire. Burr et al [77] ont par ailleurs établi sur dix fémurs de chien une relation quadratique entre la densité de micro-fissures et la diminution de rigidité et une relation linéaire entre l'aire endommagée et cette détérioration du module de Young. L'accumulation d'endommagement semble également plus rapide en traction mais la croissance des fissures plus importante en compression.

In vitro, Carter et al. [95] évaluent la durée de vie en fatigue de l'os cortical entre 1000 et 100,000 cycles pour des déformations de l'ordre de $5 \cdot 10^{-3}$ à $1 \cdot 10^{-2}$. Schaffler et al [96] [97] ne détectent pas de rupture pour un tel nombre de cycles mais lorsque la perte de rigidité est supérieure à 10%. La majeure partie de la détérioration du module d'élasticité en compression se réalise lors des deux premiers millions de cycles de fatigue. L'orientation des fissures, la morphologie de la microstructure avoisinante et le chargement semblent aussi avoir une influence sur la diminution du module.

Toutefois, *in vivo*, l'accumulation d'endommagement peut se produire pour des déformations de niveau physiologique. Au cours d'une activité normale, l'ordre de grandeur typique des déformations est de $1.5 \cdot 10^{-3}$ à $2.5 \cdot 10^{-3}$ en compression. Selon H.M Frost [98], le remodelage s'active pour une déformation de l'ordre de $1 \cdot 10^{-3}$ (soit une contrainte de l'ordre de 20 MPa). Le remodelage, dont la cible est l'endommagement par fatigue, s'initierait lui pour une valeur de $3 \cdot 10^{-3}$ soit une contrainte de 60 MPa environ. Pour ces déformations typiques, la durée de vie en fatigue de l'os *in vivo* est de l'ordre de 10^7 cycles, ce qui correspond à environ trois ans de vie réelle. L'endommagement peut donc mener à une fracture dite "stress fracture" que se produit notamment chez les sportifs ou, de manière générale, chez les personnes ayant une activité physique importante [83] ou des fractures dues à la fragilité osseuse ("fragility fracture") chez les personnes âgées [86] [13] [85]. Ces types de fracture ont lieu lorsque l'accumulation de micro-fissures est plus importante que la réparation via le processus de remodelage osseux.

1.4.3.2 Rôle des ostéons et de la ligne cimentante quant à l'endommagement

La densité d'ostéons semble un paramètre influent quant à la durée de vie en fatigue de l'os cortical [99]. D'après cette étude, un nombre important de récents ostéons, généralement de petits diamètres, bordant de petites zones de matrice interstitielle, zone propice au développement de fissures, favorisent l'extension de la durée de vie en fatigue en permettant la dissipation d'énergie de déformation, la diminution des concentrations de contraintes et en confinant, via les lignes cimentantes, les microfissures dans les zones interstitielles. En effet, la ligne cimentante, moins rigide que la matrice interstitielle et plus fragile semble favoriser la "réflexion" ou même l'arrêt de la propagation de microfissures en cas d'endommagement : elles agiraient alors comme des barrières. Ainsi, de nombreux travaux montrent que la majorité des microfissures (environ 80 %) sont localisées dans la matrice interstitielle.

1.4.4 Un vecteur majeur du remodelage osseux

Le but prépondérant du processus de remodelage osseux est de conférer une résistance mécanique adaptée aux sollicitations issues de l'environnement. Le remodelage est d'ailleurs régulièrement dit "ciblé" car s'effectuant préférentiellement aux niveaux des sites endommagés afin d'éviter la rupture par fatigue.

Cependant, d'autres événements ou stimuli peuvent être à l'origine de l'activation de ce processus. Par exemple, on peut avoir remodelage lors de charges insuffisantes sur le squelette (cas de maladie des os ou de déficience hormonale, immobilisation...). Il existe aussi une forme de remodelage dit "non ciblé ou aléatoire" car indépendant (du moins semble-t-il) de toute forme de dégradation du tissu osseux [33] [4]. Ce remodelage aléatoire est supposé utile, par exemple, pour le retrait d'os hyperminéralisé ou peut être dû à une avancée plus importante que nécessaire du front de résorption à cause de facteurs hormonaux ou autres causes inconnues. Toutefois, de nombreuses études s'accordent à dire que la réduction de l'endommagement par fatigue constitue le but principal du remodelage osseux, qui permet alors d'entretenir la longévité de l'os.

La relation d'interdépendance des deux phénomènes, l'un purement mécanique, l'autre biologique est significative. Certaines études ont d'ailleurs pu observer que l'organisation de la microstructure peut même résulter de cette dépendance du remodelage à l'endommagement. Burr et al. [100] ont observé que les cavités de résorption apparaissent préférentiellement dans les régions endommagées. Gibson et al. [99] montrent aussi que les zones les plus sollicitées en fatigue possèdent des ostéons de diamètres inférieures à ceux d'autres zones. La fréquence de remodelage y est plus importante et induit une adaptation de la géométrie des ostéons formés. D'autres études, plus ciblées sur la minéralisation de l'os [14], constatent que le remodelage s'initie préférentiellement dans les zones plus anciennes qui sont plus minéralisées donc plus rigides mais plus sujettes aux microfissures.

1.4.5 Modèles d'endommagement

De nombreux modèles généraux existent sur l'endommagement des matériaux [101] [102] [103]. L'endommagement par fatigue de l'os cortical est toutefois moins bien connu.

1.4.5.1 Dégradation de la rigidité

Cet endommagement induit la détérioration de la rigidité de l'os. En première approximation, on considère l'os cortical comme un matériau linéaire élastique isotrope. La diminution du module de Young, démontrée par plusieurs études (Pattin et al. [78], Zioupos et al. [94]), peut alors être explicitée par l'équation suivante 1.1

$$E_D = E_0 (1 - D) \tag{1.1}$$

E_0 étant le module de Young initial, correspondant alors au module élastique d'un matériau idéal non endommagé ($D=0$). La variable D réfère à la variable scalaire isotrope d'endommagement utilisée dans la théorie isotrope de la mécanique continue de l'endommagement (Lemaitre [101], Davy and Jepsen [104]). D est restreint sur l'intervalle $[0, 1]$.

L'équation constitutive du comportement de l'os est alors définie par 1.2 :

$$\sigma = E_D (\bar{\lambda} \text{tr}(\varepsilon) I + 2 \bar{\mu} \varepsilon) \quad (1.2)$$

avec σ et ε respectivement les tenseurs des contraintes et des déformations. $\bar{\lambda} = \frac{\nu}{(1-2\nu)(1+\nu)}$ et $\bar{\mu} = \frac{1}{2(1+\nu)}$ sont les coefficients normalisés de Lamé et E_D , le module élastique endommageable.

1.4.5.2 Lois d'évolution de l'endommagement

Des lois d'évolution de l'endommagement de l'os théoriques [32], [101], [104], [105] ou empiriques [78] existent. Toutefois, la représentation de l'évolution de l'endommagement tel qu'il apparaît *in vivo* reste complexe car de nombreux paramètres (environnementaux, biologiques, hormonaux, mécaniques...) peuvent interférer.

Ces lois peuvent se classer en deux catégories : celles indépendantes des champs mécaniques et celles qui en dépendent.

Lois indépendantes des champs mécaniques

Des études expérimentales *in vitro* (sans phénomène de remodelage donc) ont démontré une croissance exponentielle de l'endommagement jusqu'à la rupture lors d'essais de compression en fatigue sur l'os cortical humain (Pattin et al. [78]). Martin [32] en a déduit une loi, en supposant que la vitesse de formation de l'endommagement était fonction de l'endommagement préexistant. La variable d'endommagement D évolue alors tel que 1.3 :

$$\frac{dD}{dt} = \dot{D} = f_D \quad \text{soit} \quad D = D_0 e^{f_D t} \quad (1.3)$$

La durée de vie en fatigue est alors mesurée plutôt en terme d'années que de cycles de chargements. f_D est une constante de formation d'endommagement, dépendant de la durée de vie en fatigue observée *in vivo*. En supposant que le phénomène d'endommagement ne se produit pas dans les zones de remodelage osseux, la valeur de ce coefficient f_D représente ainsi la durée de vie en fatigue d'un os dépourvu de remodelage, ce qui peut être évalué à environ trois ans (Taylor et al. [106]).

Pattin et al [78] ont eux déterminé expérimentalement une loi basée sur le nombre de cycles de chargement n .

$$D = \frac{1}{2} \cdot \log_{10} \left[\frac{1}{1 - \frac{n}{N_f}} \right] \quad (1.4)$$

Cette loi tient compte de l'accumulation de l'endommagement par fatigue via le ratio entre le nombre de cycles de chargement n et la durée de vie en fatigue N_f .

Cependant, afin de considérer l'endommagement comme un stimulus pour l'activation du remodelage osseux, il semble nécessaire d'étudier sa dépendance à l'état de contraintes et de déformations.

Lois dépendant des champs mécaniques

De manière générale, l'évolution de l'endommagement de l'os peut s'exprimer comme tel (equation 1.5) :

$$\dot{D} = g(D, \varepsilon_{eq}) \quad (1.5)$$

où $\dot{} = \frac{\partial}{\partial t}$ et ε_{eq} , une déformation équivalente.

La théorie isotrope de mécanique des milieux continus ([101]) peut aboutir à une évolution de l'endommagement dépendante des déformations et des vitesses de déformations. La relation entre l'endommagement D et la déformation ε_{eq} peut alors s'exprimer selon 1.6 :

$$\dot{D} = \frac{\dot{\varepsilon}_{eq}}{\varepsilon_{eq}} [1 - D] \quad (1.6)$$

Frondrk ([104], [105]) a également défini une loi isotrope capable de décrire le comportement non linéaire de l'endommagement en fonction des champs de contraintes et de déformations. Celle ci est donnée par l'équation 1.7 :

$$\dot{D} = B \left[\frac{1 - D}{\varepsilon_{eq}} \right] \left[\frac{\sigma_I}{\sigma_r} \right]^N \quad (1.7)$$

avec σ_I , la contrainte majeure principale, ε_{eq} une déformation équivalente, σ_r une contrainte constante (contrainte maximale de compression donnée par la littérature), B et N des constantes matériaux. La déformation équivalente ε_{eq} est spécifiée par :

$$\varepsilon_{eq} = \sqrt{\varepsilon_{xx}^2 + \varepsilon_{yy}^2 + \varepsilon_{zz}^2 - (\varepsilon_{xx} \varepsilon_{yy} + \varepsilon_{xx} \varepsilon_{zz} + \varepsilon_{yy} \varepsilon_{zz}) + 3(\varepsilon_{xy}^2 + \varepsilon_{xz}^2 + \varepsilon_{yz}^2)} \quad (1.8)$$

Par la suite, cette loi est désignée comme loi de Frondrk et fera l'objet d'une étude particulière.

1.4.6 Modèles de remodelage osseux associés à l'endommagement

La connaissance du processus du remodelage et de ses conséquences favorise la prédiction médicale du risque fracturaire et le diagnostic des maladies comme l'ostéoporose. De nombreux modèles de remodelage existent donc dans la littérature. Cowin et Hegedus [107] ont été les premiers à détailler un modèle de mécano-régulation, les déformations mécaniques intervenant comme stimuli. Ensuite, Wolff [108] a établi l'influence de l'environnement mécanique sur la microstructure osseuse. De nombreux modèles phénoménologiques, basés sur des changements de densité apparente de l'os ont été par ailleurs développés (Carter et al. [109], Beaupré et al. [110]).

Plus récemment, certaines études ont considéré le remodelage osseux comme un mécanisme de réparation de l'os endommagé (Prendergast et al. [111], Doblaré et al. [112]). Burr et al. [13] ont également démontré que la rétroaction entre la production d'endommagement et la création de porosité, lors de la phase de résorption, peut mener à la rupture. Un modèle, considérant simultanément l'endommagement et les déformations comme stimuli, a été proposé par Prendergast et Huiskes [113] : le remodelage de l'os trabéculaire permet la conservation de la masse osseuse et prévient des fractures. Une telle combinaison endommagement/ déformation a également été introduite : le remodelage est activé lorsque l'endommagement dépasse un seuil critique [114].

D'autres travaux ont considéré des paramètres biologiques tels que la minéralisation, l'activité métabolique, les maladies... (Hazelwood et al. [115], Huiskes et al.

[116], Hernandez et al. [117]) mais ceux ci étant traités de manière indépendante. Un modèle de remodelage intracortical incluant la minéralisation ainsi qu'un critère de contrainte limite élastique anisotrope a été mis en place par Terrier et al. [118]. Garcia-Aznar ([119]) puis Martinez-Reina ([120]) ont présenté un modèle dépendant du temps avec changement de densité apparente, minéralisation, endommagement par fatigue et évolution du module de Young de la tête proximale d'un fémur humain et l'ont comparé avec des données expérimentales obtenus par d'autres auteurs tels que Bayraktar [25].

Le phénomène de mécanotransduction a également été souligné par de nombreux auteurs (El Haj et al. [121], Burger and Klein-Nullend [76]). Les cellules ostéocytaires seraient sensibles aux contraintes ou déformations, produites et amplifiées par le flux de fluide entre les parois des canaliculi et les protubérances des ostéocytes (Cowin et al. [122]), aux réponses biochimiques (You et al. [123]) ou à l'endommagement (Martin et Burr ([124], Martin [3], Lee et al. [125]).

On constate, cependant, que la plupart de ces travaux réfèrent à l'os trabéculaire et/ ou au remodelage de l'os trabéculaire. Ceux considérant l'os cortical ne tiennent compte que de la déformation ou de l'endommagement comme stimulus mais rarement des deux simultanément. Ce sont par ailleurs bien souvent des modèles macroscopiques. Les approches microscopiques s'intéressent, généralement, uniquement à une phase spécifique du remodelage. C'est pourquoi, dans cette étude, nous nous intéresserons à la simulation du processus de remodelage osseux au sein de microstructures d'os cortical humain étudiées expérimentalement.

1.4.7 Modèles de fatigue

La représentation des chargements cycliques, tels qu'ils ont lieu *in vivo*, semble essentielle pour mieux appréhender l'interaction entre l'endommagement et le remodelage. La simulation de l'accumulation de l'endommagement consécutive aux chargements cycliques est notamment intéressante quant à la compréhension de l'activation du remodelage.

Les activités quotidiennes induisent généralement des fréquences variant de zéro à trois hertz approximativement. L'os est ainsi soumis à environ 10 000 cycles "rapides"

ou haute fréquence ("high frequency cycle") par jour. Simultanément, et même s'il y a immobilisation, se produit un chargement quasi statique qu'on appelle, par la suite, "cycle de basse fréquence" ou "low frequency cycle". Plusieurs ordres de grandeurs interviennent : la durée de vie de l'os, de plusieurs dizaines d'années, est bien plus longue que la période des cycles hautes fréquences, de l'ordre de quelques secondes.

La présence de ces deux échelles de temps impose l'intégration numérique de ce problème pendant un petit pas de temps de calcul. Qing et Fish [126] ont décomposé les problèmes de conditions aux limites initiales selon différentes échelles de temps. Ils aboutissent alors à un problème global lié aux cycles basses fréquences (chargement quasi statique) pour la période totale de chargement et un problème local associé aux cycles hautes fréquences (problème oscillatoire) sur une unique période rapide. Cette méthode a été testée pour des matériaux visco-élastiques. Oskay et Fish [127] ont développé un modèle à plusieurs échelles de temps pour prédire la durée de vie en fatigue de matériaux élastoplastiques. Des champs non périodiques en temps résultent alors des déformations inélastiques avec mise en évidence de deux échelles de temps : une lente et une rapide. La considération de ces deux échelles avait déjà fait l'objet de travaux de Guenounni et Aubry [128] qui utilisaient une méthode de développement asymptotique permettant la simulation de l'évolution moyenne des champs mécanique ainsi que des chargements cycliques rapides. Cependant, ces modèles n'explorent pas le problème d'endommagement par fatigue, notamment dans le cas de matériaux biologiques comme l'os cortical.

1.5 Conclusion de l'étude bibliographique

Ce travail bibliographique met en évidence la richesse et la complexité de l'os cortical humain, issues notamment de la modification continue dont il fait l'objet. La spécificité des propriétés osseuses, propre à chaque individu, voir même à la localisation au sein de l'os, est également remarquable. De nombreuses études à ce sujet existent, toutefois un certain nombre de lacunes persistent encore sur le comportement mécanique de l'os cortical humain, notamment à l'échelle de l'ostéon. Le processus biologique de remodelage osseux, qui intervient à cette échelle, porte aussi à débat. Sa connaissance semble essentielle puisqu'il contribue à la longévité

du squelette. Les facteurs d'activation de ce phénomène sont nombreux. Cependant, les déformations et l'endommagement par fatigue semblent être des stimuli importants. La modélisation du remodelage osseux à l'échelle de la microstructure, en tenant compte du phénomène d'endommagement, sur des spécimens caractérisés expérimentalement, semble ainsi justifiée.

Caractérisation expérimentale des propriétés biologiques et mécaniques à différentes échelles de l'os cortical humain

L'approche expérimentale menée dans cette étude s'attache à explorer et exploiter les diverses propriétés de l'os cortical humain, encore relativement peu connues et amenant toujours à débat.

Cette étude porte sur huit spécimens de sexe féminin âgés de 74 à 101 ans.

On s'intéresse à la fois aux propriétés mécaniques mais également biologiques relatives à ces spécimens selon trois échelles : macroscopique, microscopique et nanoscopique.

Le but est d'établir une caractérisation la plus complète possible de chaque échantillon afin de pouvoir en ressortir les dépendances potentielles entre les divers paramètres.

Cette caractérisation servira aussi lors de la modélisation numérique du processus biologique de remodelage osseux qui sera appliquée à certains spécimens dotés alors de ces propriétés qui lui sont propres.

Chapitre 2

Comportement mécanique macroscopique du tissu cortical

2.1 Introduction

La caractérisation à l'échelle macroscopique constitue la première étape de l'analyse expérimentale des échantillons de fémurs humains de cette étude.

Elle permet notamment de comparer les propriétés mécaniques et biologiques inter-spécimen.

Cette caractérisation est d'autant plus nécessaire que les données de la littérature restent relativement pauvres et parfois mêmes contradictoires. Suite à la description des méthodes et outils expérimentaux utilisés, on donne les valeurs des paramètres morphométriques (âge, porosité et densité minérale) et mécaniques (module de Young, contrainte maximale et déformation associée) relatifs à chaque fémur selon deux directions (direction de la diaphyse (longitudinale) et celle qui lui est perpendiculaire (transversale)).

Une analyse des relations entre ces différentes données est également effectuée.

2.2 Matériels et méthodes

Un ensemble de huit fémurs humains provenant de l'institut des Saints pères et utilisé dans le cadre du Master recherche de C. de Besombes a été collecté. Ils proviennent de donneurs féminins âgés de 74 à 101 ans (voir tableau 2.1). Des cylindres

de 3 cm de long ont été découpés dans la partie diaphysaire, environ 10 cm sous le petit trochanter, puis conservés à -20°C (Cf. 2.1).

2.2.1 Préparation des échantillons

L'objectif principal de cette étude est d'analyser le champ de déformation par corrélation d'images lors d'essais de compression sous microscope optique effectués dans les directions longitudinale et transversale du fémur. Ceci nécessite l'obtention d'échantillons parallélépipédiques de longueurs proches de 5 mm et de sections carrées proches de 7 mm^2 .

Les échantillons d'os cortical sont obtenus selon le protocole suivant, illustré sur la figure 2.1 .

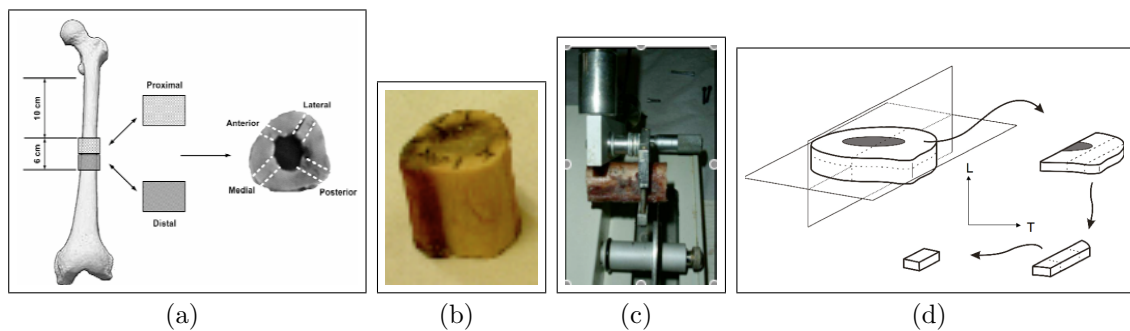


Figure 2.1 – Protocole d'obtention des échantillons parallélépipédiques à partir des prélèvements fémoraux. (a) : Localisation de la zone de prélèvement. (b) : Cylindre prélevé dans la diaphyse. (c) : Découpe d'une tranche par scie Secotom. (d) : Découpe successive de la section d'intérêt en parallélépipède.

Dans une première étape, deux tranches à faces parallèles perpendiculaires à l'axe du fémur sont découpées à l'aide d'une scie à lame diamantée Struers Secotom 10. La première tranche est d'épaisseur 5 mm, ce qui correspond à la longueur des échantillons dans la direction longitudinale, qui seront notés par la suite L. La seconde tranche est d'épaisseur 3 mm ce qui correspond à l'épaisseur des échantillons transversaux, qui seront notés par la suite T.

Dans une deuxième étape, la partie postérieure de chacune des tranches est découpée afin d'obtenir la géométrie parallélépipédique désirée.

Lors de l'essai de compression, on associe à l'axe de chargement la plus grande dimension des éprouvettes, correspondant à l'axe longitudinal (axe du fémur) pour les échantillons L et à l'axe transversal (perpendiculaire à l'axe du fémur) pour les échantillons T.

La géométrie des éprouvettes (section S_0 , longueur l_0) ainsi que l'âge des spécimens associés se trouvent dans le tableau 2.1. La variation des sections et des longueurs est liée principalement à l'épaisseur de corticale des échantillons en notre possession. Dans tous les cas, le rapport de la longueur sur la plus grande des largeurs des éprouvettes est supérieur à 1.5 afin d'obtenir un champ de déformation homogène au centre des échantillons.

On notera que le prélèvement de l'échantillon 4L n'a pu être effectué faute d'une quantité de corticale suffisante.

Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8
âge (ans)	74	86	86	91	96	91	79	101
L : S_0 (mm ²)	5.88	7.17	5.8	/	6.71	5.63	4.5	4.65
L : l_0 (mm)	4.8	4.66	4.96	/	4.9	4.36	5	5.1
T : S_0 (mm ²)	5.98	5.88	9	6.2	5.77	7	6.75	2.88
T : l_0 (mm)	5	4.2	4.9	5.2	4.36	5	5.1	4

Tableau 2.1 – Age des patients et géométrie des échantillons correspondant aux huit fémurs étudiés.

Les surfaces destinées à l'observation au microscope optique sont ensuite polies mécaniquement jusqu'à une granulométrie 1200, puis avec une solution d'alumine à 1 μm . L'inconvénient majeur de cette préparation est la possibilité de pré-endommager le matériau avant l'essai mécanique. Ce problème est difficilement contournable d'autant plus qu'un pré-endommagement *in vivo* préalable n'est pas non plus à écarter. On remarque par ailleurs l'importance :

- du parallélisme des éprouvettes réalisées afin d'obtenir un essai de compression valide
- de la planéité de la surface d'observation pour éviter les problèmes de focalisation lors de la prise d'image.

2.2.2 Microscanner (microCT)

Après les caractérisations mécaniques, tous les échantillons ont été analysés avec le microscanner Skyscan 1172 (SkyScan, Aartselaar, Belgium) qui utilise un faisceau conique de rayons X et dont le principe général, qui repose sur la tomographie 3D, est précisé en annexe A. Ces analyses ont été effectuées au laboratoire B2OA CNRS-UMR 7052.

L'objectif principal de cette étude est d'avoir accès aux données histomorphométriques comme la porosité et la densité minérale.

Les échantillons frais sont positionnés sur le support du microscanner avec de la plasticine. Pour les échantillons L, l'axe des ostéons (axe de la diaphyse) est perpendiculaire au support, pour les échantillons T, cet axe est parallèle au support.

Les images sont obtenues à 80 kV et 100 μ A. La caméra CCD utilisée est une caméra haute résolution (4000 x 2400 pixels) qui permet d'obtenir une résolution de 1.94 μ m. La distance entre la caméra et l'échantillon est fixée à environ 30 mm. Une rotation de 0.25 degrés est utilisée entre chaque acquisition d'images. Un ensemble de coupes 2D est reconstruit pour chaque échantillon (le nombre de coupes dépendant de la hauteur de l'échantillon) et stockée en format bmp indexée en niveau de gris compris entre 0 (noir) et 255 (blanc).

Afin de tenir compte de la déviation éventuelle du scanner et de convertir les unités Hounsfield (HU, échelle de niveaux de gris) en densité équivalente (en mg d'hydroxyapatite par ml et notée dans ce qui suit BMD (mgHA/ml)), deux fantômes de densité minérale différentes (respectivement de 250 mg HA /ml et de 750 mg HA/ml) sont analysés avant et après les acquisitions (Annexe A).

Les images 2D ont été travaillées via le logiciel Gimp. Une rotation puis un rognage identique pour chaque image d'un même spécimen ont été réalisés afin d'en exploiter le volume maximum (Cf. Annexe A).

La reconstruction 3D des échantillons à partir de l'ensemble des coupes 2D modifiées a été réalisé avec le logiciel Amira (amira TGS Mercury).

Un exemple d'image 3D, où les contours des porosités sont représentés, est donné sur la figure 2.2.

La porosité globale de chaque échantillon a été calculée par segmentation des niveaux de gris. La valeur du niveau de gris seuil correspond au point d'inflexion

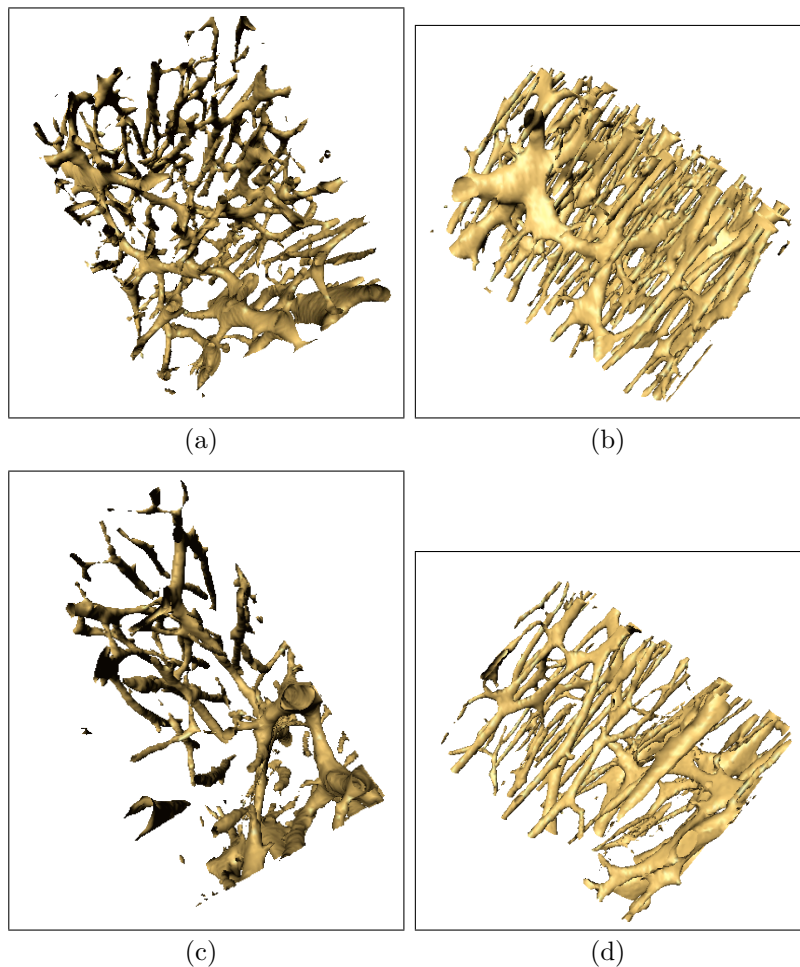


Figure 2.2 – Images 3D représentant la porosité des échantillons 4T et 5T obtenues à partir du logiciel Amira

enregistré sur l’histogramme cumulé des niveaux de gris de chaque échantillon. Le niveau de gris seuil est de 15 pour les échantillons L, excepté pour le 7L et le 8L, où $N_{g_{seuil}}$ vaut respectivement 35 et 45. Pour les échantillons T, il est de 25, sauf pour le 3T, 6T et le 8T où $N_{g_{seuil}}$ vaut 15, 10 et 60 respectivement.

La densité minérale équivalente a été déterminée à partir de l’histogramme des niveaux de gris du volume 3D reconstruit. Cette densité, notée BMD, correspond au milieu de la corde tracée sur l’histogramme à 40 % du niveau maximum (Cf. figure 2.3). Les deux fantômes sont utilisés afin de calibrer les niveaux de gris à partir d’une relation linéaire entre N_g et BMD issue de la littérature [17]. Cette densité reflète la densité minérale du tissu osseux uniquement en excluant la porosité.

On appellera, par la suite, ΔBMD la largeur de corde qui caractérise l’hétérogénéité de la densité minérale.

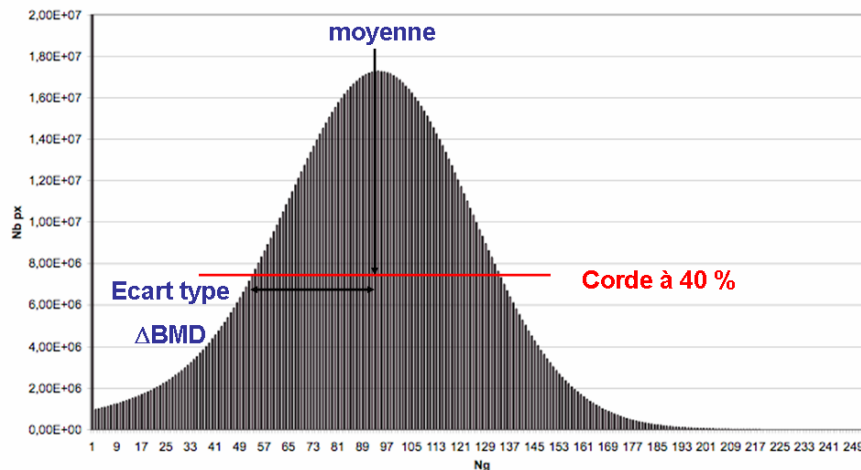


Figure 2.3 – Mesure de la densité minérale à partir de l’histogramme, Corde à 40%, moyenne BMD et écart type ΔBMD

2.2.3 Essais de compression *in situ* sur microscope optique

2.2.3.1 Essai mécanique

L’essai mécanique a pour objectif de mettre en évidence les propriétés mécaniques macroscopiques propres à chaque échantillon, qui sera sollicité selon sa plus grande dimension. Une machine de compression, de petite taille et développée au laboratoire, est placée sur la platine d’un microscope optique afin de prendre des images de la surface polie de l’éprouvette durant l’essai.

Le montage expérimental est présenté figure 2.4.

Le dispositif expérimental est constitué d’un microscope optique Nikon (Eclipse L150) équipé d’une caméra CCD noir et blanc (DALSA PANTERA SA 4M15) d’une résolution de 2048×2048 pixels. Les images sont prises au grandissement $\times 5$, ce qui permet d’avoir une image de $2.92 \times 2.92 \text{ mm}^2$.

La machine de compression est instrumentée afin de mesurer au niveau du mors fixe la force appliquée (capteur Entran, 2.5 kN), et l’essai est piloté en déplacement. La vitesse du mors mobile est fixée à $1 \mu\text{m s}^{-1}$, soit une vitesse de déformation proche de $\dot{\epsilon} \sim 2 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. Un capteur de déplacement (LVDT, SCHAEVITZ MHR100) en-

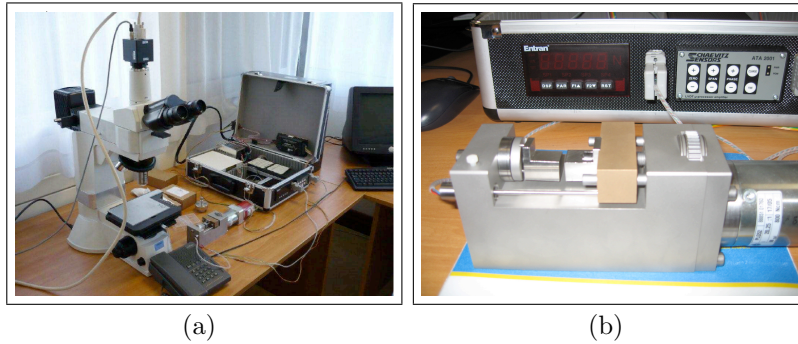


Figure 2.4 – Montage expérimental. (a) : Dispositif expérimental complet. (b) : Machine de compression

registre le déplacement du mors mobile.

Des relevés de ces deux capteurs est déduit une courbe brute force vs déplacement. L'essai est par ailleurs arrêté tous les 100 newtons afin d'acquérir une image au moyen de la caméra CCD. Ces images permettent, grâce à une technique de corrélation d'images, expliquée dans le paragraphe suivant, de mesurer un champ de déplacement à la surface de l'éprouvette.

On note qu'afin d'éviter le dessèchement du spécimen et d'en préserver ses propriétés, celui ci est humidifié régulièrement avec de l'eau distillée.

On définit la contrainte nominale σ par :

$$\sigma = \frac{F}{S_0}$$

où F désigne la force appliquée et S_0 , la section nominale de l'éprouvette.

La déformation issue du LVDT ε_{LVDT} est donnée par :

$$\varepsilon_{LVDT} = \frac{\delta l}{l_0}$$

avec δl , le déplacement appliqué et l_0 , la longueur initiale de l'éprouvette.

2.2.4 Corrélation d'images

Dans un premier temps, la méthode de corrélation d'images est utilisée pour traiter les images prises à chaque étape de chargement afin d'obtenir la déforma-

tion macroscopique à la surface de l'échantillon. La corrélation d'images consiste à comparer une image de l'échantillon à un instant donné au cours de l'essai de compression avec une image à l'état initial (ou non déformé) de l'échantillon avant essai, état dit de référence. On mesure alors la variation de position due à la compression d'un certain nombre de points définis dans l'état de référence.

La microstructure de l'os cortical, très riche, offre un nombre important de détails pouvant servir de marqueurs. On nomme détail, un point autour duquel existe un contraste de niveaux de gris permettant de l'identifier de manière unique. Le voisinage de ce marqueur constitue le domaine de corrélation D . Un point de mesure est défini par son voisinage : retrouver ce point dans l'état déformé, c'est retrouver le centre du domaine D qui ressemble le plus au voisinage du point de départ. Cette recherche du domaine D s'effectue via un calcul de minimisation d'un coefficient de corrélation C qui exprime le niveau de ressemblance entre 2 domaines (ou groupe de pixels) [129].

$$C = 1 - \frac{\sum_{i \in D} g_0(X_i) \cdot g_t(x_i)}{\sqrt{\sum_{i \in D} (g_0(X_i))^2} \cdot \sqrt{\sum_{i \in D} (g_t(x_i))^2}}$$

où

- X_i, x_i sont les coordonnées des pixels dans l'image de référence et déformée ;
- $g_0(X_i), g_t(x_i)$ sont respectivement les niveaux de gris dans l'image de référence et déformée ;
- D est le domaine de corrélation.

La transformation physique \mathcal{F} reliant X_i et x_i constitue l'inconnue. Une hypothèse sur la forme de \mathcal{F} est nécessaire. Le code utilisé dans cette étude (CorrelmanuV développé au LMS, Ecole Polytechnique ([129] [130]) est écrit en supposant une translation homogène sur le domaine D , tel que :

$$x_i = \mathcal{F}(X_i) = X_i + u(X_0)$$

avec X_0 , un point quelconque du domaine D et $u(X_0)$ la translation du domaine de corrélation.

Ce code permet, par ailleurs, de travailler en coordonnées subpixels. La précision de la mesure est de 0.088 pixel (Cf. Annexe B).

A l'échelle macroscopique, la déformation moyenne sur une image est obtenue en utilisant quatre points de corrélation, placés aux quatre coins de l'image. La distance entre chaque point est de 1500 pixels. La déformation à partir de la connaissance du déplacement est calculée à partir de la méthode proposée par Bornert [130], qui permet d'obtenir la déformation moyenne dans une zone à partir du déplacement des points définissant son contour. Dans la suite, **1** désignera la direction de sollicitation, et **2** la direction orthogonale à la direction de sollicitation. Les déformations correspondantes, ε_{11} et ε_{22} , sont obtenues avec une incertitude respective de $5.9 \cdot 10^{-5}$ et de $8.8 \cdot 10^{-5}$.

La déformation ε_{11} est notamment utilisée pour corriger la déformation ε_{LVDT} issue du déplacement mesuré par le capteur LVDT qui a l'inconvénient de prendre en compte les jeux ainsi que la rigidité du spécimen et de la machine de compression. A chaque prise d'image, ε_{LVDT} est corrigée à partir de la déformation obtenue par corrélation d'image. Une interpolation linéaire est effectuée entre deux étapes.

2.3 Résultats

2.3.1 Paramètres morphométriques et densitométriques

On s'attache ici à donner les taux de porosité et la densité minérale de chaque spécimen et d'observer les relations potentielles entre ces paramètres et l'âge.

2.3.1.1 Porosité

Le tableau suivant (2.2) donne le taux de porosité pour chaque spécimen.

	1	2	3	4	5	6	7	8
L : Porosité (%)	4.17	8	3.2	/	6.26	3.45	9.05	18.7
T : Porosité (%)	2.9	3.3	4.9	5.4	4.35	10.5	4.62	12.8

Tableau 2.2 – Porosité macroscopique obtenue après analyse des images micro CT pour les différents échantillons étudiés (L et T)

Les échantillons L possèdent une porosité moyenne de $7.55\% \pm 5.41\%$ et les échantillons T de $6.1\% \pm 3.58\%$ ($6.2\% \pm 3.85\%$ si l'on ne tient pas compte du

spécimen 4T). Ces valeurs de porosité obtenues sont cohérentes avec la littérature [40].

Par ailleurs, la porosité moyenne des spécimens L est supérieure aux spécimens T. Le fait que les échantillons L et T n'aient pas été prélevés exactement au même lieu peut expliquer cette différence. En effet, au sein d'un même échantillon, on peut déjà observer ponctuellement une localisation de la porosité dans certaines zones. Toutefois, si l'on ne considère pas le spécimen 8, les porosités moyennes des échantillons longitudinaux et transversaux sont quasi identiques (respectivement $5.6 \pm 2.5\%$ et $5.2 \pm 2.5\%$).

2.3.1.2 Densité minérale

Le densité minérale du tissu (BMD) ainsi que l'écart type de la densité (\pm) de chaque échantillon sont spécifiés dans le tableau ci-dessous (2.3).

	1	2	3	4
L : BMD (mgHA/ml)	1001 ± 446	1049 ± 478	1081 ± 532	/
T : BMD (mgHA/ml)	1049 ± 319	1065 ± 366	1112 ± 510	1081 ± 350
	5	6	7	8
L : BMD (mgHA/ml)	1049 ± 462	1001 ± 350	1144 ± 303	1065 ± 271
T : BMD (mgHA/ml)	1065 ± 366	$\pm *$	1112 ± 414	1240 ± 255

Tableau 2.3 – Densité minérale macroscopique (BMD) et écart type associé (\pm) obtenue par micro CT pour les différents échantillons étudiés (L et T) (* : non représentatif, spécimen scanné en différé relativement aux autres)

La densité minérale moyenne des spécimens L est de 1056 ± 49 mgHA /mL et, pour les spécimens T, de 1103 ± 65 (en ne tenant pas compte de l'échantillon 6T qui n'a pu être évalué pour des raisons techniques) et de 1107 ± 70 mgHA/ml (sans les échantillons 4T et 6T). Ces valeurs sont cohérentes avec la littérature, notamment avec celles relevées par Wachter et al. [47]. On note que la densité minérale des échantillons L est inférieure de 4.6% à celle des spécimens T (sans considérer les échantillons 4T et le 6T).

L'écart type inter-spécimen est relativement faible. Toutefois, on note une forte variation de densité minérale intra-spécimen, de l'ordre de 25 à 50 % pour les spécimens L et de 20 à 45 % pour les T.

2.3.1.3 Relation inter paramètres morphométriques

Une analyse des relations potentielles entre l'âge, la densité minérale et la porosité a été effectuée. La seule tendance observée est l'augmentation de la porosité avec l'âge. Les coefficients de déterminations r^2 restent cependant faibles. Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature. En effet, la plupart des études [16] [39] ou encore [36] montrent que la porosité a tendance à augmenter avec l'âge.

Suite à cette caractérisation des paramètres morphométriques, on s'attache maintenant à déterminer le comportement mécanique des échantillons.

2.3.2 Paramètres mécaniques

2.3.2.1 Courbes de compression

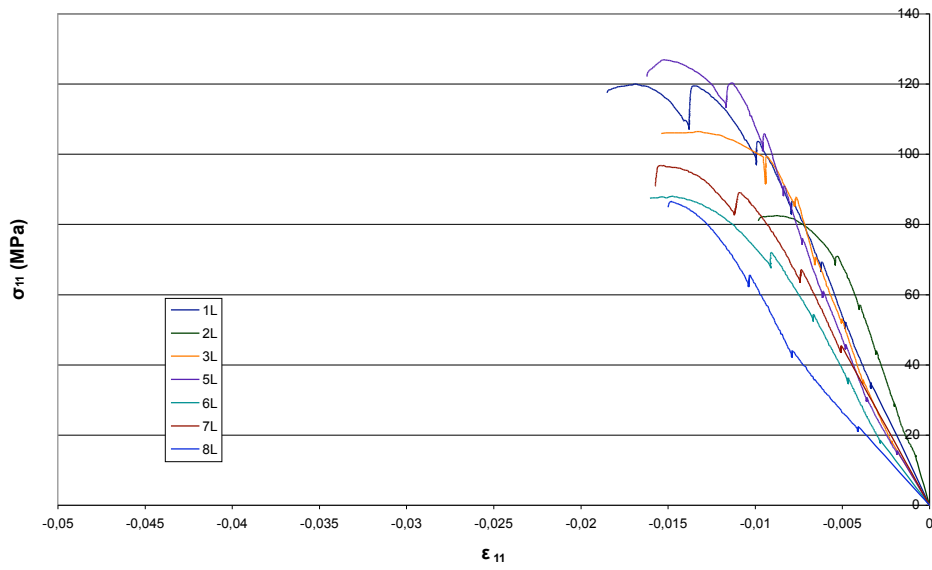
Les courbes de compression des échantillons longitudinaux (L) et transversaux (T) sont données sur la figure 2.5. Par la suite, σ_{11} définit la valeur absolue de la contrainte.

Ces courbes montrent clairement l'hétérogénéité importante qui existe entre les différents échantillons aussi bien dans la direction L que T. De plus, la déformation maximale dépend fortement de la direction de sollicitation : les échantillons T se déforment beaucoup plus que les échantillons L. De la même manière, les contraintes maximales enregistrées sont plus importantes dans la direction L que T.

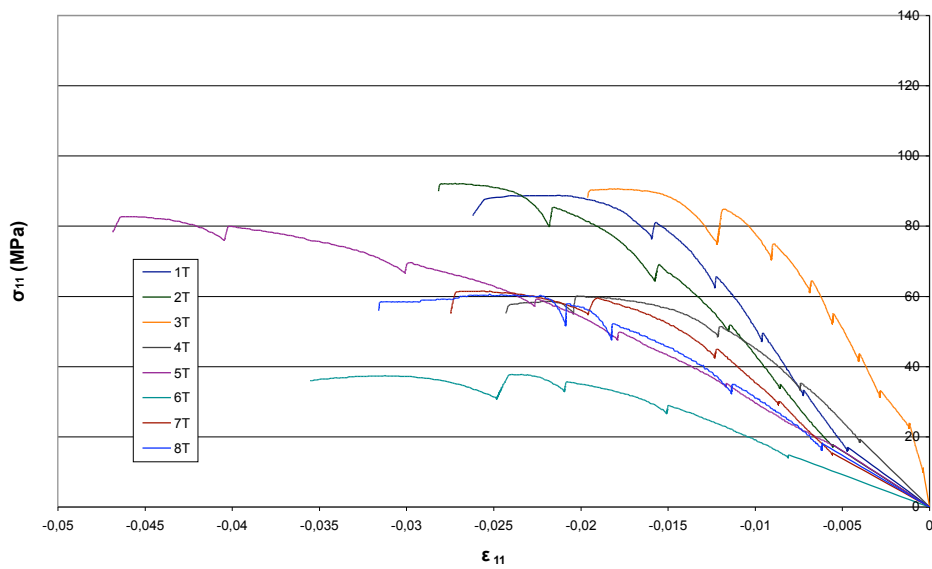
Afin de quantifier ces effets, le module de Young et les valeurs de contrainte et de déformation à la rupture des différents échantillons ont été mesurés.

2.3.2.2 Module de Young E

La détermination du module de Young des différents échantillons est effectuée en se plaçant dans la partie linéaire de la courbe (en général $\sigma_{11} > 40$ MPa dans la direction L et 30 MPa dans la direction T). Le module de Young a alors été défini comme la tangente à la courbe de compression dans cette partie. Les valeurs obtenues sont données dans le tableau 2.4.



(a) Echantillons L



(b) Echantillons T

Figure 2.5 – Courbes de compression des échantillons dans les directions L et T

	1	2	3	4	5	6	7	8
L : E (GPa)	16.8	17.5	18.4	/	17	17	16.5	10
T : E (GPa)	12.6	8.8	11.6	6.5	4	3.9	6.5	6

Tableau 2.4 – Valeurs du module sécant données par les essais de compression des microstructures d’os cortical humain étudiées. (L : direction longitudinale, T : direction transversale)

La valeur moyenne du module de Young est de 16.17 GPa (± 2.79 GPa) dans la direction longitudinale, de 7.49 GPa (± 3.25 GPa) dans la direction transversale et de 7.63 GPa (± 3.48 GPa) si l’on ne considère pas l’échantillon 4 T.

Dans cette configuration, le rapport moyen entre le module de Young longitudinal et transversal est de 2.1. On note que l’hétérogénéité du module de Young est beaucoup plus importante dans la direction transversale que longitudinale. Ces valeurs sont en très bon accord avec celles de la littératures [19] [21] [22] [131].

2.3.2.3 Valeurs maximales

La valeur maximale de la contrainte atteinte au cours de l’essai est une très bonne indication sur les propriétés mécaniques des matériaux. La valeur absolue de la contrainte maximale sera par la suite notée σ_m et la déformation correspondante ε_m . Les valeurs obtenues sont données dans le tableau 2.5.

Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8
L : σ_m (MPa)	120	82.5	106.5	/	126.8	88	96.8	86.5
L : ε_m (%)	1.69	0.87	1.34	/	1.51	1.48	1.52	1.48
T : σ_m (MPa)	88.8	92.2	90.7	60.2	82.7	37.7	61.5	60.6
T : ε_m (%)	2.12	2.72	1.79	2.03	4.59	2.34	2.52	2.52

Tableau 2.5 – Valeur de la contrainte maximale et de la déformation correspondante pour les huit échantillons dans les directions L et T.

La valeur moyenne de la contrainte maximale est de 101 MPa (± 17.3 MPa) dans la direction longitudinale, de 71.8 MPa (± 19.67 MPa) dans la direction transversale et de 73.5 MPa (± 20.64 MPa) si l’on ne considère pas l’échantillon 4T.

La contrainte maximale dans la direction longitudinale est donc, en moyenne, plus élevée de 41% que dans la direction transversale. Au contraire, l’écart type de

la contrainte maximale des échantillons de direction transversale est plus important que celui mesuré dans la direction longitudinale.

L'analyse de la déformation correspondante montre que la valeur moyenne de la déformation est de 1.41% ($\pm 0.26\%$) dans la direction longitudinale et de 2.58% ($\pm 0.87\%$) dans la direction transversale et de 2.66% ($\pm 0.91\%$) si l'on ne considère pas l'échantillon 4T. La déformation ε_m transversale est de 53% plus élevée que celle longitudinale. L'écart type de la déformation dans la direction transversale est également supérieur à celui dans le sens longitudinal .

2.3.3 Corrélation entre les paramètres mécaniques et biologiques

On s'intéresse ici aux relations pouvant exister entre les paramètres biologiques (âge, porosité et densité minérale) et mécaniques. Il serait, en effet, bénéfique de pouvoir prédire le comportement mécanique (risque fracturaire, remodelage osseux) à partir de l'évaluation clinique.

2.3.3.1 Relation avec l'âge

Le tableau ci dessous (2.6) donne les différents coefficients de corrélation entre les paramètres mécaniques et l'âge ainsi que la tendance observée (+ pour croissant, – pour décroissant, pas de symbole lorsqu'il n'y a pas de tendance).

	L : r^2	Tendance	T : r^2	Tendance
E	0.33		0.45	-
σ_m	0.05		0.12	
ε_m	0.015		0.16	

Tableau 2.6 – Coefficient de corrélation r^2 et tendance entre les paramètres mécaniques E , σ_m , ε_m et l'âge

Le module de Young E décroît avec l'âge dans la direction transversale, comme prévu par la littérature [6] (Figure 2.6).

En dehors de cette relation, aucune réelle tendance n'est décelée entre l'âge et la contrainte maximale σ_m , la déformation associée ε_m .

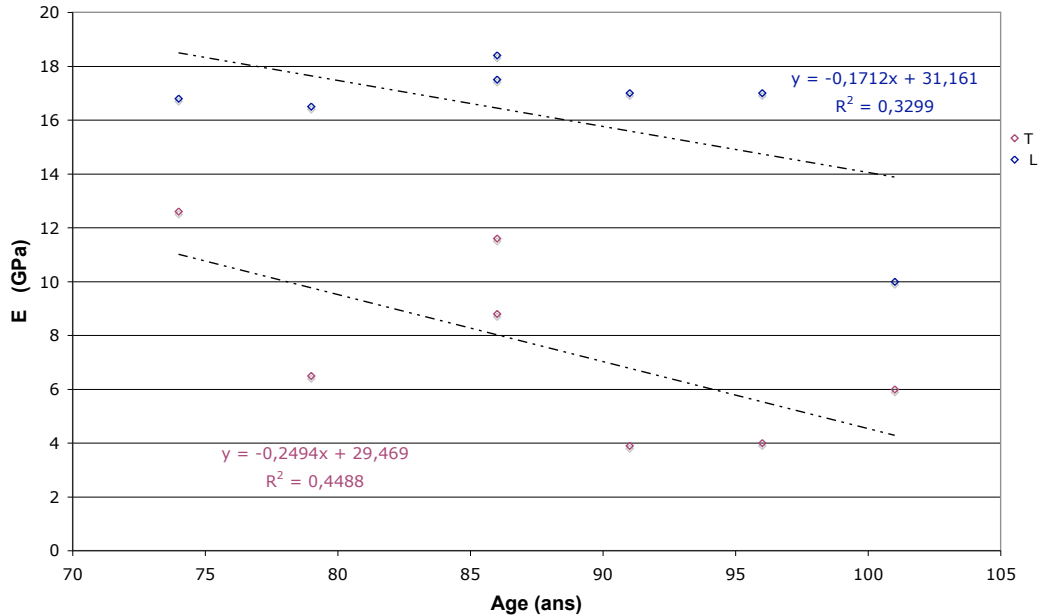


Figure 2.6 – Relation entre le module de Young E macroscopique et l'âge des patients dans les directions L et T

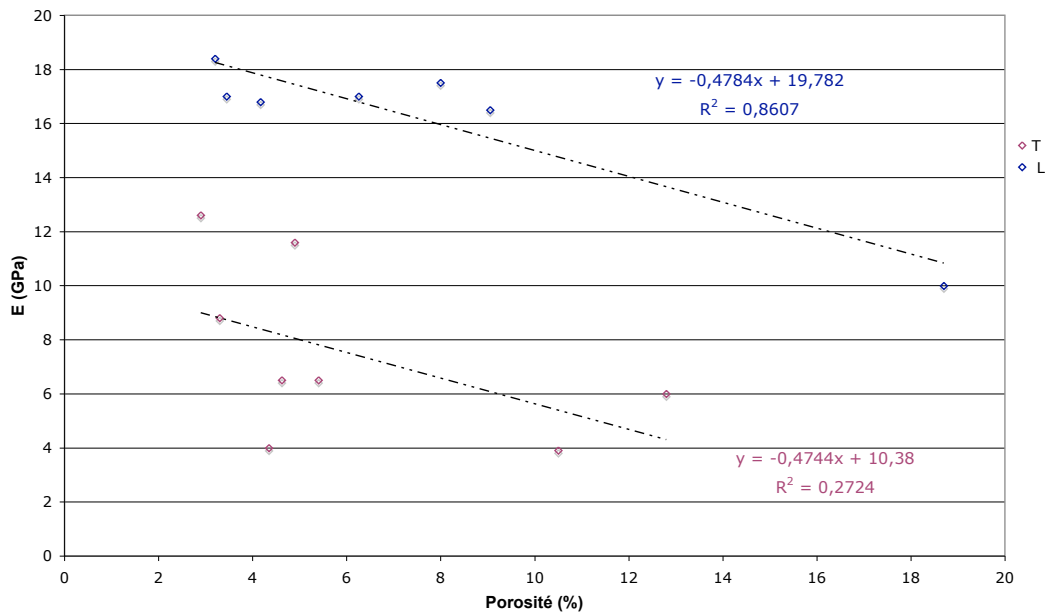
2.3.3.2 Relation avec la porosité

Le tableau ci dessous (2.7) donne les différents coefficients de corrélation entre les paramètres mécaniques et la porosité ainsi que la tendance observée.

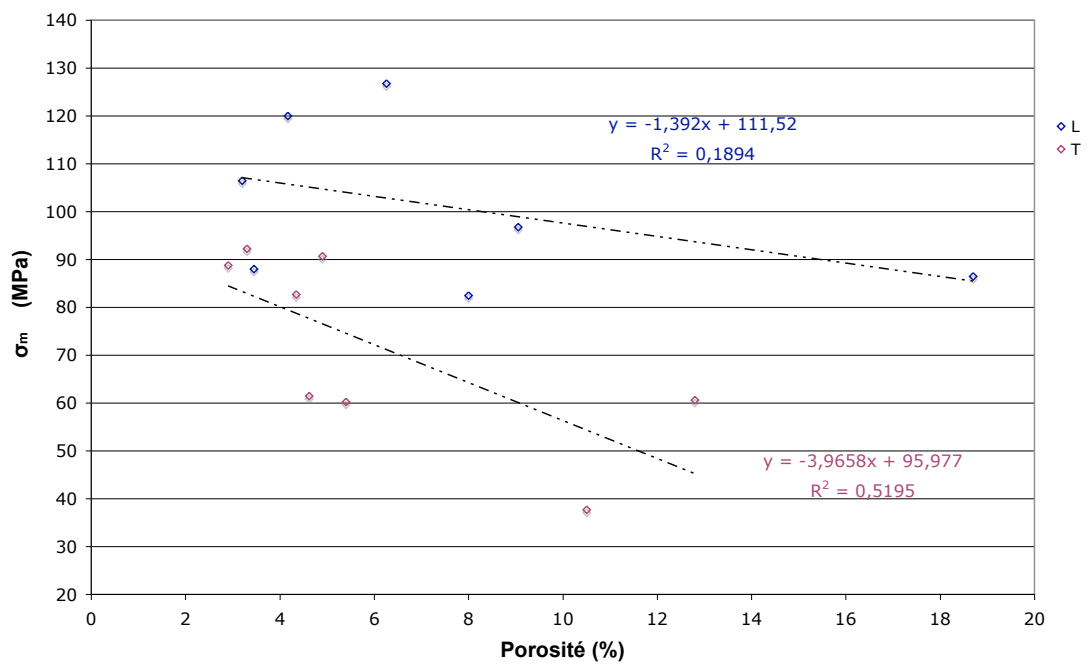
	L : r^2	Tendance	T : r^2	Tendance
E	0.86	-	0.27	-
σ_m	0.19	-	0.52	-
ε_m	0.002		0.01	

Tableau 2.7 – Coefficient de corrélation r^2 et tendance entre les paramètres mécaniques E , σ_m , ε_m et la porosité

La porosité s'élevant, le module de Young diminue, le coefficient de détermination r^2 est notamment de 0.86 pour les échantillons L (Figures 2.7 (a)). Ce résultat est cohérent avec les travaux de Bayraktar et al. [25] ou encore de Schaffler et al. [40].



(a) Module de Young E



(b) Contrainte maximale σ_m

Figure 2.7 – Relation entre les propriétés mécaniques (E , σ_m) macroscopique et la porosité des échantillons dans les directions L et T

La valeur de la contrainte maximale tend, elle, à décroître lorsque le taux de porosité augmente, cette tendance étant plus marquée pour les spécimens T avec un r^2 de 0.52. (Figure 2.7 (b)). Cela est en accord avec la littérature [47] et avec le fait que la contrainte dans la direction transversale est plus sensible à la porosité. Aucune corrélation n'est observée entre la déformation à la rupture et la porosité.

2.3.3.3 Relation avec la densité minérale

Le tableau 2.8 donne les différents coefficients de corrélation entre les paramètres mécaniques et la densité minérale de même que la tendance observée.

	L : r^2	Tendance	T : r^2	Tendance
E	0.006		0.08	
σ_m	0.02		0.32	
ε_m	0.01		0.03	

Tableau 2.8 – Corrélation des paramètres mécaniques E , σ_m , ε_m en fonction de la densité minérale.

Le module de Young ne semble pas influencé par la densité minérale, tout comme la déformation à la rupture. La littérature sur ce sujet reste encore partagée. Alors que Kaneko et al [22] lors d'essais de compression ne trouve également aucune corrélation entre le module de Young et la densité minérale, Schaffler et al. [40], Wachter et al. [21] ou encore Yerramshetty [132] annoncent toutefois une élévation du module de Young avec la densité minérale. On remarque cependant que, dans cette dernière étude [132], les valeurs des coefficients de détermination étaient variables en fonction des quadrants testés (i.e. du lieu de prélèvement).

Aucune tendance n'est notable entre la contrainte maximale et la densité minérale quelle que soit la direction considérée. Wachter et al. [47] avaient toutefois observé une augmentation de cette contrainte lorsque la densité minérale s'accroît ($r^2 = 0.31$).

2.4 Conclusion et discussion

Les données de la littérature relatives aux propriétés mécaniques, morphométriques et aux relations associées de l'os cortical du fémur humain sont peu nombreuses et encore plus rares sont celles qui discutent à la fois des propriétés longitudinales et transversales en compression de la corticale d'un même fémur. Les études précédentes sont par ailleurs difficilement comparables entre elles du fait de la multitude de paramètres considérés comme notamment le lieu de prélèvement, le type d'éprouvette ou encore le type d'essai mécanique réalisé. On note également que peu d'études révèlent à la fois les valeurs de densité minérale par micro-CT avec une telle résolution et la porosité des spécimens étudiés. La comparaison de ces données avec des travaux antérieurs est donc encore une fois assez difficile.

Toutefois, les valeurs obtenues des paramètres mécaniques macroscopiques et morphologiques des huit fémurs humains sont relativement cohérentes avec la littérature.

On remarque également que l'hétérogénéité du module de Young est nettement plus élevée dans la direction transversale que longitudinale, tout comme le sont les écarts types de la contrainte maximale et de la déformation associée.

Bien qu'aucune relation significative n'ait été mise en évidence entre l'âge et ces paramètres mécaniques, son influence semble légèrement plus prépondérante dans la direction transversale, notamment sur le module de Young. De même, le rôle de la porosité est plus notable dans le sens transversal, notamment une corrélation non négligeable ($r^2 = 0.52$) est établie entre la porosité et la contrainte maximale transversale. La densité minérale ne donne aucune corrélation significative.

À cette échelle macroscopique, le paramètre biologique le plus influent semble donc être la porosité, notamment sur le module de Young E et la contrainte maximale σ_m .

Les faibles corrélations trouvées au sein de cette étude à l'échelle macroscopique entre les paramètres biologiques et les propriétés mécaniques macroscopiques amènent à explorer d'autres échelles (microscopique notamment), qui feront l'objet des chapitres suivants.

Les différences de résultats inter-spécimens illustrent bien la diversité humaine et la spécificité de chaque individu. L'intérêt de la caractérisation de chaque fémur et de la mise en place d'un modèle de remodelage osseux propre à chaque microstructure est ainsi justifié.

Chapitre 3

Caractérisation des échantillons à l'échelle de la microstructure

3.1 Introduction

Dans le cadre de notre étude, l'échelle microscopique considérée est celle de l'ostéon. L'objectif de cette partie est de caractériser les échantillons à cette échelle. Pour cela, des observations par microscopie optique et électronique à balayage de la surface des échantillons ont été effectuées. De plus, le module de Young en différents points de ces microstructures a été mesuré par nanoindentation.

Les données recueillies seront notamment utiles dans la partie simulation. Elles permettront de définir les diverses caractéristiques des microstructures implémentées initialement dans le code de remodelage osseux.

3.2 Matériels et méthodes

3.2.1 Microscopie électronique à balayage

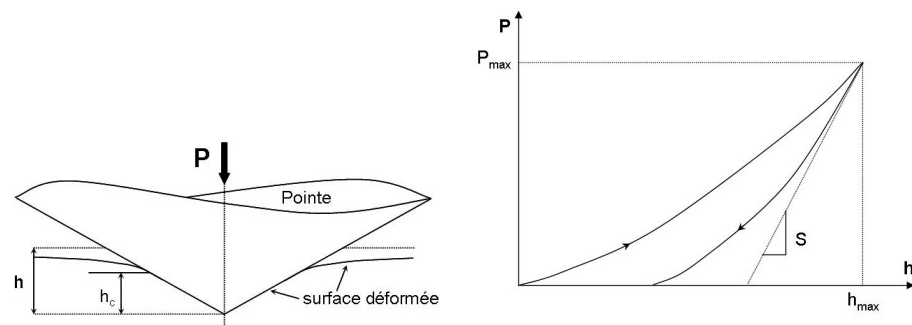
Les images en microscopie électronique à balayage en électrons rétrodiffusés sont obtenues à partir d'un MEB-FEG (LEO) équipé d'un détecteur à électrons rétrodiffusés à quatre cadrans. La tension d'accélération est fixée à 20 kV, et la distance de travail est de 10 mm. Les grossissements utilisés sont faibles (30-70). Après les essais mécaniques (compression, nanoindentation), les échantillons sont placés à l'air

libre à température ambiante pendant trois semaines afin de les laisser sécher. Ils sont ensuite laissés pendant 24 heures sous vide puis métallisés par une fine couche d'or obtenue par évaporation.

Les niveaux de gris relevés sur les images sont reliés au degré de minéralisation local du tissu osseux [35]. Cependant, les distributions de niveaux de gris dépendent de la brillance et du contraste imposés par l'opérateur. Les changements de ces paramètres sont inévitables dans le cas d'échantillons multiples. Les niveaux de gris doivent donc être analysés en relatif au sein d'un même échantillon et non en teneur absolue de degré minéral. Une image haute résolution a été enregistrée pour chaque échantillon (3072×2304 pixels, avec 256 niveaux de gris).

3.2.2 Nanoindentation

La nanoindentation permet d'étudier les propriétés mécaniques d'un matériau à l'échelle du micromètre, au moyen d'une pointe qui vient solliciter la surface à analyser. La force appliquée P est mesurée en fonction de la pénétration de la pointe h , ce qui permet d'obtenir des courbes de charges, dont on peut voir l'allure typique figure 3.1b.



(a) Pointe du nanoindenteur en contact avec la matière (b) Courbe charge-décharge : la pente S est utilisée pour obtenir le module d'élasticité du matériau

Figure 3.1 – Analyse de l'indentation

Une pointe Berkovich (pointe pyramidale à base carrée) en diamant est utilisée. L'analyse de la décharge, permet de remonter au module d'élasticité du matériau analysé. Au moyen d'un modèle analytique décrivant le contact, on obtient une relation entre la pente à la décharge S , le module réduit E_r , et l'aire projetée du

contact A :

$$S = \frac{dP}{dh} = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \sqrt{A(h_c)} E_r \quad (3.1)$$

h_c étant la profondeur de contact entre la pointe et le matériau (figure 3.1a). Le module réduit E_r est défini en fonction des propriétés élastiques de la pointe ($E_i=1141$ GPa, $\nu_i=0.07$) et du milieu analysé (E_m, ν_m) par :

$$\frac{1}{E_r} = \frac{1 - \nu_m^2}{E_m} + \frac{1 - \nu_i^2}{E_i} \quad (3.2)$$

La fonction d'aire $A(h)$ est calibrée en utilisant de la silice fondue comme matériau de référence. On notera que la hauteur effective du contact h_c n'est pas égale à la pénétration totale de la pointe h puisque la surface se déforme comme illustré sur la figure 3.1. Au moyen d'une analyse élastique du contact, on montre que

$$h_c = h_{max} - \epsilon \frac{P_{max}}{S} \quad (3.3)$$

où $\epsilon = 0.75$ pour une pointe Berkovich, P_{max} est la charge maximale et h_{max} , le déplacement maximal associé. On peut donc calculer $A(h_c)$ et obtenir le module élastique du matériau E_m .

Les échantillons ont préalablement subi les essais de compression. Après décongélation, on vérifie la surface d'observation et on fixe la face opposée au moyen de colle loctite sur le porte échantillon. On effectue 100 points de mesure, distribués selon une grille de 10×10 points, espacés de $300 \mu\text{m}$ dans la direction de la longueur et de $220 \mu\text{m}$ dans celle de la largeur de l'échantillon. La vitesse de déformation est imposée à 10^{-2} s^{-1} et la profondeur de pénétration à $2 \mu\text{m}$. On considérera le matériau isotrope pour le dépouillement qui s'effectue via la méthode d'Oliver et Pharr [61]. Un exemple de grille de points est donné sur la figure 3.2.

Chaque triangle représente l'empreinte de la pointe Berkovich soit un point de nanoindentation. L'examen des courbes donnant le module en fonction de la profondeur, montre qu'un plateau est atteint à partir de 500 nm . La mesure est perturbée par la rugosité de la surface jusqu'à 400 nm de profondeur. Le module mesuré correspond à la moyenne des mesures effectuées entre 800 nm et 1500 nm de profondeur, l'erreur de mesure étant de 1 GPa . Un certain nombre de points de mesure ne sont

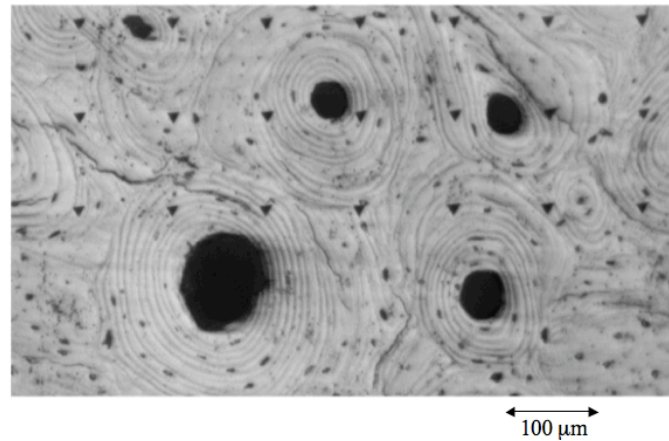


Figure 3.2 – Exemple de grille de nanoindentation sur l'échantillon 4T

pas pris en compte : points où le nanoindenteur n'a pas détecté la surface sous la pointe ; points localisés à proximité de trous (canaux de Havers, fissures ou lacunes ostéocytaires). Après élimination de ces points, on obtient finalement au moins une cinquantaine de points. Les essais ont été réalisés sur les sections longitudinales et transversales des huit échantillons. Rappelons que l'indentation des sections longitudinales donne le module de Young et la dureté dans la direction transversale et inversement.

3.3 Résultats

3.3.1 Observation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Les différents échantillons de section longitudinale et transversale ont été observés au microscope électronique à balayage en électrons rétrodiffusés (Cf. annexe A). Les images de chaque microstructure obtenues par cette technique, suite aux essais mécaniques, sont données sur les figures 3.3, 3.4, 3.5, 3.6.

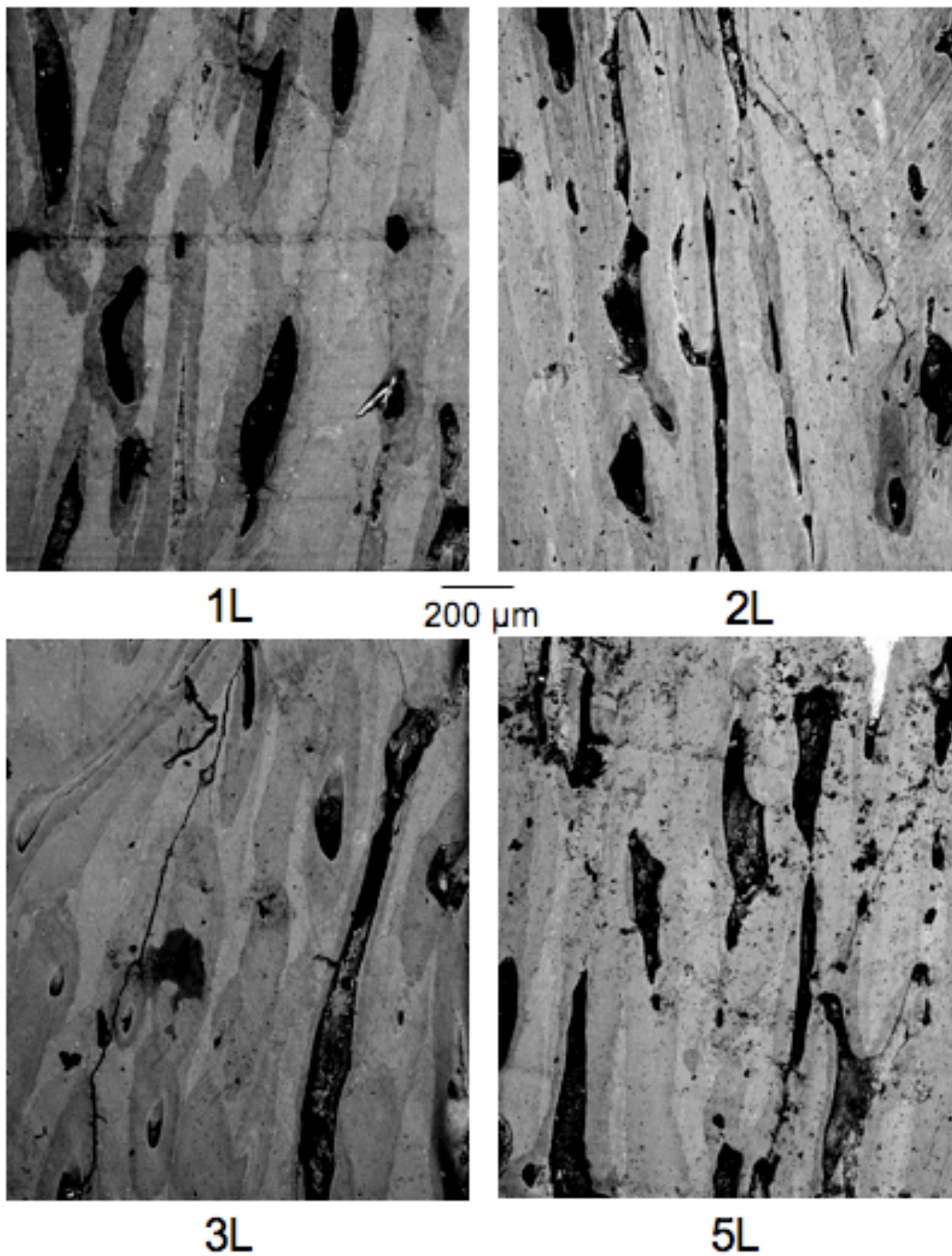


Figure 3.3 – Photographies des microstructures 1, 2, 3 et 5 L d’os cortical humain étudiées. (L : section d’observation longitudinale)

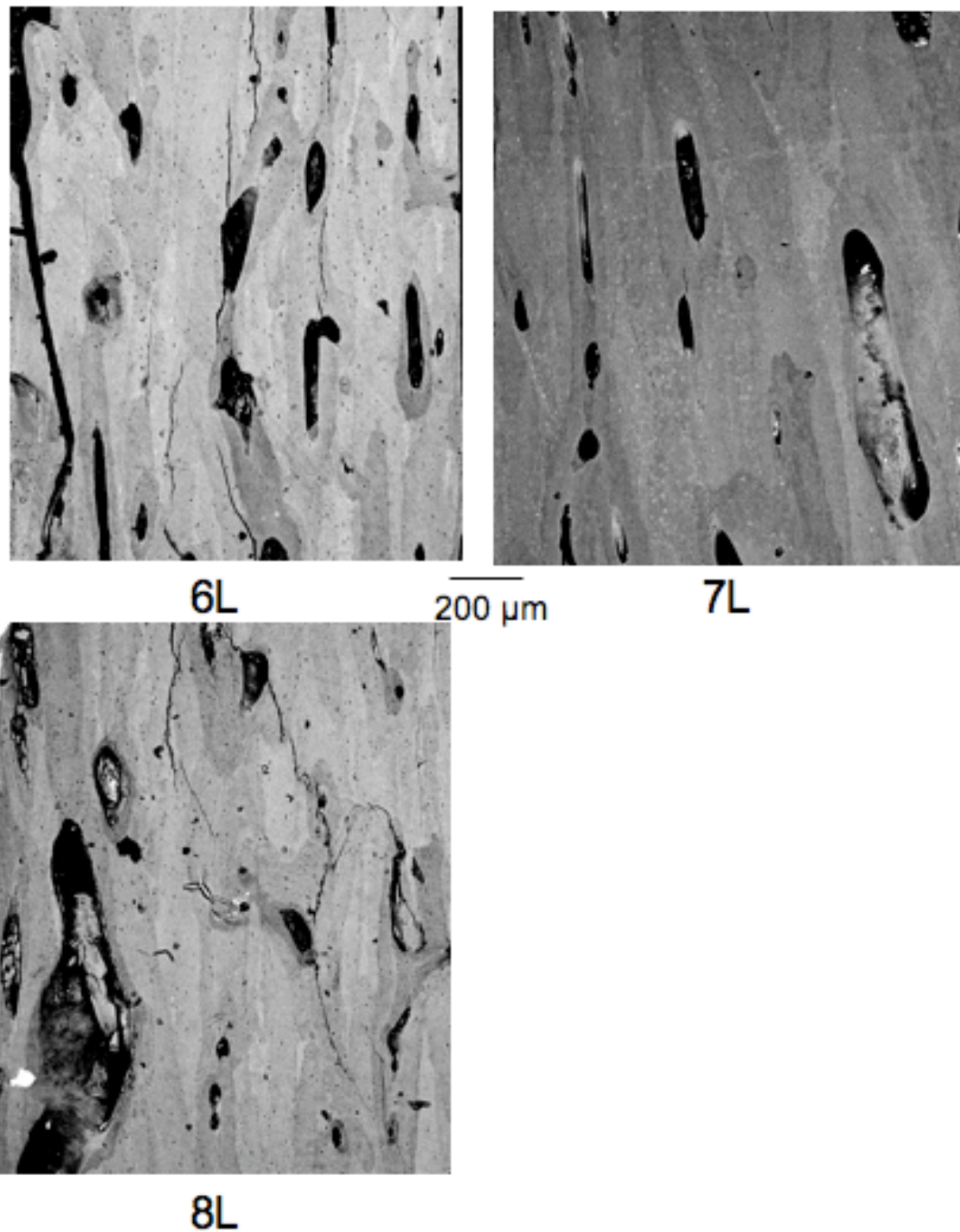


Figure 3.4 – Photographies des microstructures 6, 7 et 8 L d'os cortical humain étudiées. (L : section d'observation longitudinale)

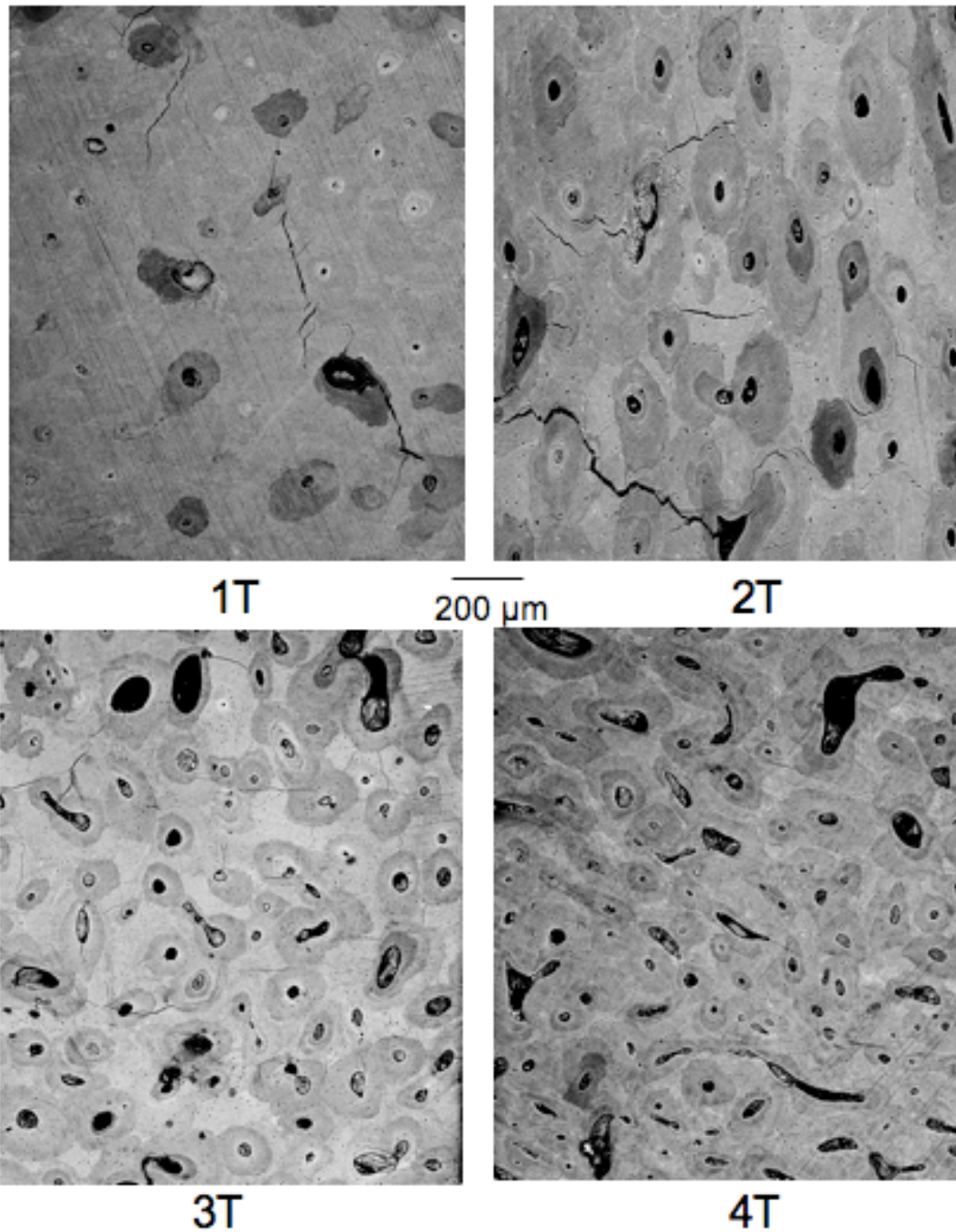


Figure 3.5 – Photographies des microstructures 1, 2, 3 et 4 T d’os cortical humain étudiées. (T : section d’observation transversale)

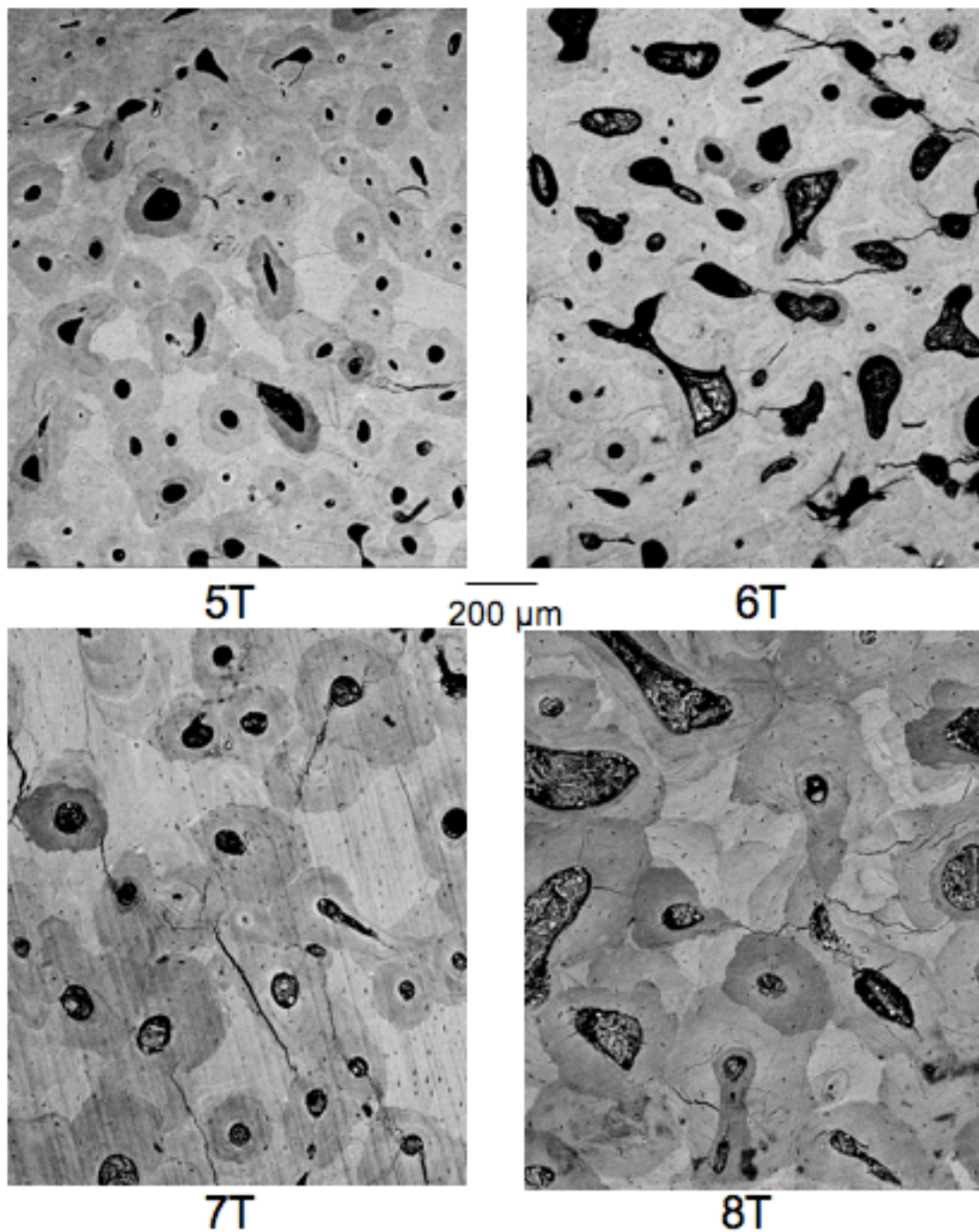


Figure 3.6 – Photographies des microstructures 5, 6, 7 et 8 T d'os cortical humain étudiées. (T : section d'observation transversale)

Les microstructures d'os cortical humain présentent une forte proportion de systèmes haversiens indiquant la prépondérance du remodelage osseux au sein de ce tissu. Les diamètres des canaux de Havers et des ostéons sont assez variables entre 50 et 150 μm et entre 130 et 350 μm respectivement. Une étude précédente [99] montre que le type de chargement mécanique subi au niveau du tissu influence notamment la taille des ostéons. On constate sur ces images que la porosité est principalement due aux canaux de Havers et de Volkmann mais provient aussi de l'échelle inférieure avec les lacunes ostéocytaires.

En terme de niveaux de gris, on observe une forte hétérogénéité pour chaque microstructure. De manière générale, les zones de matrice interstitielle apparaissent dans des niveaux de gris plus clairs que les ostéons, ce qui suggère un degré de minéralisation de cette matrice plus important. Au sein d'un même ostéon, le niveau de gris peut être considéré comme homogène.

3.3.2 Résultats de nanoindentation

La quantification de l'hétérogénéité mécanique locale (module d'élasticité et dureté) du tissu cortical, est importante pour caractériser mécaniquement nos spécimens mais aussi pour la génération des microstructures étudiées dans le code éléments finis de remodelage osseux. La technique de nanoindentation permet d'accéder à ces deux grandeurs. Ces mesures permettent également d'associer une rigidité moyenne à un type de microstructure et à certains paramètres tels que l'âge, ou la densité minérale.

Le module de Young moyen de chaque échantillon est donné dans le tableau 3.1.

	1	2	3	4
L : E_n^T (GPa)	15.2 ± 1.6	15.9 ± 1.8	16.5 ± 1.6	/
T : E_n^L (GPa)	20.3 ± 2.1	19.8 ± 2.8	20.9 ± 3.3	18.8 ± 2.4
	5	6	7	8
L : E_n^T (GPa)	16.2 ± 2	16.2 ± 1.3	15.1 ± 2.2	16.8 ± 1.2
T : E_n^L (GPa)	21.5 ± 2.3	19.7 ± 2.5	19 ± 2.4	21.6 ± 3

Tableau 3.1 – Module de Young moyen E_n et écart type mesurés par nanoindentation pour les différents échantillons étudiés (L et T)

Ce module moyen est obtenu pour chaque échantillon en effectuant la moyenne des différents modules de Young locaux correspondant à un point de mesure sur l'échantillon. Les écarts types donnés dans le tableau sont associés à la variation de propriétés mécaniques intra-échantillons ainsi qu'à la variation de contenu minéral.

On notera que, dans ce tableau, les mesures effectuées sur les échantillons L (respectivement T) donnent les valeurs de modules de Young locaux dans la direction T (respectivement L). La figure 3.7 donne le rapport du module moyen dans la direction longitudinale sur le module moyen dans la direction transversale obtenu par nanoindentation pour les différents échantillons.

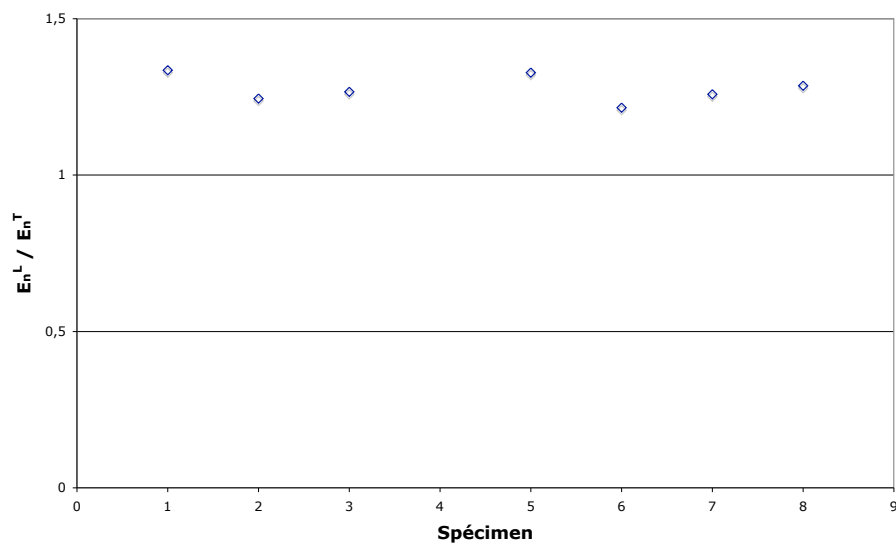


Figure 3.7 – Rapport du module moyen dans la direction longitudinale sur le module moyen dans la direction transversale obtenu par nanoindentation pour les différents échantillons.

On constate sur cette figure que le module longitudinal est supérieur en moyenne de 28% à celui du module transversal et que la variation entre échantillons autour de cette valeur est de 5%. On a donc une anisotropie moyenne du tissu qui est indépendante de l'échantillon et donc des paramètres biologiques.

De plus, le rapport d'anisotropie moyen obtenu par nanoindentation est plus faible que celui relevé macroscopiquement qui est proche de 50%. Le tableau 3.2 donne les valeurs moyennes microscopiques (nanoindentation) et macroscopiques (essais mécaniques) obtenues sur l'ensemble des échantillons.

On constate que la différence de modules micro- et macroscopiques est nettement plus marquée dans la direction transversale que longitudinale.

	Micro	Macro	Rapport
Module de Young direction L (GPa)	20.2	16.2	1.25
Module de Young direction T (GPa)	16	7.5	2.1

Tableau 3.2 – Valeurs moyennes microscopiques (nanoindentation) et macroscopiques (essais mécaniques) obtenues sur l'ensemble des échantillons.

Les résultats de dureté sont relevés dans le tableau 3.3. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus pour le module de Young.

	1	2	3	4
L : H_n^T (GPa)	0.52 ± 0.08	0.56 ± 0.1	0.6 ± 0.09	/
T : H_n^L (GPa)	0.68 ± 0.106	0.65 ± 0.13	0.67 ± 0.125	0.69 ± 0.106
	5	6	7	8
L : H_n^T (GPa)	0.59 ± 0.12	0.61 ± 0.07	0.52 ± 0.1	0.61 ± 0.07
T : H_n^L (GPa)	0.795 ± 0.1	0.63 ± 0.12	0.73 ± 0.096	0.72 ± 0.15

Tableau 3.3 – Dureté moyenne H_n et écart type mesurés par nanoindentation pour les différents échantillons étudiés (L et T)

3.3.3 Relation entre le module de Young local et l'âge

La figure 3.8 illustre la relation entre le module de Young local obtenu par nanoindentation et l'âge des spécimens.

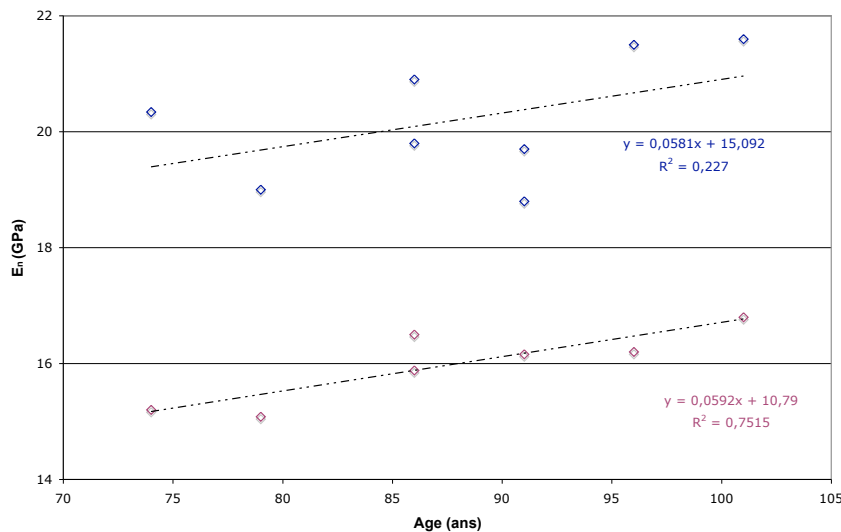


Figure 3.8 – Module de Young moyen obtenu par nanoindentation en fonction de l'âge des patients pour les différents échantillons.

On obtient un coefficient de détermination significatif entre le module de Young local dans la direction L et l'âge des spécimens ($r^2 = 0.75$), la tendance étant positive dans les deux directions. En effet, les tissus corticaux se minéralisent au cours du temps ce qui induit une augmentation du module de Young local avec l'âge [56].

3.3.4 Relation entre l'écart type du module de Young local et l'écart type de la densité minérale

La figure 3.9 donne l'écart type du module de Young local en fonction de l'écart type de la densité minérale. Dans cette figure, le spécimen 8 n'a pas été considéré. En effet, son histogramme de niveaux de gris (correspondant au degré de minéralisation) n'est pas gaussien.

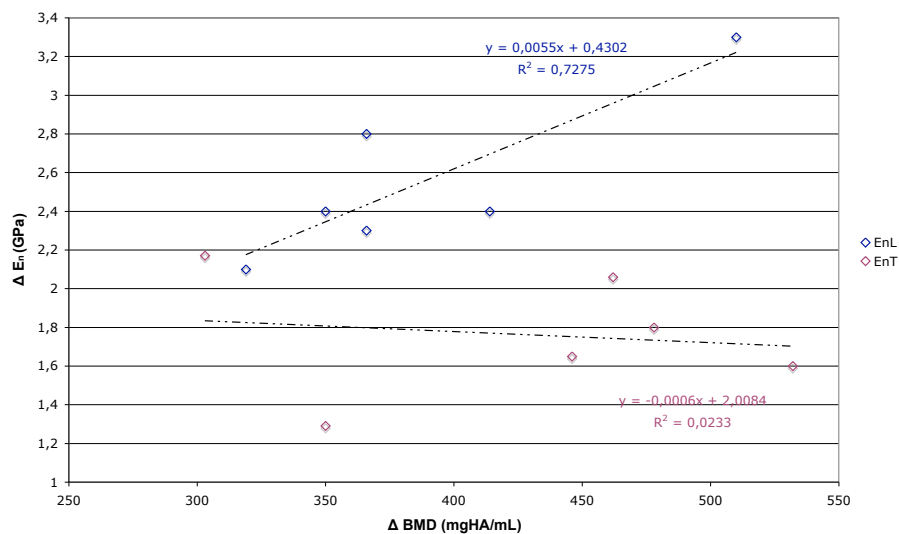


Figure 3.9 – Ecart type du module de Young local obtenu par nanoindentation en fonction de l'écart type de la densité minérale pour les différents échantillons

Une relation entre l'hétérogénéité de densité minérale et l'hétérogénéité du module de Young local dans la direction L est ainsi obtenue avec un coefficient de détermination significatif de r^2 de 0.73.

3.4 Conclusions

A l'échelle de la microstructure, on constate que le milieu est particulièrement hétérogène. Cette hétérogénéité est reliée à la présence de matrice interstitielle, d'ostéons élastiquement hétérogènes et de porosité (Canaux de Havers, de Volkmann, lacunes ostéocytaires). Ces éléments ont fait l'objet d'une analyse par microscopie électronique à balayage et par nanoindentation qui révèle une matrice interstitielle plus minéralisée (minéralisation donnée par le niveau de gris des images MEB) et plus rigide que les ostéons.

De manière plus générale, le module de Young moyen du tissu sur l'ensemble des échantillons est plus élevé dans la direction longitudinale que transversale, ce qui est également le cas lorsque l'on considère le module de Young macroscopique. Toutefois, on constate que le rapport du module microscopique sur le module macroscopique est supérieur dans le sens transversal ce qui révèle un effet de microstructure beaucoup plus important dans cette direction. Cet effet est similaire à celui observé dans un composite à fibre longue, où le module de Young longitudinal est la moyenne des modules de Young locaux. Cette propriété n'est, bien sûr, pas vérifiée dans le sens transversal où le comportement global est plutôt assimilable à celui de ressorts en série dont on ajoute l'inverse des raideurs.

Concernant les relations entre paramètres mécaniques et morphométriques, une corrélation significative est obtenue entre le module de Young local transversal (nanoindentation) et l'âge des spécimens ($r^2 = 0.75$) : plus le spécimen vieillit, plus la rigidité locale moyenne est élevée. De même, une corrélation significative est obtenue entre l'hétérogénéité du module local longitudinal avec l'hétérogénéité de densité minérale ($r^2 = 0.73$). On rappelle que Hoc et al. [46] obtiennent une relation linéaire significative ($r^2 = 0.75$, $p < 0.0001$) entre la densité minérale issue de l'analyse des niveaux de gris des images MEB en rétrodiffusés des microstructures avec le module de Young local obtenu par nanoindentation. Par ailleurs, la différence de module de Young du tissu selon la direction peut s'expliquer par l'anisotropie de l'os cortical mise en évidence par de nombreux auteurs [62] [41] [63]. On note toutefois que le rapport d'anisotropie obtenu ici est constant quel que soit l'échantillon.

La méthode d'Oliver and Pharr [61], utilisée pour le dépouillement des essais de nanoindentation dans cette étude, se base sur l'hypothèse forte d'un matériau élas-

tique isotrope. L'influence de l'anisotropie de l'os sur la technique de nanoindentation a été examinée par plusieurs auteurs tels que Fan et al. [133] Swadener et al. [59] ou Franzoso et al. [66] (Cf. chapitre bibliographique 1.2.3.3). Des études éléments finis montrent une surévaluation du module de Young obtenu expérimentalement par nanoindentation, de l'ordre de 15 à 20 % .

D'un point de vue biologique, on peut remarquer que l'âge induit à la fois une élévation de la porosité (macroscopique) (Cf. chapitre 2) mais aussi une augmentation du module de Young des tissus (nanoindentation). Le processus de remodelage osseux s'effectue de moins en moins avec le vieillissement. On peut également avoir, dans certains cas ou pathologies, un taux de résorption plus important que le taux de formation lors du processus. Dans tous les cas, on aboutit à la formation de moins d'ostéons. A l'inverse, une apposition croissante de matière minérale dans la matrice interstitielle est observée. Cette matrice plus minéralisée est alors le lieu privilégié de l'amorçage et de la propagation des microfissures [88] [85] [86].

L'analyse des propriétés à l'échelle micro- et nanoscopique du tissu osseux (notamment des ostéons) permet une meilleure compréhension de l'influence du remodelage osseux sur l'ensemble des propriétés de l'os cortical. L'activation de ce processus a, par ailleurs, été relié à des niveaux de déformations locales et surtout au phénomène d'endommagement par microfissuration [3] [4] . Ainsi, le chapitre suivant s'intéressera tout particulièrement à l'endommagement de l'os cortical, à l'amorçage de microfissures et aux niveaux de déformations locales associés.

Chapitre 4

Comportement mécanique microscopique du tissu cortical

4.1 Introduction

Cette dernière partie expérimentale se focalise sur l'étude du comportement mécanique de l'os cortical à l'échelle microscopique. Elle se base sur l'analyse des essais de compression via la méthode de corrélation d'images (Digital Imaging Correlation). Le suivi de l'évolution des champs de déformation pour chaque microstructure est effectué et une attention particulière est portée sur l'endommagement de l'échantillon. En effet, dans la partie numérique, cet endommagement sera considéré comme un facteur d'activation du processus de remodelage osseux.

4.2 Définitions des grandeurs analysées

On rappelle que, dans cette partie, toutes les valeurs de déformations données sont issues de l'analyse par corrélation d'images (DIC).

4.2.1 Déformation macroscopique ε_{11}

Pour chaque microstructure et pour chaque étape de chargement, le champ de déformation associé a été mesuré par microextensométrie. La déformation moyenne dite macroscopique ε_{11} est obtenue en calculant la moyenne des déformations de

quatre points placés aux extrémités de l'image analysée. Cette valeur est identique à celle utilisée dans le chapitre 2 pour la détermination du module de Young notamment. Elle comprend à la fois la déformation des tissus et des canaux.

4.2.2 Déformation moyenne locale $\varepsilon_l \pm \Delta\varepsilon_l$ (déformation du tissu)

Afin de différencier la déformation provenant des canaux de celle provenant du tissu lui-même, on introduit la déformation ε_l . Cette déformation correspond à la moyenne des déformations dans la direction de compression ε_l^i d'une cinquantaine de zones (N) réparties sur la surface d'observation des échantillons.

$$\varepsilon_l = \frac{1}{N} \sum_{i=1,N} \varepsilon_l^i \quad (4.1)$$

Chaque zone est délimitée par quatre points et ne contient pas de canaux. Ces quatre points sont placés de manière à obtenir, une base de mesure moyenne de 100 à 200 pixels, soit une précision de l'ordre de $2.2 \cdot 10^{-4}$ à $4.4 \cdot 10^{-4}$. La figure 4.1 montre l'emplacement des différentes zones dans la microstructure pour l'échantillon 3T.

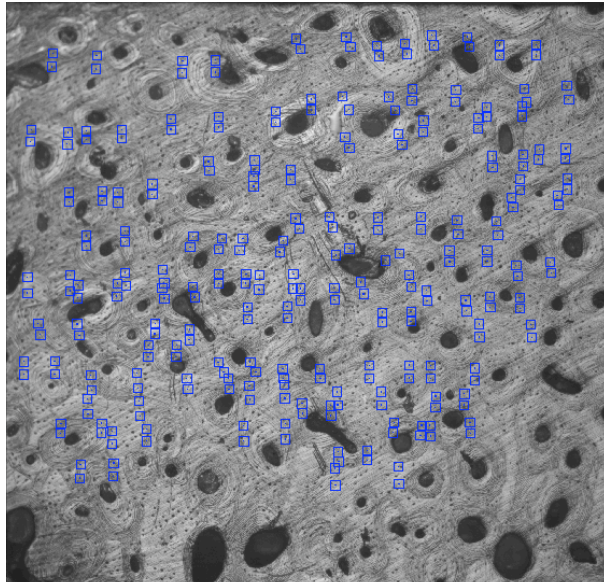


Figure 4.1 – Emplacement des zones de mesures de la déformation locale utilisées en microextensométrie pour l'échantillon 3T. Les points bleus au centre des carrés correspondent aux sommets des zones à analyser

4.2.3 Déformation seuil ε_s

La déformation seuil est donnée par :

$$\varepsilon_s = \varepsilon_l + 2 \Delta\varepsilon_l \quad (4.2)$$

En considérant que les valeurs se répartissent selon une courbe de Gauss, on trouve dans l'intervalle $[\varepsilon_l - 2 \Delta\varepsilon_l; \varepsilon_s]$ 95% de la population. Cette déformation seuil correspond donc à la valeur "maximale" atteinte dans une des zones de la microstructure en ne considérant que 95% de la population.

4.2.4 Etape de fissuration

Afin de déterminer l'étape de fissuration, nous avons analysé l'évolution de l'écart type de la déformation locale $\Delta\varepsilon_l$ au cours de l'essai de compression. Dans la partie linéaire de l'essai (élasticité), l'écart type évolue de manière croissante avec la déformation. L'apparition de fissures se traduit par une augmentation plus forte de l'écart type défini comme un "saut de l'écart type". On peut alors tirer parti de ce saut pour définir une valeur de déformation et de contrainte de fissuration qui correspondent aux valeurs relevées sur la courbe de compression pour la première étape de chargement après le saut. On note ainsi ε_{11_f} et σ_{11_f} , la déformation et la contrainte enregistrées sur la courbe de compression à l'étape de fissuration.

On peut également définir à cette étape de fissuration :

- La déformation moyenne locale qui correspond à ε_l à cette étape et qui sera notée ε_f
- La valeur seuil telle que définie dans le paragraphe précédent qui sera notée, par la suite, ε_{sf} .

4.3 Analyse macroscopique

4.3.1 Détermination de l'étape de fissuration

Les figures 4.2 (a) et (b) représentent l'évolution des écarts types $\Delta\varepsilon_l$ des déformations moyennes locales en fonction des déformations moyennes macroscopiques ε_{11} des échantillons de section longitudinale L et transversale T.

L'écart type de la déformation locale $\Delta\varepsilon_l$ dans la direction T est évidemment bien plus important que dans la direction L. De la même manière, le saut de l'écart type apparaît bien avant la rupture dans la direction transversale contrairement à la direction L. On retrouve ainsi que les échantillons dans la direction L sont plus fragiles que dans la direction T.

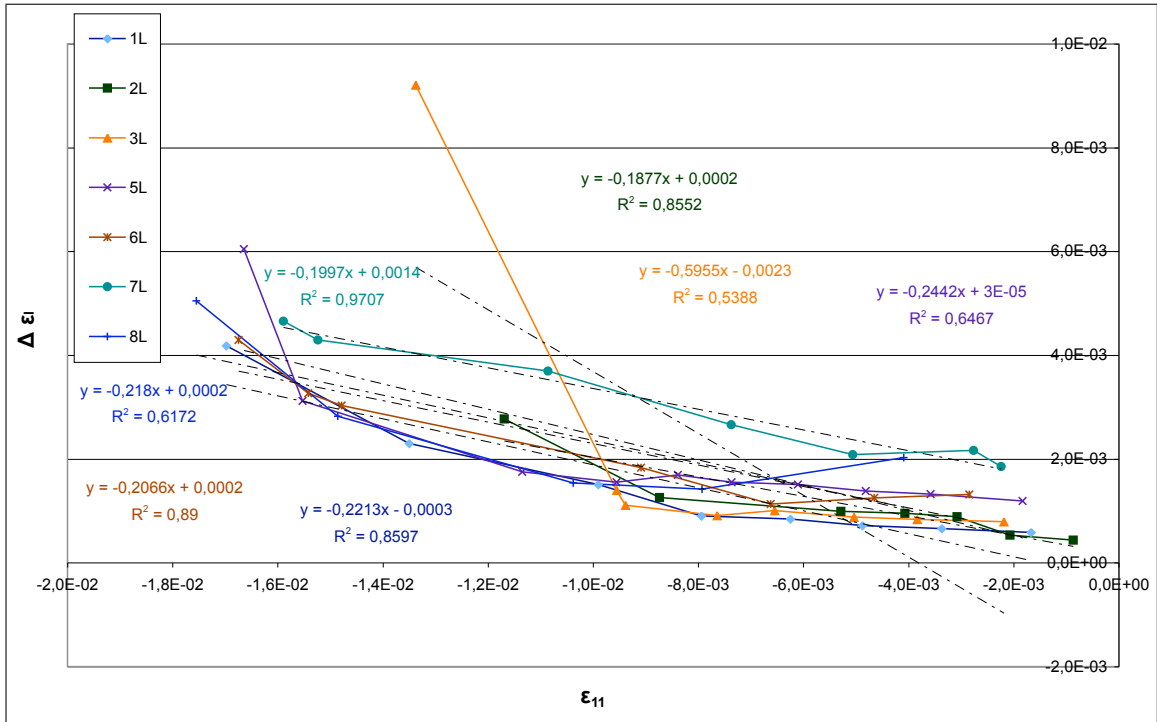
4.3.2 Etat mécanique à l'étape de fissuration

Pour chaque microstructure, les valeurs de la déformation moyenne macroscopique à la fissuration ε_{11_f} et la contrainte correspondante σ_{11_f} sont données dans le tableau 4.1.

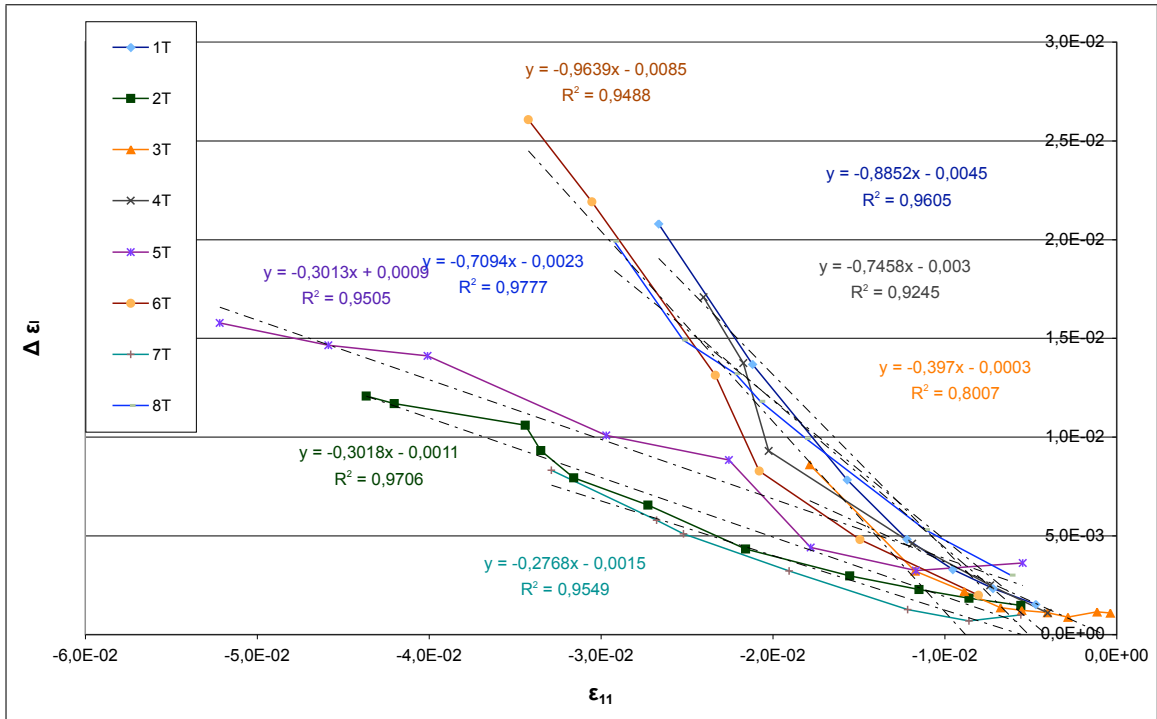
Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8
L : ε_{11_f} (%)	0.99	0.87	0.94	/	1.14	1.48	1.09	1.49
L : σ_{11_f} (MPa)	102	82.5	98.3	/	119.2	88	88.9	86.5
T : ε_{11_f} (%)	1.22	1.55	0.89	2.03	2.26	2.08	1.22	1.81
T : σ_{11_f} (MPa)	66.9	68	77.8	55.7	59.2	35.7	44.4	52.1

Tableau 4.1 – Valeur de la déformation macroscopique à l'étape de fissuration ε_{11_f} et de la contrainte correspondante σ_{11_f} pour les huit échantillons dans les directions L et T.

A l'étape de fissuration, la valeur moyenne macroscopique de la déformation ε_{11_f} est de 1.14% ($\pm 0.25\%$) dans la direction longitudinale, de 1.63% ($\pm 0.49\%$) dans la direction transversale et de 1.58% ($\pm 0.5\%$) si l'on ne considère pas l'échantillon 4T. La déformation à la fissuration dans la direction transversale est donc, en moyenne, plus élevée de 42.8 % que dans la direction longitudinale (37.9% si l'on ne considère pas le spécimen 4T).



(a) Echantillons L



(b) Echantillons T

Figure 4.2 – Evolution des écarts types $\Delta \epsilon_l$ des déformations moyennes locales en fonction des déformations moyennes macroscopiques ϵ_{11} des échantillons respectivement de section (a) : longitudinale L, (b) : transversale T

L'analyse de la contrainte σ_{11_f} correspondante donne une valeur moyenne de 95.06 MPa (± 12.65 MPa) dans la direction longitudinale et de 57.48 MPa (± 13.59 MPa) dans la direction transversale et de 57.73 MPa (± 14.66 MPa) si l'on ne considère pas l'échantillon 4T. La contrainte σ_{11_f} longitudinale est de 65.4% plus élevée que celle transversale (64.7% sans tenir compte de l'échantillon 4T).

4.3.3 Corrélation entre les paramètres mécaniques macroscopiques et biologiques à l'étape de fissuration

Comme effectué à l'échelle macroscopique, les relations entre les paramètres mécaniques à cette étape de fissuration (déformation ε_{11_f} et contrainte σ_{11_f}) et les paramètres morphométriques (âge, porosité p et densité minérale BMD), spécifiés au sein du chapitre 2, sont illustrées dans ce qui suit.

4.3.3.1 Relation avec l'âge

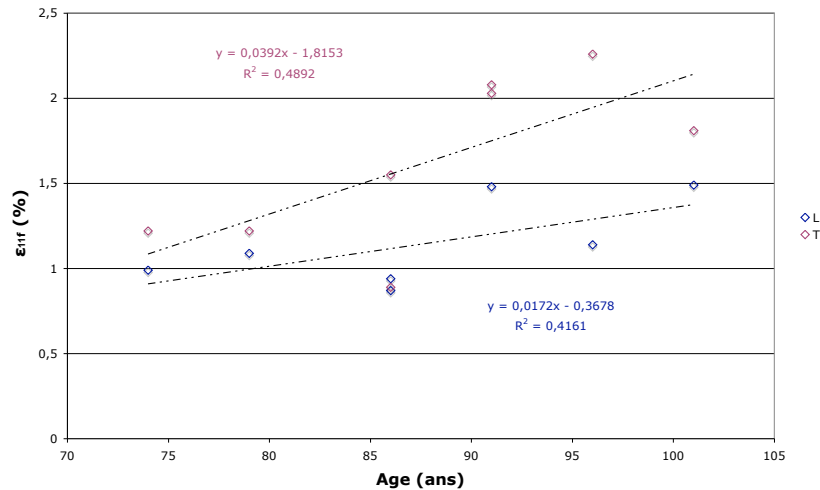


Figure 4.3 – Relation entre la déformation macroscopique à l'étape de fissuration (ε_{11_f}) et l'âge des patients dans les directions L et T

Alors qu'aucune relation n'est constatée entre la contrainte à la fissuration σ_{11_f} et l'âge, on observe une augmentation de la valeur de la déformation à la fissuration ε_{11_f} lorsque l'âge croît (4.3), notamment dans la direction transversale ($r^2 = 0.49$).

4.3.3.2 Relation avec la porosité

Comme pour la contrainte maximale analysée à l'échelle macroscopique, la contrainte à la fissuration σ_{11_f} décroît lorsque la porosité s'élève, la corrélation entre ces deux paramètres est faible mais non négligeable, notamment si l'on ne tient pas compte de l'échantillon 8T, très poreux ($r^2=0.51$) (4.4).

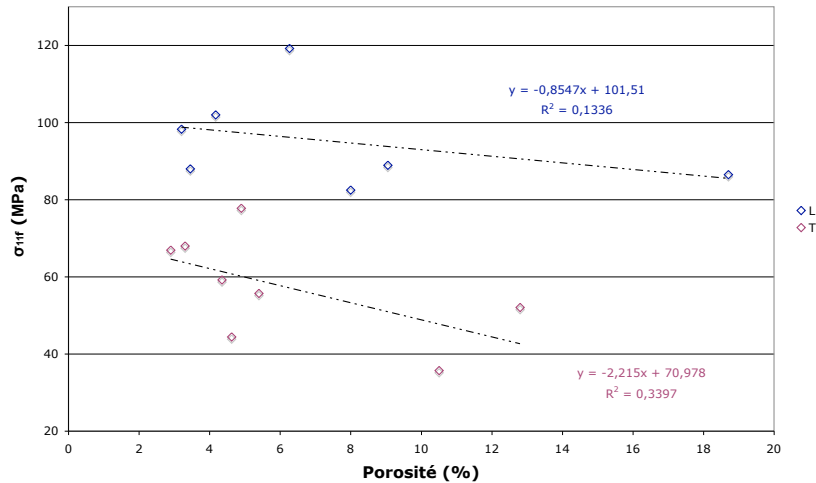


Figure 4.4 – Relation entre la contrainte macroscopique à l'étape de fissuration (σ_{11_f}) et la porosité des échantillons dans les directions L et T

Aucune relation significative n'est obtenue entre la déformation ε_{11_f} et la porosité même si la tendance, légèrement plus prononcée dans le sens longitudinal, est à l'augmentation de la déformation avec la porosité.

4.3.3.3 Relation avec la densité minérale

Aucune tendance n'est décelée entre la densité minérale et la contrainte et la déformation à la fissuration.

4.4 Analyse de la déformation du tissu

4.4.1 Comparaison entre la déformation du tissu et la déformation macroscopique

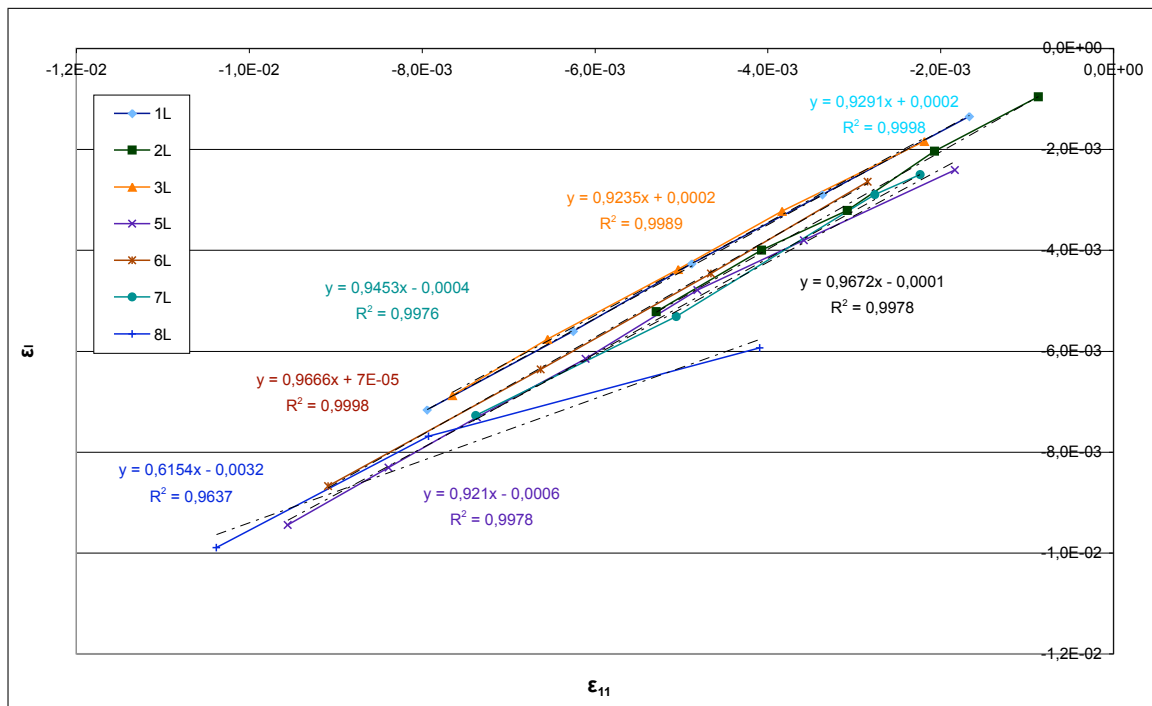
Les figures 4.5 (a) et (b) représentent l'évolution des déformations moyennes locales ε_l en fonction des déformations moyennes macroscopiques ε_{11} des échantillons de section longitudinale L et transversale T avant l'étape de fissuration.

Ces deux figures montrent que pour tous les échantillons (sauf 8L) l'augmentation de la déformation macroscopique se traduit par une augmentation proportionnelle de la déformation du tissu. Afin de quantifier ce phénomène, une régression linéaire de l'ensemble des courbes a été effectuée. Le tableau 4.2 donne les différentes pentes enregistrées.

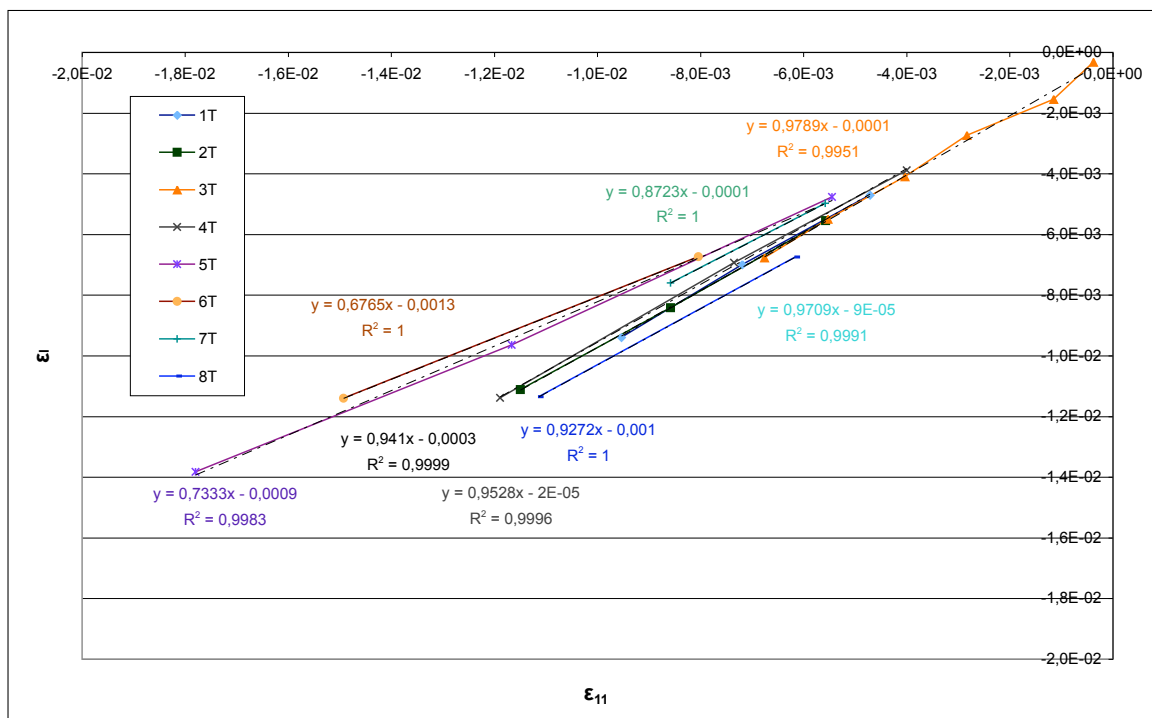
Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8
L : $\frac{d\varepsilon_l}{\varepsilon_{11}}$	0.93	0.97	0.92	/	0.92	0.97	0.95	0.62
T : $\frac{d\varepsilon_l}{\varepsilon_{11}}$	0.97	0.87	0.98	0.94	0.73	0.68	0.97	0.93

Tableau 4.2 – Valeur de la pente obtenue par regression linéaire reliant la déformation du tissu ε_l à la déformation macroscopique ε_{11} pour les huit échantillons dans les directions L et T.

On constate que toutes les pentes sont inférieures à 1, ce qui montre que le tissu se déforme moins que l'échantillon entier. Si on ne considère pas l'échantillon 8, la pente moyenne dans la direction L est de 0.94 avec un écart type de 0.02 et de 0.87 avec un écart type de 0.12 dans la direction transversale. On rappelle que la porosité moyenne des échantillons est de $5.6 \pm 2.5\%$ dans la direction longitudinale et de $5.2 \pm 2.5\%$ dans la direction transversale, si l'on ne considère pas l'échantillon 8. L'écart type de la pente, pour un écart type de la porosité comparable dans les deux directions, est beaucoup plus grand dans la direction T que L. Ceci montre clairement que l'effet de la microstructure sur la réponse mécanique est beaucoup plus important dans la direction transversale.



(a) Echantillons L



(b) Echantillons T

Figure 4.5 – Evolution des déformations moyennes locales ε_l en fonction des déformations moyennes macroscopiques ε_{11} avant fissuration des échantillons de section respectivement (a) : longitudinale L, (b) : transversale T

4.4.2 Déformation à l'étape de fissuration

Afin de quantifier la déformation du tissu à l'étape de fissuration, nous avons analysé la valeur moyenne de la déformation locale ε_f de l'échantillon et la valeur seuil à la fissuration ε_{sf} . Il est à noter que l'ensemble des valeurs de déformations locales qui sont relevées sont calculées avec une base de mesure proche de 100 pixels soit 140 micromètres. Ces informations sont des données importantes dans la modélisation du processus de remodelage osseux. Ces valeurs sont reportées pour chaque microstructure dans le tableau 4.3.

Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8
L : ε_f (%)	0.9	0.86	0.79	/	1.13	1.42	1.05	1.41
L : ε_{sf} (%)	1.44	1.34	1.17	/	1.77	2.22	1.79	2.33
T : ε_f (%)	1.2	1.5	0.9	1.92	1.67	1.61	1.05	1.78
T : ε_{sf} (%)	1.88	2.34	1.42	4.02	3.85	3.43	1.61	3.9

Tableau 4.3 – Valeur de la déformation moyenne locale et de la valeur seuil à l'étape de fissuration ε_f pour les huit échantillons dans les directions L et T.

A l'étape de fissuration, la valeur moyenne de la déformation locale ε_f est de 1.08% ($\pm 0.26\%$) dans la direction longitudinale, de 1.45% ($\pm 0.36\%$) dans la direction transversale et de 1.39% ($\pm 0.34\%$) si l'on ne considère pas l'échantillon 4T. La déformation moyenne à la fissuration dans la direction transversale est donc, en moyenne, plus élevée de 34.6% que dans la direction longitudinale (28.4% si l'on ne considère pas le spécimen 4T). L'écart type de déformation à la fissuration des échantillons de direction transversale est également plus important que celui mesuré dans la direction longitudinale.

La valeur moyenne de la déformation seuil à la fissuration ε_{sf} est de 1.72% ($\pm 0.44\%$) dans la direction longitudinale et de 2.81% ($\pm 1.11\%$) dans la direction transversale (si l'on ne considère pas l'échantillon 4T, on obtient une valeur de 2.63% ($\pm 1.07\%$)). La valeur de déformation seuil ε_{sf} pour amorcer une fissure est, en moyenne, plus élevée de 63% dans la direction transversale par rapport à la direction longitudinale (53% si l'on ne considère pas le spécimen 4T).

4.4.3 Corrélation entre les déformations du tissu à l'étape de fissuration et les paramètres biologiques

Les relations entre les paramètres mécaniques microscopiques à cette étape de fissuration (déformation moyenne du tissu ε_f et déformation seuil ε_{sf}) et les paramètres morphométriques (âge, porosité p et densité minérale BMD), spécifiés au sein du chapitre 2, sont illustrées dans ce qui suit.

4.4.3.1 Relation avec l'âge

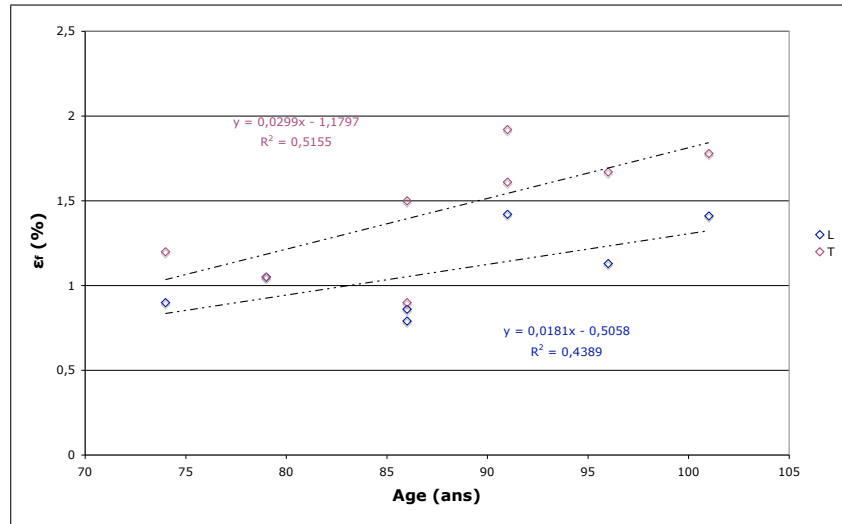
Les valeurs des déformations locales moyenne ε_f et seuil ε_{sf} à la fissuration augmentent avec l'âge, notamment dans la direction transversale avec un coefficient de détermination r^2 de 0.52 et 0.67 respectivement (Figure 4.6).

4.4.3.2 Relation avec la porosité

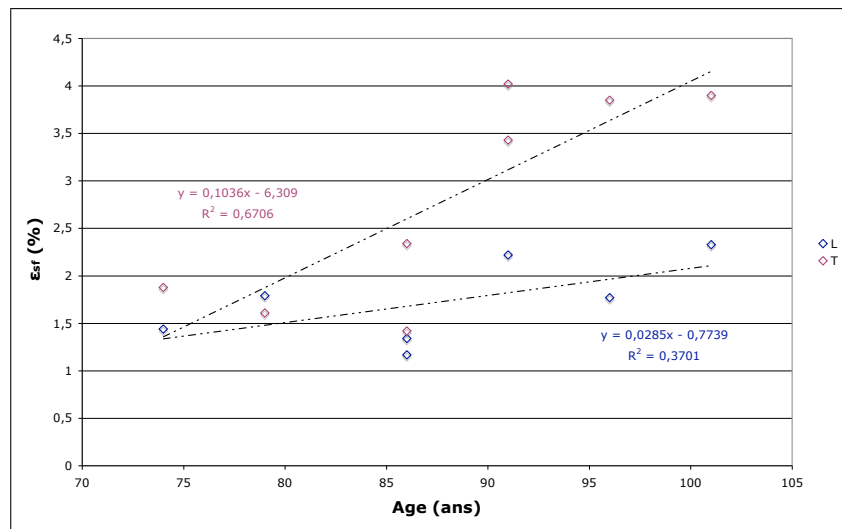
De même, lorsque la porosité s'élève, les déformations locales moyenne et seuil augmentent (Figure 4.7). Les corrélations sont sensiblement supérieures pour la déformation seuil ε_{sf} mais restent cependant faibles.

4.4.3.3 Relation avec la densité minérale

Aucune corrélation n'apparaît entre les déformations moyennes locales et seuil à la fissuration et la densité minérale.



(a) Déformation ε_f



(b) Déformation ε_{sf}

Figure 4.6 – Relation entre la déformation moyenne locale ε_f et la déformation seuil ε_{sf} à la fissuration et l'âge des échantillons L et T

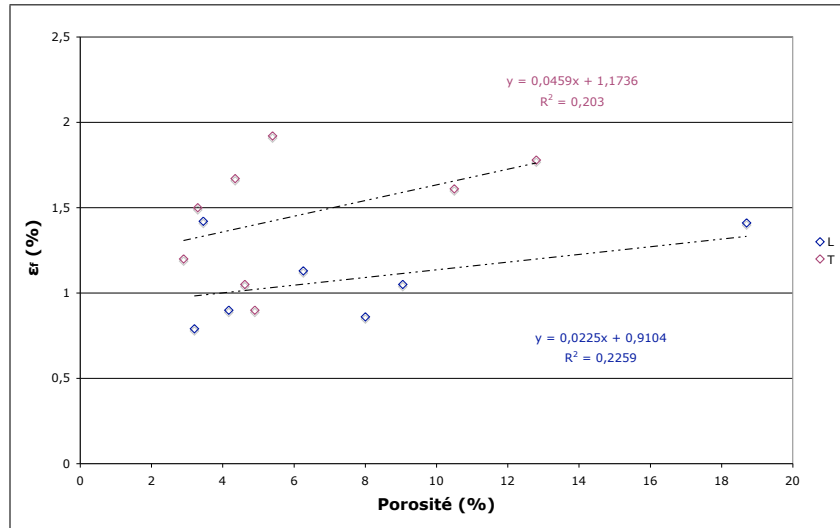
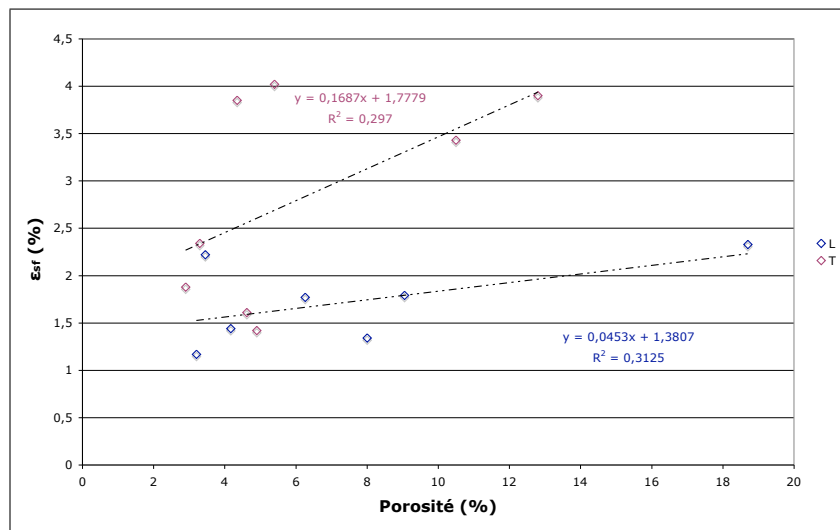
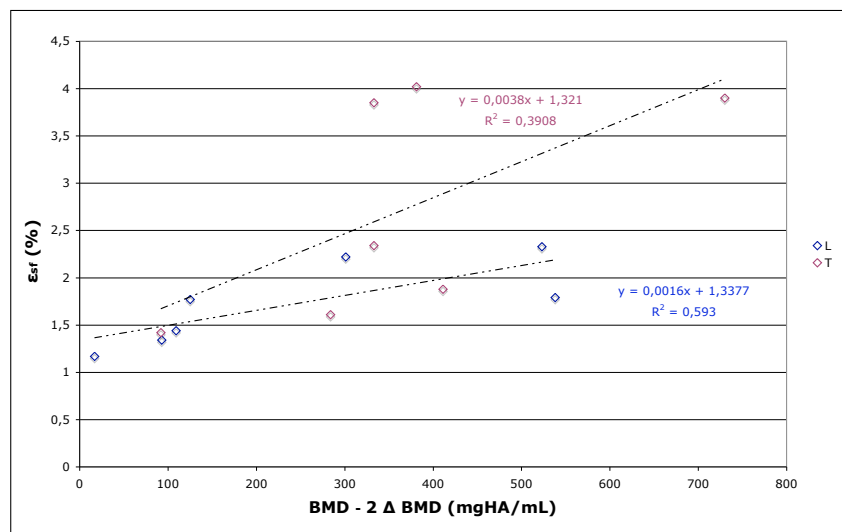
(a) Déformation ε_f (b) Déformation ε_{sf}

Figure 4.7 – Relation entre la déformation moyenne locale ε_f et la déformation seuil ε_{sf} à la fissuration et la porosité des échantillons L et T

4.4.3.4 Relation avec l'hétérogénéité de la densité minérale

La figure 4.8 représente, pour les échantillons L et T, l'évolution de la déformation seuil ε_{sf} , mesurée à l'étape de fissuration, en fonction de la valeur minimale locale de la densité minérale BMD_{min} définie par :

$$BMD_{min} = BMD - 2 \Delta BMD \quad (4.3)$$



(a) Déformation ε_{sf}

Figure 4.8 – Relation entre la déformation seuil ε_{sf} à la fissuration et la valeur minimale locale de la densité minérale BMD_{min} des échantillons L et T

On constate sur cette figure que la valeur de la déformation seuil à la fissuration ε_{sf} s'élève lorsque la valeur minimale locale de la densité minérale s'accroît. Cette tendance est particulièrement marquée dans la direction longitudinale avec un coefficient de corrélation de 0.59 (Figure 4.8). Le contenu minéral de chacun des échantillons pouvant être, en première approximation, supposé constant, BMD_{min} traduit la plus ou moins grande hétérogénéité du tissu osseux. Plus la valeur BMD_{min} sera faible, plus le tissu sera hétérogène. Et plus le tissu sera hétérogène, plus la valeur nécessaire à la fissuration sera faible.

4.5 Conclusions et Perspectives

Cette étude a permis de relever des valeurs de déformations susceptibles d'engendrer l'endommagement de l'os cortical et ainsi d'activer le processus de remodelage osseux. De nouveau, l'hétérogénéité du tissu osseux ainsi que l'influence de la porosité quant au comportement macroscopique sont mis en évidence. De même, l'anisotropie de l'os ressort des observations des champs de déformations, notamment entre les deux directions principales (longitudinale et transversale). A l'échelle du tissu osseux, l'effet de microstructure apparaît principalement dans la direction transversale ce qui est à relier directement aux canaux de Havers et à leur forme tubulaire parallèle à la direction longitudinale. Les valeurs locales moyenne et seuil de la déformation à cette étape de fissuration, sont influencées notamment par l'âge et l'hétérogénéité de la densité minérale. Ces valeurs seront intégrées dans la partie simulation numérique qui suit en tant que critères d'activation du processus de remodelage osseux, puisque celui-ci a pour principal but de contrecarrer l'endommagement.

Simulation numérique du processus de remodelage osseux

*L'approche expérimentale menée dans les trois précédents chapitres a permis de caractériser plusieurs spécimens d'os cortical issus de fémurs humains d'âge variable. Les propriétés morphométriques et mécaniques, déterminées selon trois échelles, sont utilisées dans l'approche numérique proposée dans ce qui suit. La modélisation numérique du processus biologique de remodelage osseux s'appuie sur un scénario simplifié considérant les différentes phases du phénomène et sur une méthode originale d'homogénéisation temporelle élaborée afin de considérer les chargements *in vivo* que subit l'os. L'objectif de ce travail est de mieux appréhender le remodelage osseux, de définir ses déterminants ainsi que d'évaluer les interactions potentielles entre ce phénomène biologique et le comportement mécanique de l'os cortical humain à l'échelle de l'ostéon. Les trois chapitres constituant cette étude numérique sont en anglais.*

Chapitre 5

A cortical bone remodelling scenario integrating osteon generation and damage

5.1 Introduction

L'os cortical est un matériau vivant complexe et multiéchelle capable de se régénérer lorsque ses propriétés mécaniques sont inadaptées à son environnement. En effet, l'os est sujet à de nombreuses sollicitations mécaniques qui induisent de l'endommagement par fatigue. En réponse à cet endommagement, le processus biologique de remodelage osseux, dont le but est donc de "réparer" l'os en générant des ostéons, s'initie. A l'échelle microscopique, des changements des propriétés morphométriques et mécaniques sont constatés. Ces modifications ont pour objectif de conférer une meilleure résistance à l'os.

D'un point de vue biologique, l'activation théorique du remodelage correspond à la stimulation des cellules ostéocytaires mécano-sensibles qui transduisent ainsi un signal mécanique en un signal chimique. Ce dernier induit la résorption du tissu osseux endommagé par les cellules ostéoclastiques (notées Oc sur la figure 5.1). Quelques jours après le début de la phase de résorption, les cellules ostéoblastiques sont recrutées (nommées Ob sur la figure 5.1). Cette phase de remplacement de cellules ou phase de réversion est suivie par la formation d'un nouveau tissu osseux. L'association des cellules participant au processus de remodelage *in vivo* est nommée

Unité Cellulaire de Base (en anglais, Basic Multicellular Unit ou BMU) et forme un "front de remodelage" dont l'avant est appelé "cône de coupe". Lorsqu'à l'avant du front, les ostéoclastes creusent une sorte de "tunnel", à l'arrière, les ostéoblastes commencent à apposer de la matière organique pour former l'ostéode de la périphérie vers le centre du "tunnel". Cependant, un passage central est préservé afin de permettre l'apport en nutriments nécessaire au métabolisme des cellules. Cette porosité centrale constitue le canal de Havers. Lorsque l'ostéode, composé majoritairement de collagène, est formé, il est progressivement minéralisé. 60% de la minéralisation a lieu lors des premiers jours : c'est la phase de minéralisation primaire. Les 40% restants sont déposés plus lentement. Cette phase de minéralisation secondaire se poursuit sur plusieurs mois [134]. Certaines études (Burr et al. [72]) ont établi que la lamelle périphérique, la ligne cémentante, possède des propriétés mécaniques différentes de celles des autres lamelles. Le remodelage osseux aboutit à la génération au sein de la microstructure d'un nouvel ostéon, cylindre percé en son centre par le canal de Havers, et constitué de lamelles coaxiales.

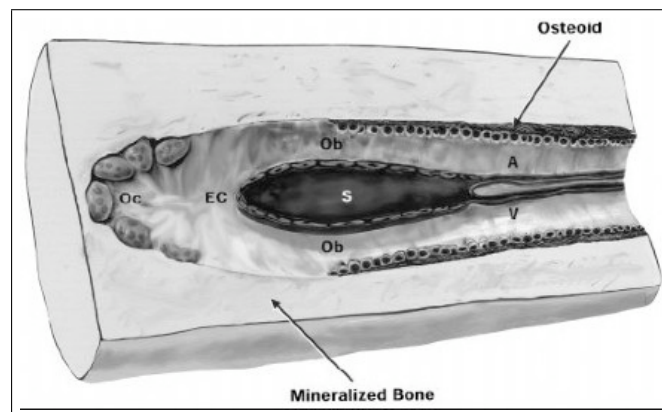


Figure 5.1 – Géométrie des Unités Multicellulaires de Base dans la matrice endommageable à un temps fixé et définition des cellules associées (Ob : osteoblastes, Oc : osteoclastes)

La plupart des travaux sur le remodelage osseux (Cf. chapitre bibliographique 1.4.6) se réfèrent à l'os trabéculaire et/ ou le remodelage d'un point de vue macroscopique et ceux considérant l'os cortical ne tiennent compte que de la déformation ou de l'endommagement comme stimulus mais rarement des deux simultanément ou alors uniquement lors d'une phase spécifique du remodelage.

Le modèle proposé dans cette étude considère un scénario du remodelage osseux

à l'échelle microscopique appliqué à une matrice d'os endommageable. Ce scénario basé sur les données biologiques [135], [71] est proposé pour évaluer l'interaction temporelle entre la biologie, l'endommagement et les champs mécaniques. Pour décrire le remodelage, des variables internes sont employées et les lois d'évolution sont définies par des équations différentielles ordinaires. Les zones où se produit le remodelage, définies par les phases principales et un temps caractéristique du processus, sont déterminées par des fonctions caractéristiques et des fonctions types level set. En particulier, on présente un outil de détection des sites et temps d'activation du processus biologique. La démarche adoptée rend ces zones indépendantes de la taille du maillage et est, par essence, tridimensionnelle. Cette approche pour modéliser le processus de remodelage osseux apparaît originale et a pour objectif une meilleure compréhension du phénomène et du couplage entre le remodelage et l'endommagement. Dans ce chapitre, le scénario du remodelage ainsi que de la loi d'endommagement sont présentés et réalisés sur un cas simple de matrice homogène similaire à un os isotrope élastique. On se limite à valider le scénario proposé en analysant l'évolution temporelle des champs mécaniques ainsi que la microstructure finale remodelée et endommagée.

5.2 Modelling of the cortical bone remodelling process

The model tries to simulate the generation of osteons in a bone matrix submitted to a cyclic loading in compression. This loading induces changes in the mechanical fields and microdamage, which will act as stimuli for the activation of bone remodelling (Figure 5.2).

The following subsections introduce the different variables associated with damage and remodelling and specify their time-dependent evolution.

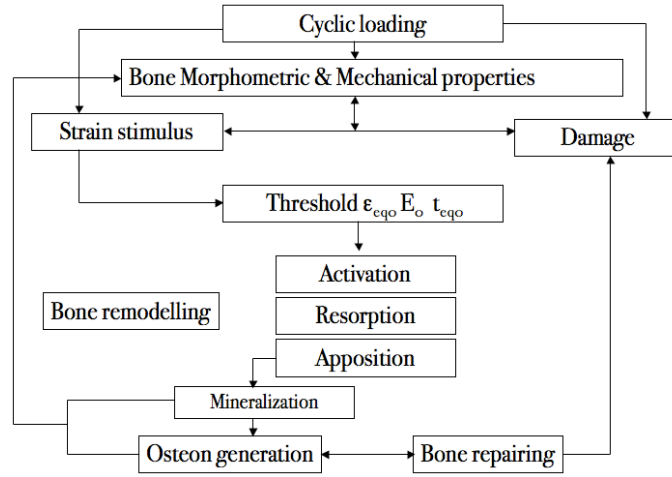


Figure 5.2 – Schematic representation of the bone remodelling modelling

5.2.1 Mechanical properties of cortical bone

In a first step, the model is applied to an homogeneous isotropic matrix Ω_m whose material parameters are the bone Young modulus, the apparent density (ρ) and bone Poisson's ratio (ν). The upper boundary of Ω_m is submitted to external forces, similar to *in vivo* cyclic loadings except the only case of compression is investigated here.

5.2.1.1 Degradation of the stiffness

A phenomenon of fatigue damage occurs as a consequence of the loading. The mechanical behavior of the matrix Ω_m , which is supposed elastic, is defined by the following constitutive equation :

$$\sigma = E_D (\bar{\lambda} \text{tr}(\varepsilon) I + 2\bar{\mu} \varepsilon) \quad (5.1)$$

with σ and ε the stress and strain tensors respectively. $\bar{\lambda} = \frac{\nu}{(1-2\nu)(1+\nu)}$ and $\bar{\mu} = \frac{1}{2(1+\nu)}$ are the normalized Lamé coefficients and E_D the damageable Young modulus.

Normal activities produce strains in bone tissue leading to the growth of microcracks. The damage, figured by the isotropic scalar variable D , induces stiffness degradation as demonstrated *in vitro* by several authors (Pattin et al. [78], Zioupos et al. [94]). This loss of stiffness is represented through the equation :

$$E_D = E_0 (1 - D) \quad \text{in } \Omega_m \quad (5.2)$$

E_0 , the initial Young modulus of Ω_m , corresponds then to the elastic modulus of an ideal undamaged material ($D=0$). The variable D refers to the continuum damage variable used in the isotropic theory of the Continuum Damage Mechanics (Lemaitre [101], Davy and Jepsen [104]). However, at the initial state, the matrix Ω_m is assumed slightly damaged in order to represent an *in vivo* state. D is thereafter restricted to the interval $[D_0, 1]$ with $D_0 \geq 0$.

5.2.1.2 Damage law

The evolution of damage in cortical bone is still not really well-known. Some theoretical laws [32], [101] or [104], [105] or experimentally based laws [78] exist but it is still difficult to represent the *in vivo* damage evolution because lots of environmental, biological, mechanical parameters can interfere.

Generally enough, the evolution of bone damage can be expressed by :

$$\dot{D} = g(D, \varepsilon) \quad (5.3)$$

where $\dot{D} = \frac{\partial D}{\partial t}$ and g , some function.

The law used in the present model is isotropic, based on Frondrk's law [104]. The damage evolution is then determined by :

$$\dot{D} = B \left[\frac{1-D}{\varepsilon_{eq}} \right] \left[\frac{\sigma_I}{\sigma_r} \right]^N \quad (5.4)$$

with σ_I , the major principal stress, ε_{eq} an equivalent strain, σ_r a constant reference stress, B and N some material constants.

The equivalent strain ε_{eq} is specified by :

$$\varepsilon_{eq} = \sqrt{\varepsilon_{xx}^2 + \varepsilon_{yy}^2 + \varepsilon_{zz}^2 - (\varepsilon_{xx}\varepsilon_{yy} + \varepsilon_{xx}\varepsilon_{zz} + \varepsilon_{yy}\varepsilon_{zz}) + 3(\varepsilon_{xy}^2 + \varepsilon_{xz}^2 + \varepsilon_{yz}^2)} \quad (5.5)$$

The former law can be rewritten in the general form 5.3 using the constitutive equation 5.1 and is adapted to allow the simulation of 10,000 cycles per day in reference to the *in vivo* state [95] [97]. In the following, this law is named as Frondrk's law and will be used in the next chapter on time homogenization in order to simulate fatigue damage.

5.2.1.3 Determination of the remodelling domain geometry

When a sufficient accumulation of damage causes such local strains that bone is not adapted to the environment anymore, the bone remodelling process is activated in the regions of the most deteriorated properties. The remodelling process results then in the formation of heterogeneities located in different domains Ω , parametrized by the space variable \underline{X} . Each domain exists in a given time interval only and is specified by the characteristic function χ defined by :

$$\begin{aligned}\chi_{\Omega}(\underline{X}) &= 1 && \text{if } \underline{X} \in \Omega \\ \chi_{\Omega}(\underline{X}) &= 0 && \text{if } \underline{X} \notin \Omega\end{aligned}$$

Furthermore, we will need the classical Heaviside function H , which will be very often used to identify each domain involved in the remodelling process and whose definition is recalled here :

$$\begin{aligned}\xi < 0, & H(\xi) = 0 \\ \xi > 0, & H(\xi) = 1\end{aligned}$$

5.2.2 Scenario of the remodelling process

The aim of the remodelling is to repair damage. We assume here that both phenomena cannot occur simultaneously in the same region. The key parameter of the biological process chosen in this work is the Young modulus E , which is space- and time-dependent. The damageable matrix Ω_m is characterized by the deterioration of its Young modulus E_D . The three main phases of bone remodelling are modelled through the so-called Basic Multicellular Units (BMUs). This BMU represents the whole bone cells which intervene in the remodelling process and evolves in a space- and time-dependent way.

The BMUs progression takes place in a well-defined sequence recognized as ARF (Activation-Resorption-Formation). The temporal evolution of the BMUs geometry, associated with the "remodelling process" time variable θ , appears through the lo-

cal remodelling Young modulus Y of each phase of the bone remodelling process, illustrated in 5.3. Thus, Y is equal to Y_r in Ω_r during the resorption phase where $\theta_r \leq \theta \leq \theta_a$, to Y_a in Ω_a during the formation phase where $\theta_a \leq \theta \leq \theta_{rem}$ and to E_D in the damaged matrix Ω_m .

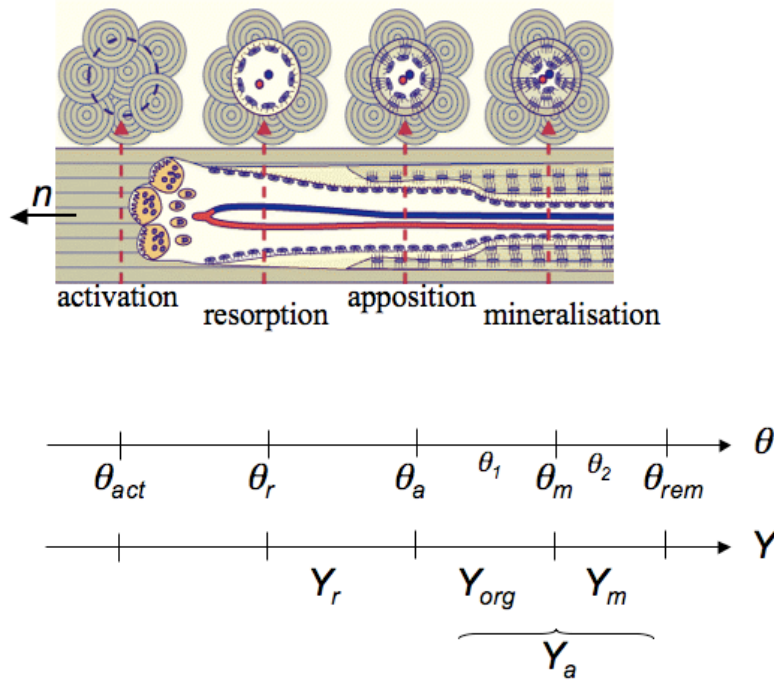


Figure 5.3 – Schematic representation of the bone remodelling modelisation through the time-dependent BMU and scales of the "remodelling process" time θ and the associated remodelling Young modulus Y

The different domains of the bone remodelling process and the damageable domain are specified in table 5.1.

Variable	Denomination	Value
Domain parameters		
Ω_m	Damageable domain	
Ω_{act}	Activation domain	
Ω_r	Resorption domain	
Ω_a	Formation domain	
$\Omega_{BMU}(\theta)$	Remodelling domain	$\Omega_{act} \cup \Omega_r(\theta) \cup \Omega_a(\theta)$

Tableau 5.1 – Domain parameters

At a point X , time t and "remodelling process" time θ , the global Young modulus E is then given by the equation 5.6.

$$E(\underline{X}, t, \theta) = E_D(\underline{X}, t)\chi_{\Omega_m(t)}(\underline{X}) + Y_r(\underline{X}, \theta)\chi_{\Omega_r(\theta)}(\underline{X}) + Y_a(\underline{X}, \theta)\chi_{\Omega_a(\theta)}(\underline{X}) \quad (5.6)$$

The sequences in figure 5.4 illustrate each stage of the bone remodelling process. The BMU is consequently defined by the domain Ω_{BMU} which spatially changes in function of θ by :

$$\Omega_{BMU}(\theta) = \Omega_{act} \cup \Omega_r(\theta) \cup \Omega_a(\theta) \quad (5.7)$$

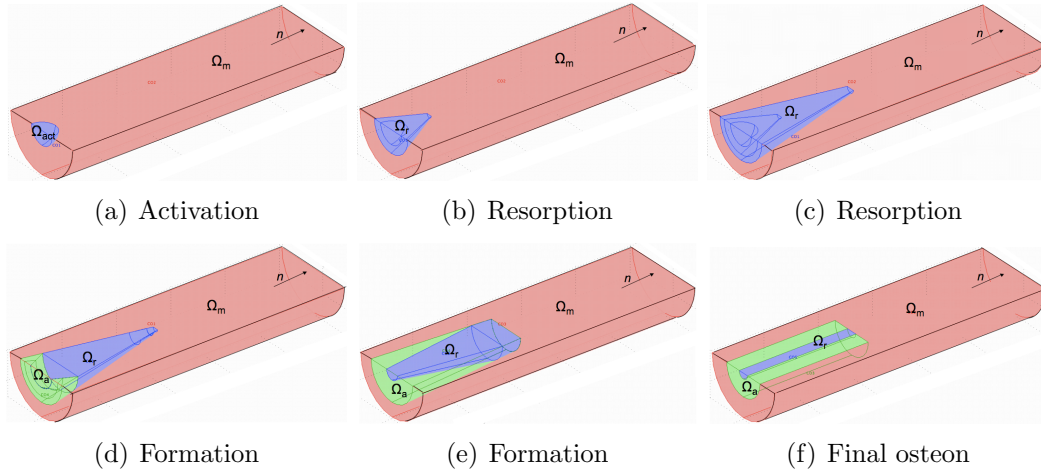


Figure 5.4 – Evolution of the BMU geometry in the damageable matrix (in pink) in accordance with the ARF sequence (in the direction \underline{n}). The resorption domain Ω_r appears in blue and the formation domain Ω_a in green .

Complete bone remodelling results in the formation in the direction \underline{n} of an osteon, i.e. a hollow cylinder (length L , external radius R_{LC} , internal radius R_h , axis (X_0, \underline{n})).

To define the spatial evolution of the BMU, we will use the following expressions \underline{u}_0 , u_{0L} and \underline{u}_{0R} , given by :

$$\underline{u}_0 = \underline{X} - \underline{X}_0 \quad (5.8)$$

$$u_{0L} = \underline{u}_0 \cdot \underline{n} \quad (5.9)$$

$$\underline{u}_{0R} = \underline{u}_0 - u_{0L} \underline{n} \quad (5.10)$$

The inner cylinder domain, representing an osteon, is thus defined by the following inequalities :

$$|\underline{u}_{0R}| \leq R_{LC} \quad (5.11)$$

$$|u_{0L}| \leq L \quad (5.12)$$

At an intermediate time θ of the remodelling process, the length $l(\theta)$ along the direction \underline{n} and its radius $R(\theta)$ in the direction perpendicular to \underline{n} are such that $l(\theta) \leq L$ and $R(\theta) \leq R_{LC}$. These geometric functions are illustrated in figure 5.5 and the different parameters employed are presented in tables 5.1, 5.2 and 5.3. From a practical point of view, they are issued from 3D histomorphometric studies [136] [137].

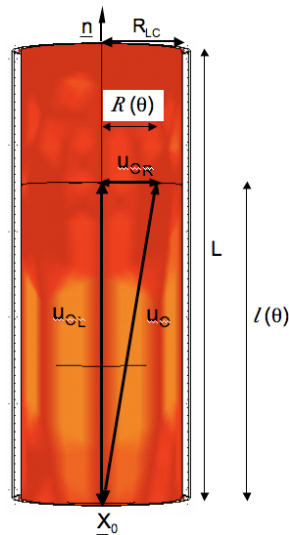


Figure 5.5 – Definition of the remodelling domain Ω_{BMU}

The modelling of the main stages of the remodelling process (activation, resorption and formation) are now presented.

Variable	Denomination	Value
General mechanical parameters		
E_0	Initial Young modulus	20 GPa
E_{0T}	Initial Young modulus threshold for remodelling activation	
ρ	Bone volumic density	1990 kg/m ³
ν	Poisson's ratio	0,358
ε_{eq0}	Activation strain threshold	
Damage parameters		
D_0	Initial damage variable	10^{-4}
Parameters associated with the osteon		
Ω_o	Remodelled domain	
\underline{X}_0	Position of the activated site, departure point of remodelling	
\underline{X}	position vector in Ω_o	
\underline{n}	Normal vector along the direction of the growing osteon	
L	Osteon height	1mm
R_{LC}	Cement line radius	100 μ m
R_h	Radius of the Haversian canal	40 μ m
Y	Remodelling Young modulus	

Tableau 5.2 – Variables of the bone remodelling model

Variables	Denomination	Value
Time variables		
θ	"Remodelling process" time variable	
$\frac{\partial \theta}{\partial t} = \dot{\theta}$	Time-dependent field characteristic of the remodelling process	
Activation parameters		
$t_{\varepsilon_{eq}}$	Time for which $\varepsilon_{eq} \geq \varepsilon_{eq0}$ necessary to activation	
t_0	Activation time	
Resorption parameters		
T_r	Resorption period	32 days
θ_r	Initial resorption time	
Y_r	Young modulus related to resorption phase	
R_e	External resorption front radius	
v_r	Longitudinal resorption velocity	40 $\mu\text{m} / \text{day}$
p	Geometric parameter of the ellipsoid	
Formation parameters		
T_a	Apposition period	80 days
θ_a	Initial time of apposition of non mineral material	
θ_m	Initial time of apposition of mineral material	
Y_a	Young modulus related to the whole apposition phase	
Y_{org}	Young modulus related to the organic apposition phase	1.2 GPa
Y_m	Young modulus related to the mineralisation phase	
R_i	Internal apposition front radius	1 $\mu\text{m} / \text{day}$
α	Constant of radial apposition velocity	
v_a	Longitudinal apposition velocity	15 $\mu\text{m} / \text{day}$
θ_{rem}	Final time of the remodelling process	85 days

Tableau 5.3 – Variables of the bone remodelling model

5.2.2.1 Activation of remodelling : influence of strain level and damage and determination of the start-up of the remodelling domain

 Ω_{BMU}

Figure 5.6 presents the domain where the future osteon, generated through the remodelling process, will start.

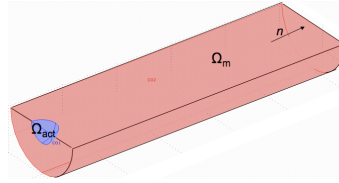


Figure 5.6 – Geometry of a BMU during the activation phase.

The initiation of the process is still not well known. Most scientists nevertheless agreed about the key role played by strain stimulus and microdamage in the remodelling activation. Here, it is proposed to consider both causes. Besides, several studies showed that microcracks preferentially initiate in areas whose Young modulus is high, corresponding to interstitial and old bone (Diab and Vashishth [138]). To take this observation into account, it is assumed that the remodelling process can occur only in regions whose initial Young modulus E_0 is above an arbitrary threshold E_{0T} .

When damage induces the deterioration of mechanical parameters, the strain field is modified and some regions of the microstructure are submitted to a high strain level. When the local equivalent strain value ε_{eq} has exceeded a threshold value ε_{eq_0} during a characteristic time t_{eq_0} , bone remodelling is activated. This modelling requires the knowledge of the spatial and temporal evolution of the equivalent strain, ε_{eq} , specified in equation 5.5. The calculation of the cumulative time variable $t_{eq}(\underline{X}, t)$ for which $\varepsilon_{eq}(\underline{X}, t)$ is larger than ε_{eq_0} is also performed and given by the differential equation 5.13.

$$\dot{t}_{eq}(\underline{X}, t) = H[\varepsilon_{eq}(\underline{X}, t) - \varepsilon_{eq_0}] \quad (5.13)$$

The characteristic function of the activation domain $\chi_{\Omega_{act}}(\underline{X}, t)$ is then determined through the equation 5.14.

$$\chi_{\Omega_{act(t)}}(\underline{X}) = H[\varepsilon_{eq}(\underline{X}, t) - \varepsilon_{eq0}] H[t_{eq}(\underline{X}, t) - t_{eq0}] H[E_0 - E_{0T}] \quad (5.14)$$

Subsequently, the "remodelling process" time field $\theta(\underline{X}, t)$ is given by the following equation 5.15 :

$$\dot{\theta}(\underline{X}, t) = \chi_{\Omega_{act(t)}}(\underline{X}) \quad (5.15)$$

When the whole activation threshold parameters are reached, the variable θ is activated ($\dot{\theta} \geq 0$). The activation time $t_0(\underline{X})$ is defined such that :

$$t_0(\underline{X}) = t - \theta(\underline{X}) \quad (5.16)$$

and the activation site of the remodelling process \underline{X}_0 is localized at $t_0(\underline{X})$ through the equation 5.17.

$$\underline{X}_0 = H(\theta) \underline{X} \quad (5.17)$$

Usually, the activation criteria are localized enough to induce, at a given time, the activation of a single area whose mean value of \underline{X} is used to get \underline{X}_0 . However, if distinct areas are activated, a special case is then required. Besides, it can be stressed that the origin of the spatial cartesian frame should not be included in the whole domain Ω .

As soon as the activation of the remodelling process is achieved, the scenario progresses until the end. The activation phase is followed by the resorption of the cortical bone then the formation of new one. These main phases, schematically illustrated in figure 5.3, are explicitly described in the next sections.

5.2.2.2 Bone Resorption : definition of the Young modulus Y_r in Ω_r

The semi ellipsoidal *cutting cone* formed by the osteoclasts, localized in figure 5.1 (Oc), and illustrated in figure 5.7, digs a sort of "tunnel", whose radius is R_{LC} ,

in the damaged matrix, advancing at a longitudinal rate v_r along the direction \underline{n} , constant during the resorption period T_r . The digging tunnel constitutes the resorption domain Ω_r .

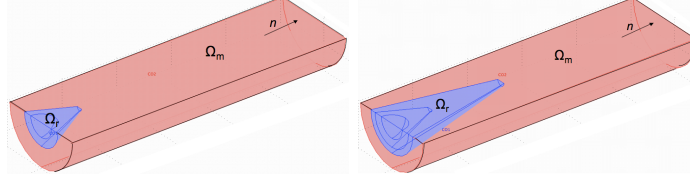


Figure 5.7 – Geometry of a BMU during the resorption phase in the direction \underline{n} .

The time-dependent length $l(\theta)$ and radius $R(\theta)$ are then specified by the equations 5.18a and 5.18b where θ is such that $\theta_r \leq \theta \leq \theta_a$, θ_r and θ_a being the initial times of the resorption and the formation phases respectively :

$$l(\theta) = l_r(\theta) = v_r \theta \quad (5.18a)$$

$$R(\theta) = R_r(\theta) = |\underline{u}_{0R}|^2 - 2p [u_{0L} - l_r(\theta)] \quad (5.18b)$$

with p a geometric parameter of the ellipsoid.

The characteristic function of the resorbed domain χ_{Ω_r} is thus given by :

$$\chi_{\Omega_r(\theta)}(\underline{X}) = H [R_r(\theta)^2 - |\underline{u}_{0R}|^2] H [l_r(\theta) - u_{0L}] \quad (5.19)$$

When digging the tunnel, defining the resorption domain Ω_r , along the distance L , the properties of bone and the mechanical parameters change due to a large decrease of the Young modulus to the constant value Y_r . The formation of new bone material can then occur.

5.2.2.3 Bone Formation : space- and time-dependent evolution of the Young modulus Y_a in Ω_a

The formation phase, which occurs in the domain Ω_a during the interval T_a , can be split into two principal steps, illustrated in figure 5.8.

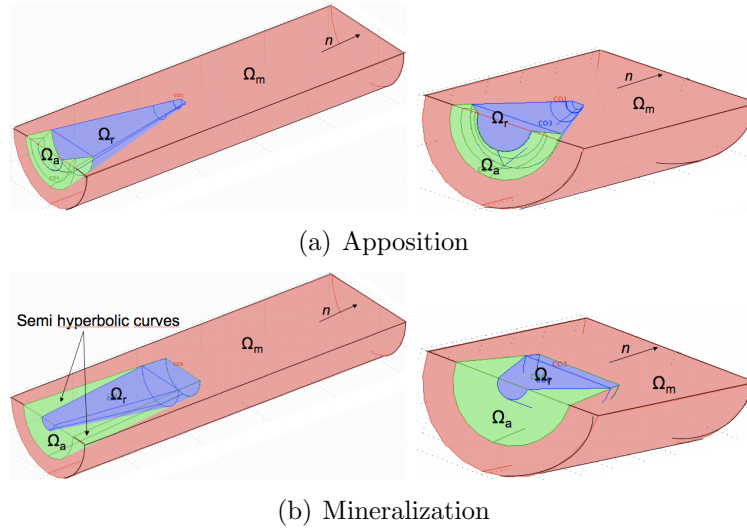


Figure 5.8 – Geometry of a BMU during the formation phase along the direction \underline{n} , a/ apposition of non mineral materials, b/ mineralization.

Apposition of non mineral materials

While, in the front of the cone, digging is performed, in the bottom begins, at the time θ_a , the apposition of organic and non-organic material, mainly collagenic material, to form the so-called osteoid from the periphery to the center of the "tunnel". The elastic modulus value of the osteoid Y_{org} is supposed equal to the one of collagen. During the apposition phase, the geometry of the BMU is similar to two semi-hyperbolic curves as illustrated in figure 5.8(b). The interior radius $R(\theta)$ of the osteon evolves as a function of the remodelling process time θ . Yet, a central porosity is preserved to constitute the Haversian canal. The radius $R(\theta)$ is then equal to the exterior radius R_{LC} in the beginning of the apposition phase and to the radius of the haversian canal R_h at the end.

The subsequent evolution of $R(\theta)$, defining the radial apposition rate (normal to \underline{n}), and $l(\theta)$ are determined by the equations 5.20a and 5.20b respectively :

$$R(\theta) = R_a(\theta) = R_{LC} [1 - e^{\alpha(\theta-\theta_a)}] \quad (5.20a)$$

$$l(\theta) = l_a(\theta) = v_a \theta \quad (5.20b)$$

with $\theta_a \leq \theta \leq \theta_{rem}$, θ_a being the initial time of the apposition phase and θ_{rem} the time when remodelling is completed. α is a constant and v_a is the longitudinal apposition rate, along the direction \underline{n} .

The characteristic function of the new-formed domain χ_{Ω_a} is then defined such that :

$$\chi_{\Omega_a}(\underline{X}) = H [1 - f_a(l_a(\theta), R_a(\theta), \underline{u}_0, \underline{u}_{0R}, u_{0L})] H [|\underline{u}_{0R}|^2 - R_h^2] H [L - u_{0L}]$$

where f_a is the function representative of the BMU hyperbolic geometry during the formation phase.

Mineralization

The osteoid, formed during the interval $(\theta_m - \theta_a)$ in Ω_a , is then progressively mineralized during a rather long period $(\theta_{rem} - \theta_m)$, θ_m being the initial time of the mineralization period. This mineralization phase is also split into two stages associated with the primary and the secondary mineralization respectively. In the present model, the mineralization is determined by a two-step evolution of the Young modulus. Indeed, some studies have demonstrated a relation between the mineral density and the Young modulus [46] [139]. We thus assume that the Young modulus evolves linearly as a function of θ for each mineralization phase, excepted a slower rate for the secondary mineralization. As said previously, the mineralization is also spatial-dependent. The properties of the peripheral lamella of the new osteon, the well-known cement line, differ from the other osteonitic lamellae. The stiffness value associated with this cement line is lower than in the other lamellae. The associated space- and time-dependent Young modulus in the lamellae, including the cement line, is noted $Y_m(\underline{X}, \theta)$.

The total formation phase

Eventually, when the two steps of the formation phase are distinguished, the Young modulus Y_a inside Ω_a is described such that :

$$Y_a(\underline{X}, \theta)\chi_{\Omega_a}(\underline{X}) = [Y_{org}(\theta_1 - \theta_a) + Y_m(\underline{X}, \theta)(\theta_2 - \theta_m)] \chi_{\Omega_a}(\underline{X}) \quad (5.21)$$

where θ , θ_1 and θ_2 are such that $\theta_a \leq \theta \leq \theta_{rem}$, $\theta_a \leq \theta_1 \leq \theta_m$ and $\theta_m \leq \theta_2 \leq \theta_{rem}$.

5.2.2.4 The final osteon

The temporal and spatial change of the Young modulus Y during the remodelling process can be then specified in Ω_{BMU} by the following expression :

$$Y(\underline{X}, \theta) \chi_{\Omega_{BMU}(\theta)}(\underline{X}) = Y_r(\theta) \chi_{\Omega_r(\theta)}(\underline{X}) + Y_a(\underline{X}, \theta) \chi_{\Omega_a(\theta)}(\underline{X}) \quad (5.22)$$

where $\chi_{\Omega_r(\theta)}(\underline{X})$ is valid when $\theta_r \leq \theta \leq \theta_a$ and $\chi_{\Omega_a(\theta)}(\underline{X})$ when $\theta_a \leq \theta \leq \theta_{rem}$.

The characteristic function of the total remodelling domain Ω_o , when the osteon is completed (for $\theta \geq \theta_{rem}$), is defined such that :

$$\chi_{\Omega_o(\theta)}(\underline{X}) = H [R_{LC}^2 - |\underline{u}_0 - \underline{u}_{0R}|^2] H [L - u_{0L}] \quad (5.23)$$

The resulting osteon, illustrated in figures 5.9 and 5.10(a), is a hollow cylinder characterized by osteonitic lamellae surrounded by a peripheral lamella, the cement line with an external radius R_{LC} (in green) and a central porosity, the Haversian canal (radius R_h) (in blue).

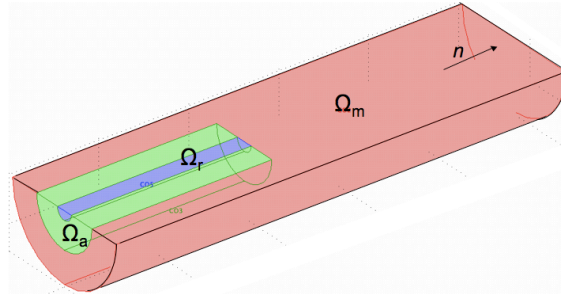


Figure 5.9 – Geometry of the final osteon (lamellae in green, Haversian canal in blue) in a damageable matrix (in pink).

This osteon is surrounded by the damaged matrix (in pink) and the subsequent spatial distribution of the Young modulus E is given by :

$$E(\underline{X}, t, \theta) = E_D(\underline{X}, t) \chi_{\Omega_m(t)}(\underline{X}) + Y(\underline{X}, \theta) \chi_{\Omega_o(\theta)}(\underline{X}) \quad (5.24)$$

The resulting microstructure is illustrated in figure 5.10(b). The color scale 5.10(c) refers to the stiffness values in Pa related to the microstructure in figure 5.10(b).

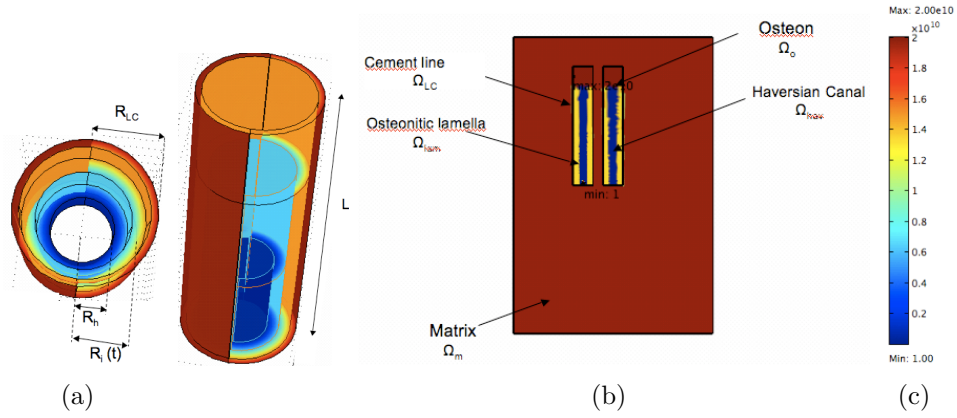


Figure 5.10 – (a) 3D view of an osteon, (b) Final microstructure with two osteons generated; (c) Scale of the Young modulus value [Pa]

5.2.3 Particular numerical aspects

To conclude this section, it can be noted that the time-dependent heterogeneity of the generated osteon has been represented successively by the domains Ω_{act} , Ω_r and Ω_a associated with the characteristic functions $\chi_{\Omega_{act}}$, χ_{Ω_r} and χ_{Ω_a} respectively. These former functions depend on spatial variables like θ which satisfy ordinary differential equations with respect to time. Since no space differentiation appears in their definition, there is no need to use continuous interpolation polynomials in the finite elements method. Here and in the following examples, discontinuous functions, constants in each element of the mesh, are assumed for each of these variables similarly to classical internal variables. These internal variables are defined over the whole domain but their evolution is activated only in their associated area, independently of the mesh. The Heaviside functions are, in fact, regularized which means that they are represented by fifth degree polynomial with continuous derivative. They vary from one to zero across a distance d which can be chosen of the order of $H/5$ where H is the size of an element in the mesh.

5.3 First application

The response of the model is checked on two simple cases in two dimensions : an isotropic homogeneous matrix Ω_m and the same matrix Ω_m but holed with two elliptical "porosities", which will be named "holed matrix" in the following. The dimensions of the holes, similar to osteocytic lacunae, are in the range of micrometers.

In both cases, Ω_m is submitted to a cyclic loading in compression. The upper boundary of Ω_m is submitted to external forces, similar to an *in vivo* cyclic loading. These sinusoidal forces f_s , which are supposed homogeneous and which result in stresses of physiological level [98], are given by :

$$f_s = f_0 + f_1 \quad (5.25)$$

where f_0 is a constant and f_1 a periodic function. The body forces are not considered here and it is worth noting that the matrix is continuously submitted to the mechanical loading. The loss of bone mass due to immobilization, stated by some authors ([140], [141]) has not been simulated in the model. *In vivo*, bone fails by fatigue after several million load cycles ([140], [141]). However, in a first approach, a loading of one cycle per day is applied. The calculations are performed over one hundred days, the damage law being fitted so that each day represents 10,000 cycles. A model truly considering ten thousand cycles per day will be presented in the next chapter.

The initial state corresponds to the matrix Ω_m , whose initial Young modulus is given by $E_D = E_0(1 - D_0)$. D_0 is set to a low value in order to represent the inherent damage which exists *in vivo*. Frondrk's law is used throughout with parameters B fixed to 10^{-5} , σ_r to 100 MPa and N to 4. To restrict the analysis to the influence of loading and damage, the initial Young modulus value E_0 is chosen larger than the threshold value E_{0T} . In the following results, the activation strain threshold ε_{eq0} is set to $4 \cdot 10^{-3}$, E_{0T} to 16 GPa and t_{eq0} to 10 "days" of simulation (i.e. $\varepsilon_{eq} \geq \varepsilon_{eq0}$ for a cumulative time of at least 10 "days").

5.3.1 A heterogeneity needed to activate bone remodelling : Damage and bone remodelling activation

When physiological loadings are applied, no remodelling, i.e. no BMUs generation, is observed in the homogeneous matrix whereas an osteon is generated from the elliptical hole in the holed matrix. Figure 5.11 shows the zone which is examined (and which is the same in the homogeneous and the holed matrix) and Figure 5.12 illustrates the associated Young modulus (5.12 (a), (b)) and strain evolutions (5.12

(c), (d)) in the homogeneous and holed matrix respectively. The damage evolves according to the "Frondrk law" which is deliberately set to a high level in order to underline its influence on the Young modulus.

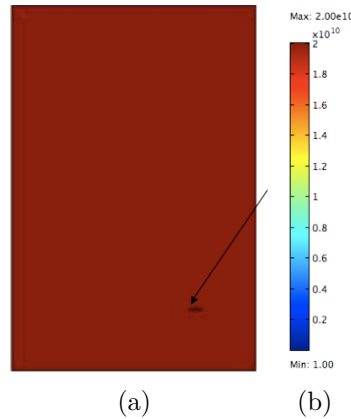


Figure 5.11 – (a) Localisation of the site of interest in the initial holed microstructure (pointed by the arrow); (b) Scale of the Young modulus value [Pa]

The damage is not sufficient enough in the homogeneous matrix to activate bone remodelling (figure 5.12 (a)). The decrease of the Young modulus is about 0.9% past 100 days when no remodelling occurs. The strain values do not exceed the threshold value imposed to initiate bone remodelling but, nevertheless, there is a slight stress and strain increase (figure 5.12 (c)). In the other case ("holed matrix"), near the holes similar to osteocytic lacunae, strain concentrations are noticed : the strain threshold is reached (figure 5.12 (d)) and the subsequent damage evolution is fast (figure 5.12 (b)). The deterioration of the initial Young modulus is maximal near the osteocytic lacuna (reduction of about 32 % of the Young modulus value) and induces the activation of the bone remodelling after about 150,000 cycles. As the necessary time activation t_{eq_0} is fixed to 10 days, the resulting time t_0 means that ε_{eq} exceeded ε_{eq_0} after 50,000 cycles. Before, the damage of the matrix is not strong enough to cause strain higher than the strain threshold.

To check the reliability of our model, other damage evolution laws are tested. The discrepancy compared with the present law is small. Whatever the law, the decrease of the Young modulus in Ω_m is inferior to 2.24 % past 100 days and the activation time is also in the range of 150,000 cycles.

The main role of the heterogeneity of the microstructure, particularly here the microporosity, to activate the bone remodelling process, is thus observed.

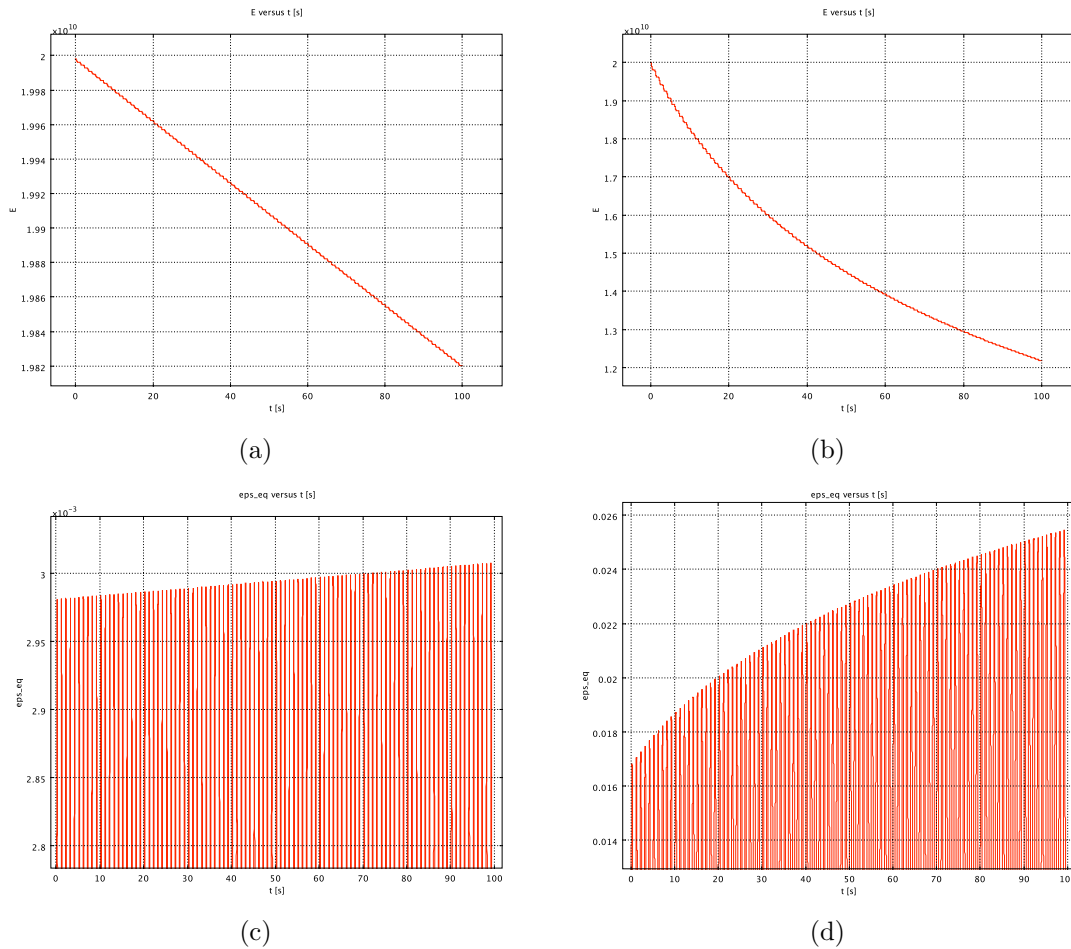


Figure 5.12 – Case 1 : homogeneous matrix Ω_m : (a) Young modulus E_D evolution (in Pa) with Frondrk law, (c) strain evolution ; Case 2 : holed matrix, influence of a small porosity in Ω_m (b) Young modulus E_D evolution (in Pa) with Frondrk law ; (d) strain evolution

5.3.2 Osteon generation from a heterogeneity

Once the bone remodelling process is activated from a region near an osteocytic lacuna, the validation of the scenario, from a biological point of view, is achieved. Figure 5.13 illustrates the distribution of the Young modulus E , the von Mises stress and the equivalent strain in the whole matrix, at the initial state (t_0) and at the end of the simulation (t_f).

Figure 5.14 shows the different intermediate phases linked to the resorption (t_r), the apposition (t_a) and the mineralization (t_m) phases respectively. The same mechanical fields as before are represented. The white color refers to values larger than the maximum value of the associated color scale.

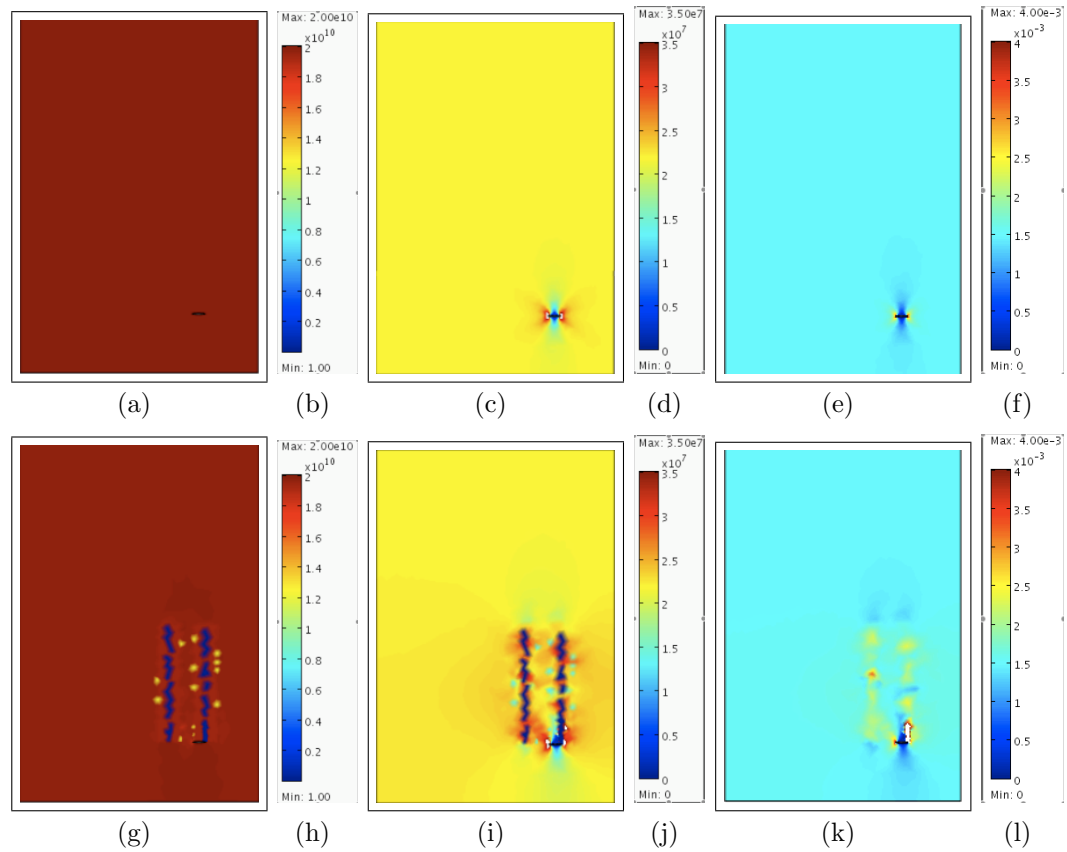


Figure 5.13 – Holed matrix before and after remodelling (first row : at t_0 ; second row : at t_f) : (a, g) Young modulus distribution (b, h) color scale of the Young modulus value (Pa); (c, i) von Mises stress distribution; (d, j) color scale of the stress value (Pa); (e, k) equivalent strain distribution; (f, l) color scale of the strain value

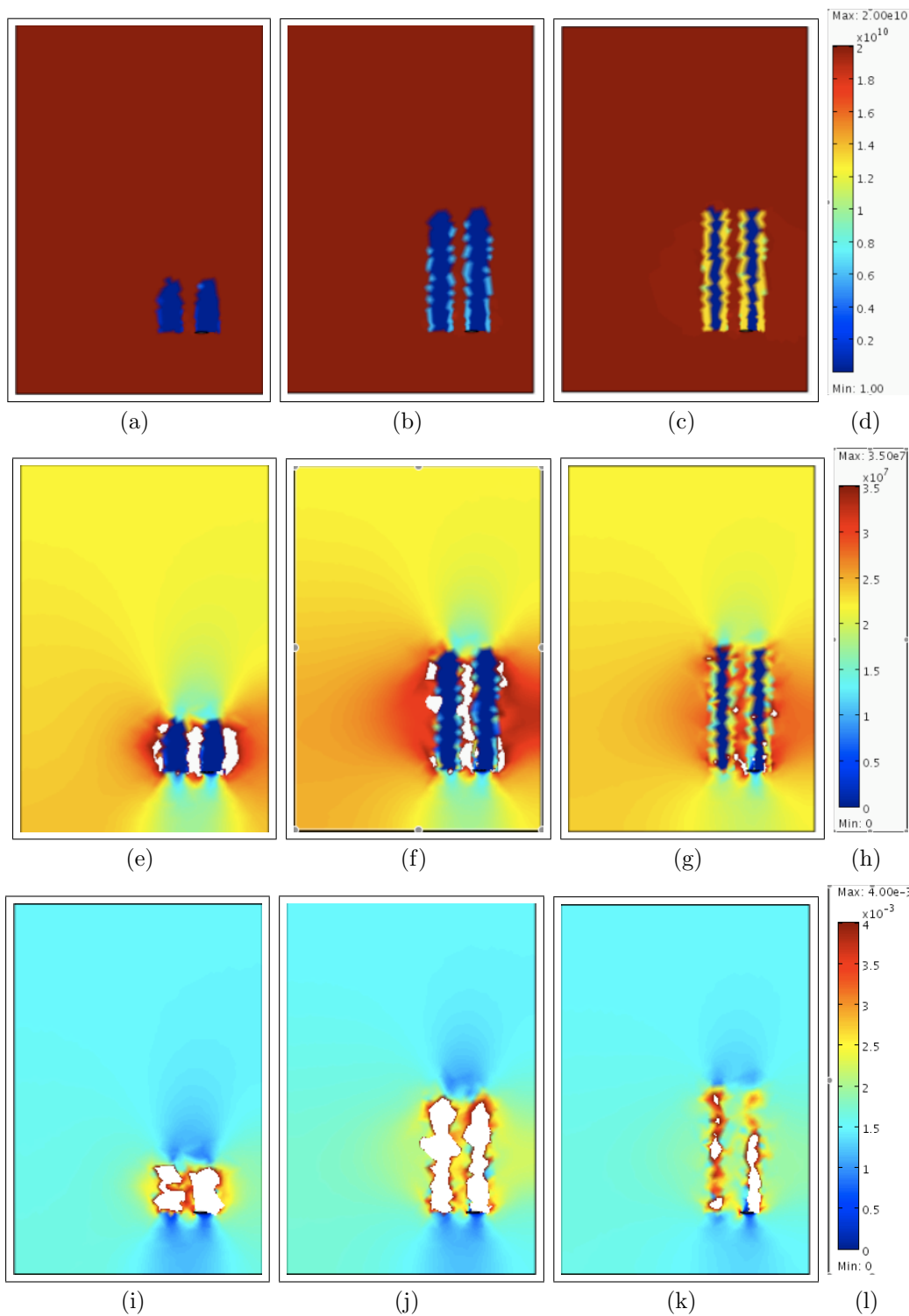


Figure 5.14 – Holed matrix during remodelling ; first row : Young modulus (Pa) (color scale in d), second row : von Mises stress (Pa) (color scale in h), third row : equivalent strain (color scale in l) ; (a, e, i) resorption, t_r ; (b, f, j) apposition (collagen), t_a , (c, g, k) mineralization, t_m

These mappings show the modifications of the microstructure and the mechanical fields associated when two osteons are generated in the matrix through the remodelling process. Specific areas of interest are revealed in the osteons : the osteonitic lamellae (the lamellae constitutive of the osteon), the cement line (the exterior peripheral lamellae) and the Haversian canal (the central porosity of the osteon). Their analysis is discussed in the following sections.

5.3.3 A significant interaction between the remodelling process and the mechanical behavior

The evolution of stresses, strains and the Young moduli are investigated at different sites : the homogeneous matrix Ω_m , and, in Ω_o , the osteonitic lamellae, the cement line and the Haversian canal, which are defined in figure 5.15. We can recall that the two phenomena (damage and remodelling) do not occur in the same region. The subsequent evolution of mechanical parameters in Ω_o are thus only due to the bone remodelling process, so that its influence is shown up.

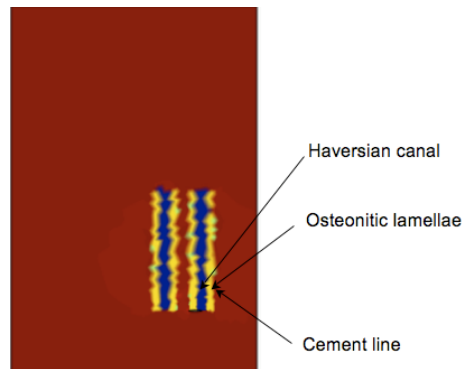


Figure 5.15 – Localisation of the sites of interest in the holed microstructure

A step by step controlled evolution of the Young modulus in Ω_o

The Young modulus is the key parameter of the biological process in this model : each bone remodelling phase is characterized by the evolution of the Young modulus value, which is respectively illustrated in the osteonitic lamella, the cement line and the Haversian canal (figures 5.16 (a), (b) and (c)).

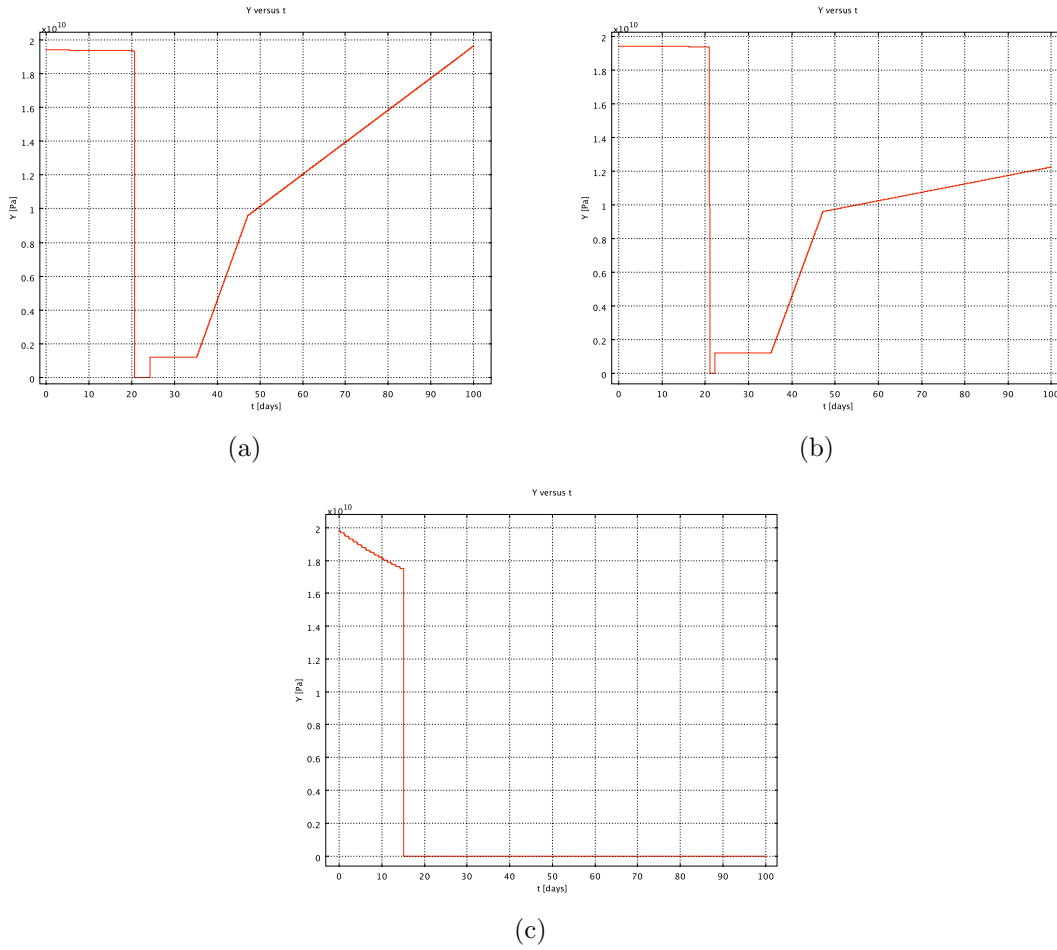


Figure 5.16 – Representative evolution of the Young modulus Y (in Pa) of each bone remodelling phases in different sites in Ω_o . (a) osteonitic lamella ; (b) cement line ; (c) Osteocytic lacuna/ Haversian canal

The Haversian canal (figure 5.16 (c)) is initiated from the porosity. A progressive decrease of the Young modulus value due to damage is observed. The sudden fall of the Young modulus, caused by the bone resorption, gives the activation time t_0 , which is here equal to about 152,000 cycles (i.e. about 15 "days"). Then, this value is almost vanishing because no material is created in the domain anymore.

The figures 5.16 (a) and (b) show that, before the start of the remodelling process, the damage far from the porosity, is weak. Then, appears the resorption phase (at the time θ_r) which begins earlier in the future osteonitic lamellae (the area nearest to the center of the resorption front, 5.17 (a)) than in the cement line (in the periphery of the resorption front, 5.17 (b)). The evolution of the semi ellipsoid geometry of the resorption front is thus captured. Then, the apposition is achieved from the peripheral lamella towards the center of Ω_o . The resorption period T_r , associa-

ted with a very small value of the Young modulus Y_r , is thus shorter in the cement line than in the osteonitic lamellae. After the apposition of collagen and non mineral materials, mineralization occurs in two steps, the first one being shorter. The spatial evolution of the Young modulus is quite similar in the osteonitic lamellae and the cement line excepted that the second mineralization rate is different and results in a lower final Young modulus value in the cement line.

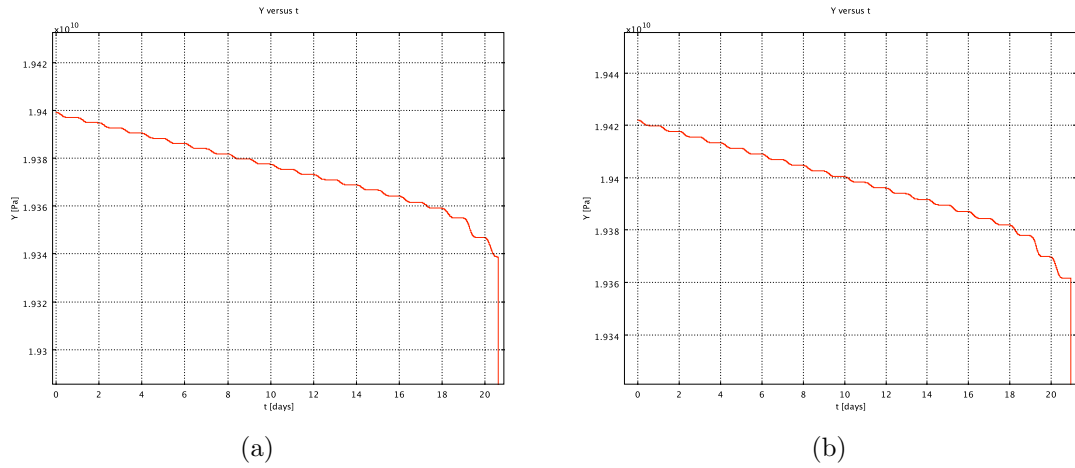


Figure 5.17 – An earlier resorption in the osteonitic lamellae (a) compared to in the cement line (b) showed by the evolution of the remodelling Young modulus Y (in Pa) in Ω_o

Subsequent evolution of the von Mises stress and of the equivalent strain

The von Mises stress, almost equal to the principal stress along the loading direction \underline{n} and the equivalent strain evolutions are represented in the figure 5.18 (a) and (b) respectively.

Whereas a stress concentration is detected near the osteocytic lacuna when damage happens (from 230 to 210 MPa), the stress value is about 40 MPa in the matrix (5.18(a)). The damage value is relatively low before remodelling begins but the strain value increases sufficiently to trigger remodelling (figure 5.18(b)). The arrival of the resorption front implies a large stress and strain increase (5.18 (a) and (b)) (about 50-70 MPa and 5-8 10^{-3} respectively).

During the resorption phase, a strain increase is noted. However, as a consequence of the decrease of the elastic modulus, according to the constitutive equation, the

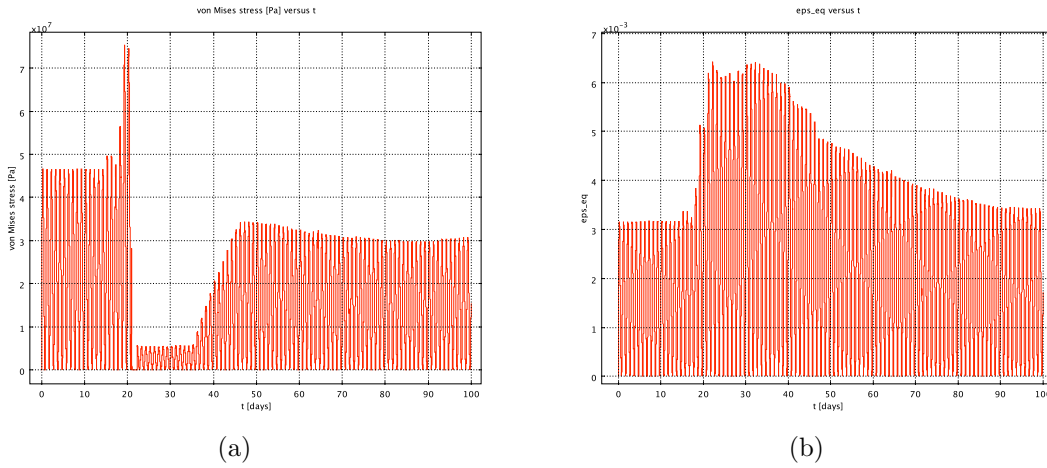


Figure 5.18 – Characteristic evolution in the osteonitic lamella of the von Mises stress σ (in Pa) (a) and of the equivalent strain ϵ (b)

stresses vanish almost everywhere in the lamellae (osteonitic and cement line). The apposition of non mineral materials induces an increase of the stress and strain values while, during the mineralization phase, a gradual decrease is observed. When bone remodelling occurs, the stress values are, in general, less than 35 MPa and the strain in Ω_m are still less than $4 \cdot 10^{-3}$.

Consequence of the remodelling process on the mechanical behavior in the matrix and near the osteocytic lacuna

An outstanding influence of the bone remodelling process on the mechanical parameters in the area of the matrix Ω_m , which is no remodelled, is noticed. Figure 5.19 illustrates this observation.

The degradation of the Young modulus E_m in the matrix Ω_m , due to damage and when remodelling occurs in the neighborhood, is low but not insignificant and is higher near the remodelling domain (5.19 (b)) than far from it (5.19 (a)). Besides, an inflection point is notable at the time corresponding to the beginning of the resorption phase θ_r . The influence of the osteon generation on the mechanical fields of the matrix Ω_m is thus demonstrated.

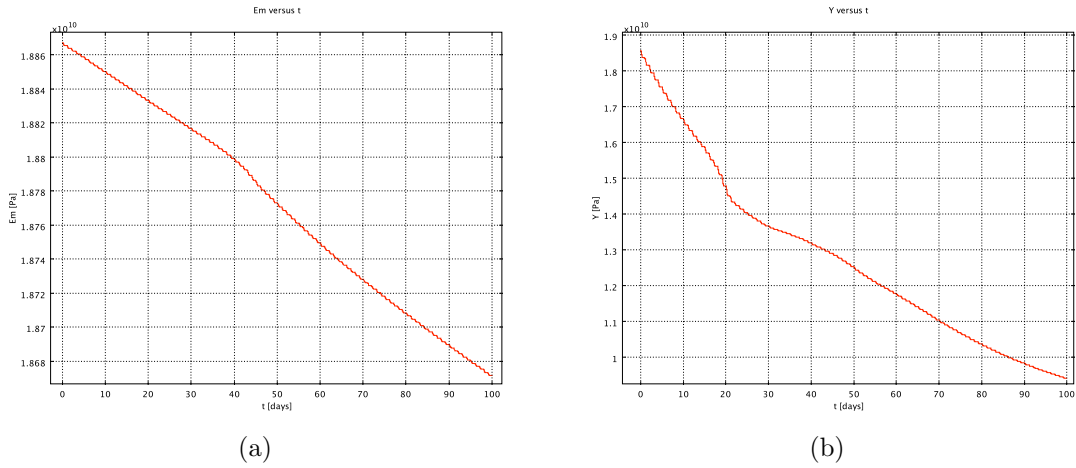


Figure 5.19 – Evolution of the Young modulus E (in Pa) : (a) in Ω_m (center of the damageable matrix) ; (b) in Ω_m , near the osteocytic porosity

5.4 Conclusions

Under the general assumptions of the present model, the stress values increase during the resorption phase on the boundaries of the front resorption (figure 5.14(e)) while they decrease gradually during the apposition and the mineralization phases (5.14(f) and (g)). The spatial influence of the stress field expands thus progressively, especially along the transversal direction, when resorption occurs, and decreases during the formation phase. The strains evolve likewise with the difference that the spatial effect is more pronounced along the longitudinal direction (5.14(i), (j) and (k)). The generation of two osteons also induces high stresses and strains in the domain localized between them.

With respect to these observations, a space and time-dependence of the stress and strain fields is revealed. According to the site and the time observed, the stresses as the equivalent strains evolve quite rapidly with the bone remodelling process. Consequently, the significance of the temporal simulation of the remodelling is shown up.

The remarkable influence of the bone remodelling process on both the remodelling domain Ω_o and on the surrounding matrix Ω_m is illustrated through the simple case presented here at a microscopical point of view. Interaction between the remodelling process and the local mechanical parameters is pointed out and shows the relevance of such investigation to better understand both the mechanical behavior

of cortical bone, especially bone damage, and the bone remodelling process. The numerical simulation also reveals the remodelling phenomenon as a self sustained process. Indeed, it locally induces a strain increase which may lead to activate the generation of another osteon. *In vivo*, the immobilization case, where remodelling activation frequency is so high that only bone resorption occurs because there is no time enough to allow formation of new bone, seems to validate this observation.

Some simplifications, relative to the osteon generation, are nevertheless supposed to simplify the representation of the remodelling process. In the present model, the osteonitic lamellae, excepted the cement line, are considered homogeneous. Similarly, the osteons could only grow in the longitudinal direction albeit, *in vivo*, they could be bidirectional and are generally inclined. The model is also based on a two dimensional representation under plane stress conditions. Nevertheless, the consideration of the third dimension seems important to best describe mechanical and biological phenomena. The model is also based on isotropic laws and does not take account of the bone anisotropy.

Yet, these simplifications have been assumed to set up the model of osteon generation in human microstructure, the main purpose consisting in the simulation of the time-adaptation of cortical bone due to changes in the mechanical environment. To describe this complex biological process independently of the finite element mesh, internal variables associated with evolution laws in the form of ordinary differential equations are used.

The scenario of bone remodelling as well as the interest of the study are here checked. The consideration of *in vivo* frequencies of loading together with real human microstructures is now required.

Chapitre 6

Two-time-scale fatigue modelling : application to damage

6.1 Introduction

Simuler l'accumulation d'endommagement consécutive aux chargements cycliques semble important pour mieux comprendre l'activation du remodelage osseux. Toutefois, on remarque que le temps intrinsèque (durée de vie de l'os de plusieurs dizaines d'années) est bien plus long que la période des cycles hautes fréquences (de l'ordre de quelques secondes). Le calcul de ces cycles rapides requiert une modélisation multi-échelle dans le domaine temporel. Dans le présent travail, une approche basée sur la méthode décrite par Guenounni et Aubry [128] est effectuée, le problème mécanique étant séparé selon deux échelles de temps. Une méthode de développement asymptotique permet alors la simulation de l'évolution moyenne des champs mécaniques ainsi que des chargements cycliques rapides. Le temps "lent" correspond au chargement cyclique quasi statique dont la période est fixé à un cycle par jour et le temps "rapide" est associé au chargement cyclique haute fréquence (fréquence de 10^4 soit 10 000 cycles par jour).

Partant d'un modèle d'endommagement classique, on construit ainsi un modèle d'endommagement cyclique, qui permet théoriquement de formuler la durée de vie du matériau osseux.

Après avoir décrit la loi d'endommagement utilisée et présenté la méthode d'homogénéisation temporelle, une illustration du couplage entre l'évolution de l'endom-

magement et le comportement cyclique moyenné est réalisée sur un cas simple en simulant des chargements cycliques en compression au sein d'une matrice "osseuse" percée. Une application plus complète est décrite au chapitre suivant.

6.2 Bone damage constitutive equation

Many studies have been dedicated to bone damage [78] [77] [98] [104]. Our objective here is not to provide an exhaustive analysis of the merits of each model but only to choose a representative one which will serve the purpose of illustrating the homogenization technique presented subsequently. Thus, we restrict here our attention to a simple isotropic damage model using the damage itself D as the unique internal variable.

A classical damage model requires two ingredients. The first one is related to the stress-strain relationship :

$$\sigma = E_D (\bar{\lambda} \text{tr}(\varepsilon) I + 2\bar{\mu} \varepsilon) \quad (6.1)$$

with σ and ε the Cauchy stress and small strain tensors respectively. $\bar{\lambda} = \frac{\nu}{(1-2\nu)(1+\nu)}$ and $\bar{\mu} = \frac{1}{2(1+\nu)}$ are the normalized Lamé coefficients and E_D the damageable Young modulus.

The second one is the evolution equation of the damage which, for bone, as suggested by Frondrk [104], based on his experimental studies, is given by :

$$\frac{dD}{dt} = B \left[\frac{1-D}{\varepsilon_I} \right] \left[\frac{\sigma_I}{\sigma_r} \right]^N \quad (6.2)$$

with σ_I , ε_I , the major principal stress and strain, σ_r a constant reference stress, B and N some material constants. It should be already noted that, because of the assumption of the material isotropy :

$$\sigma_I = (1-D)(\lambda + 2\mu)\varepsilon_I \quad (6.3)$$

so that the previous equation 6.2 may be written by elimination of σ_I :

$$\frac{dD}{dt} = B \left[\frac{\lambda + 2\mu}{\sigma_r} \right]^N (1 - D)^{N+1} \varepsilon_I^{N-1} \quad (6.4)$$

or simply

$$\frac{dD}{dt} = \beta (1 - D)^{N+1} \varepsilon_I^{N-1} \quad (6.5)$$

where $\beta = B \left[\frac{\lambda + 2\mu}{\sigma_r} \right]^N$.

Other authors, like Pattin [78] and Kachanov [104], proposed different evolution models, which could be used with the following method of time homogenization as well.

Finally, the stresses should satisfy the usual equilibrium equation 6.6 where Div is the divergence operator :

$$Div \sigma = 0 \quad (6.6)$$

because we do not consider here body forces. On the boundary, the stress vector should match surface forces :

$$\sigma(n) = f_b \quad (6.7)$$

where f_b stands for the surface load and n is the outer unit vector normal to the boundary.

6.3 A two time scales fatigue simulation

We assume that the loading on the boundary is made of two parts, dependent of the spatial domain, one which varies slowly, the second rapidly :

$$f_b(t) = f_{bs}(t) + f_{bf}\left(\frac{t}{\xi}\right) \quad (6.8)$$

where $\frac{t}{\xi}$ is attached to fast or high frequency cycles and varies very rapidly.

We define the time dependent quantity τ as :

$$\tau = \frac{t}{\xi} \quad (6.9)$$

As mentioned at the beginning of this chapter, as in the case of every fatigue analysis, two time scales are present in the study. The first is related to the daily fast cycles which is called the fast time τ , whose characteristic period is T , and the other t is related to the static loading and low frequency cycles. In many cases, ξ could take the fixed value T .

Obviously, it is not possible to follow numerically every fast cycle for a few months. The strategy proposed here consists in building a time average technique which allows to compute low frequency cycles only, which are, however, marginally modified by high frequency ones.

Although space homogenization is discussed at length in the litterature, few methods exist on time homogenization. Some years ago, Guenounni and Aubry [128] presented a homogenization method based on a temporal asymptotic development to assess the evolution of mechanical properties of structures submitted to cyclic loading. The model was illustrated in the case of viscoplasticity. Recently, Oskay and Fish [127] modelled fatigue of structures as a multiscale phenomenon in time domain. Due to the discrepancy between the load period and lifetime, a mathematical homogenization technique with two temporal coordinates was carried out. The computational study was proposed in the context of continuum damage mechanics on damage growth and cracks propagation. Starting with the first method [128] , we define and give the main outline of a new approach of temporal homogenization applied to fatigue damage.

6.3.1 General assumptions

In this study, the time unit is the day. Frequencies are of the order of one day⁻¹ for the slow time t and of 10^4 day⁻¹ for the fast one τ .

Each variable is assumed to depend simultaneously of both time scales t and τ and to be periodic with period T with respect to the fast time variable τ . The following notations will be used with respect to the time derivatives of a function $\alpha(t, \tau)$, which may also be dependent of the spatial domain :

$$\dot{\alpha} = \frac{\partial \alpha}{\partial t} \quad (6.10)$$

$$\alpha' = \frac{\partial \alpha}{\partial \tau} \quad (6.11)$$

Similarly, the average value $\langle \alpha \rangle$ of the function α is given by :

$$\langle \alpha(t, \tau) \rangle = \frac{1}{T} \int_0^T \alpha(t, \tau) d\tau \quad (6.12)$$

The periodicity assumption with respect to the fast period implies that :

$$\langle \alpha(t, \tau)' \rangle = 0 \quad (6.13)$$

6.3.2 Series expansion with respect to small period

Each variable is expanded according to the following asymptotic expansion regarding ξ which gives for the strain ε :

$$\varepsilon(t, \tau) = \varepsilon_0(t, \tau) + \xi \varepsilon_1(t, \tau) + O(\xi^2) \quad (6.14)$$

with $O()$, the Landau notation.

Using the total differentiation rule $d(\cdot)/dt$, derivatives are decomposed according to :

$$\frac{d\varepsilon}{dt} = \frac{\partial \varepsilon}{\partial t} + \frac{1}{\xi} \frac{\partial \varepsilon}{\partial \tau} = \dot{\varepsilon} + \frac{1}{\xi} \varepsilon' \quad (6.15)$$

Using the preceding expansion, we obtain, for the strain :

$$\frac{d\varepsilon}{dt} = \frac{1}{\xi} \varepsilon'_0 + \dot{\varepsilon}_0 + \varepsilon'_1 + \xi (\dot{\varepsilon}_1 + \varepsilon'_2) + O(\xi^2) \quad (6.16)$$

and for the damage variable :

$$\frac{dD}{dt} = \frac{1}{\xi} D'_0 + \dot{D}_0 + D'_1 + \xi (\dot{D}_1 + D'_2) + O(\xi^2) \quad (6.17)$$

Now, if we invoke the damage evolution (equation 6.5), we get, by expanding the strain eigenvalue ε_I :

$$\frac{1}{\xi} D'_0 + \dot{D}_0 + D'_1 + \xi \dot{D}_1 = \beta (1 - D_0 - \xi D_1)^{N+1} (\varepsilon_{I_0} + \xi \varepsilon_{I_1})^{N-1} \quad (6.18)$$

As N is assumed at least larger than 2, we obtain :

– at -1-order of ξ :

$$D'_0 = 0 \quad (6.19)$$

– at the zeroth order :

$$\dot{D}_0 + D'_1 = \beta (1 - D_0)^{N+1} \varepsilon_{I_0}^{N-1} \quad (6.20)$$

The -1 order implies that :

$$D_0(t, \tau) = D_0(t) \quad (6.21)$$

and taking the average of the zeroth order term (equation 6.20) :

$$\dot{D}_0 = \beta (1 - D_0)^{N+1} \langle \varepsilon_{I_0}(t, \tau)^{N-1} \rangle \quad (6.22)$$

Thus, we see that the slow evolution of the damage variable is depending on the fast time through the principal strain term only. The dependence with respect to the fast time τ is exhibited in the next paragraph.

6.3.3 Separation of the two time scales

The displacement u satisfies the equilibrium equation 6.6 inside the domain :

$$Div [(1 - D) C \varepsilon(u(t, \tau))] = 0 \quad (6.23)$$

and, on the boundary :

$$[(1 - D) C \varepsilon(u(t, \tau))] \cdot n = f_{bs}(t) + f_{bf}(\tau) \quad (6.24)$$

At the zeroth order, these equations read :

$$Div [(1 - D_0) C \varepsilon(u_0(t, \tau))] = 0 \quad (6.25)$$

$$[(1 - D_0) C \varepsilon(u_0(t, \tau))] \cdot n = f_{bs}(t) + f_{bf}(\tau) \quad (6.26)$$

Because the damage D_0 does not depend on the fast time, it is possible to split the displacement into two parts, first with $u_{0_s}(t)$ which satisfies a slow time equation :

$$Div [(1 - D_0(t)) C \varepsilon(u_{0_s}(t))] = 0 \quad (6.27)$$

$$[(1 - D_0(t)) C \varepsilon(u_{0_s}(t))] \cdot n = f_{bs}(t) \quad (6.28)$$

and secondly with $u_{0_f}(t, \tau)$ which satisfies a coupled fast and slow time equation :

$$Div [(1 - D_0(t)) C \varepsilon(u_{0_f}(t, \tau))] = 0 \quad (6.29)$$

$$[(1 - D_0(t)) C \varepsilon(u_{0_f}(t, \tau))] \cdot n = f_{bf}(\tau) \quad (6.30)$$

so that :

$$u_0(t, \tau) = u_{0_s}(t) + u_{0_f}(t, \tau) \quad (6.31)$$

Using this decomposition, the average evolution of the damage may be written :

$$\dot{D}_0(t) = \beta (1 - D_0(t))^{N+1} \langle \varepsilon_I(u_{0_s}(t) + u_{0_f}(t, \tau))^{N-1} \rangle \quad (6.32)$$

where it is recalled that ε_I stands for the major principal strain.

It is important to stress that the fast time displacement u_{0_f} is depending linearly on the loading f_{bf} . To go further, let us assume that the fast loading may be given as a product of a time dependent factor $\alpha_{bf}(\tau)$ with a spatial loading mode $\hat{f}_{bf}(x)$:

$$f_{bf}(\tau, x) = \alpha_{bf}(\tau) \hat{f}_{bf}(x) \quad (6.33)$$

Then, clearly :

$$u_{0_f}(t, \tau) = \alpha_{bf}(\tau) \hat{u}_{0_f}(t) \quad (6.34)$$

where \hat{u}_{0_f} corresponds to a constant unit amplitude surface load.

Finally, the fast part of damage evolution is simply identified by the given scalar factor $\alpha_{bf}(\tau)$:

$$\dot{D}_0(t) = \beta (1 - D_0(t))^{N+1} < \varepsilon_I(u_{0_s}(t) + \alpha_{bf}(\tau) \hat{u}_{0_f}(t))^{N-1} > \quad (6.35)$$

This last formula is extremely interesting : it shows that the two displacement fields u_{0_s} and even \hat{u}_{0_f} may be computed with respect to the slow time only. The slow evolution of the damage is adjusted locally by taking the average value with respect to this known scalar coefficient α_{bf} . Obviously, the involved numerical procedure is much less costly than the one computing every fast cycle. If we can assume that α_{bf} is small, it is possible to use perturbation theory to get an approximation of the major strain eigenvalue. Indeed, given the two matrices A and B and the eigenvector φ of A associated with the eigenvalue λ , to the first order, we get :

$$\lambda(A + \alpha B) = \lambda(A) + \alpha(B(\varphi), \varphi)$$

Using this result, the evolution law can be approximated by :

$$\dot{D}_0 = \beta (1 - D_0)^{N+1} < [\varepsilon_I(\varepsilon(u_{0_s})) + \alpha_{bf}(\tau) (\varepsilon(\hat{u}_{0_f})(\varphi_{0_s}), \varphi_{0_s})]^{N-1} >$$

where φ_{0_s} stand for the principal directions of the strain tensor associated with u_{0_s} , and all the quantities except α_{bf} are depending on the slow time only. We thus arrive at an explicit expression of the damage evolution law. Again, when the cyclic

perturbation is small, the power term can be approximated by the explicit formula :

$$\dot{D}_0 = \beta (1 - D_0)^{N+1} \varepsilon_I(\varepsilon(u_{0_s}))^{N-1} \left[1 + (N-1) \langle \alpha_{bf}(\tau) \rangle \frac{(\varepsilon(\hat{u}_{0_f})(\varphi_{0_s}), \varphi_{0_s})}{\varepsilon_I(\varepsilon(u_{0_s}))} \right]$$

The lifetime fatigue criterion is thus given by the time t_{life} which is the solution of :

$$1 - D_0(0) = \int_0^{t_{life}} \dot{D}_0 dt$$

A first bone fatigue damage criterion is here established. It is essentially based on the zeroth order which allows a quite fast approximation of the lifetime. This lifetime results from the addition of a pure slow time contribution and a complementary term taking into account the mean effect of the fast time load combined with both the quasi static and slow time displacement solutions.

6.4 Validation of the time homogenization method

6.4.1 Definition of the example

The preceding theory is applied to a simplified geometry, a holed matrix.

Three cases are investigated :

- The "full" computation considers the low and the high frequency cycles together in the same mechanical problem without application of the time homogenization method. This case is the case of reference.
- The "low frequency" computation only takes the low frequency cycle (t) into account. The high frequency cycles (τ) are not considered.
- The "homogenized" computation addresses the low and high frequency cycles together using the time homogenization method exposed previously, trying to take the effect of the high frequency cycles into account without calculating them explicitly.

Comparisons between the three cases are achieved in the following.

A linear elastic isotropic rectangular matrix with a centered elliptical hole, is considered. This matrix is damageable. The damage law used is the one proposed by Frondrk previously presented. The "low frequency" case and the full computation are based on the damage equation 6.2, recalled here

$$\frac{dD}{dt} = B \left[\frac{1-D}{\varepsilon_I} \right] \left[\frac{\sigma_I}{\sigma_r} \right]^{N+1} \quad (6.36)$$

and the homogenized computation on the damage equation 6.35

$$\dot{D}_0 = \beta (1 - D_0)^{N+1} \langle \varepsilon_I(u_{0_s}(t) + \alpha_{bf}(\tau) \hat{u}_{0_f}(t))^{N-1} \rangle \quad (6.37)$$

In every case, we suppose the matrix is initially slightly damaged with D_{init} set to 10^{-4} .

The matrix is submitted to a cyclic loading in compression. The boundary conditions are therefore :

$$[[1 - D_0(t)] C \varepsilon(u_0(t, \tau))] \cdot n = f_{b_s}(t) + f_{b_f}(\tau) \quad (6.38)$$

with $f_{b_s}(t) = f_0 + f_1 \sin(2\pi t)$ and $f_{b_f}(\tau = \frac{t}{\xi}) = f_2 \sin(2\pi \frac{t}{\xi})$. f_0 , f_1 and f_2 are some constants and ξ is set to 10^{-4} day^{-1} .

The material properties of the matrix are an initial Young modulus E_{init} of 20 GPa, a Poisson's ratio ν of 0.35 and a density ρ of 1,990 kg/m³. B is a constant set to 1, N a material constant fixed to 3 and σ_r to 100 MPa.

We suppose the major principal stress and strain may be approximated by the stress and strain component along the loading direction y . Thus, $\sigma_I \sim \sigma_y$, $\varepsilon_I \sim \varepsilon_y \dots$. Simulations are performed on one day, i.e. on the interval $[0; 1]$. During this period, one low frequency cycle and ten thousand high frequency cycles occur simultaneously. Time steps are fixed to 10^{-3} and 10^{-5} for the homogenized and full computation respectively. Indeed, a smaller time step is required in the full simulation to capture the high frequency cycles. Triangular quadratic Lagrange elements are used for the usual mechanical unknowns and constant discontinuous elements for the ordinary differential equation associated with the damage variable.

6.4.2 Comparison between the low frequency case, the full and the homogenized computations

For the three cases mentioned previously, comparisons between the obtained values of the damage variable D and the strain ε_y are achieved. Two areas are analysed : far from the hole and on the lateral side of the hole, which obviously experiences stress and strain concentrations. In the following, the graphics illustrate the homogenized output in blue, the full computation in purple and the "low frequency" model in red. It is recalled that the damage variable D is associated with the decrease of the stiffness subsequent to fatigue damage.

First, we give the temporal evolution of D far from the hole in Figure 6.1, which is enlarged in the interval $[0; 0.2]$ then near the lateral side in Figure 6.2, enlarged in the interval $[0; 0.1]$.

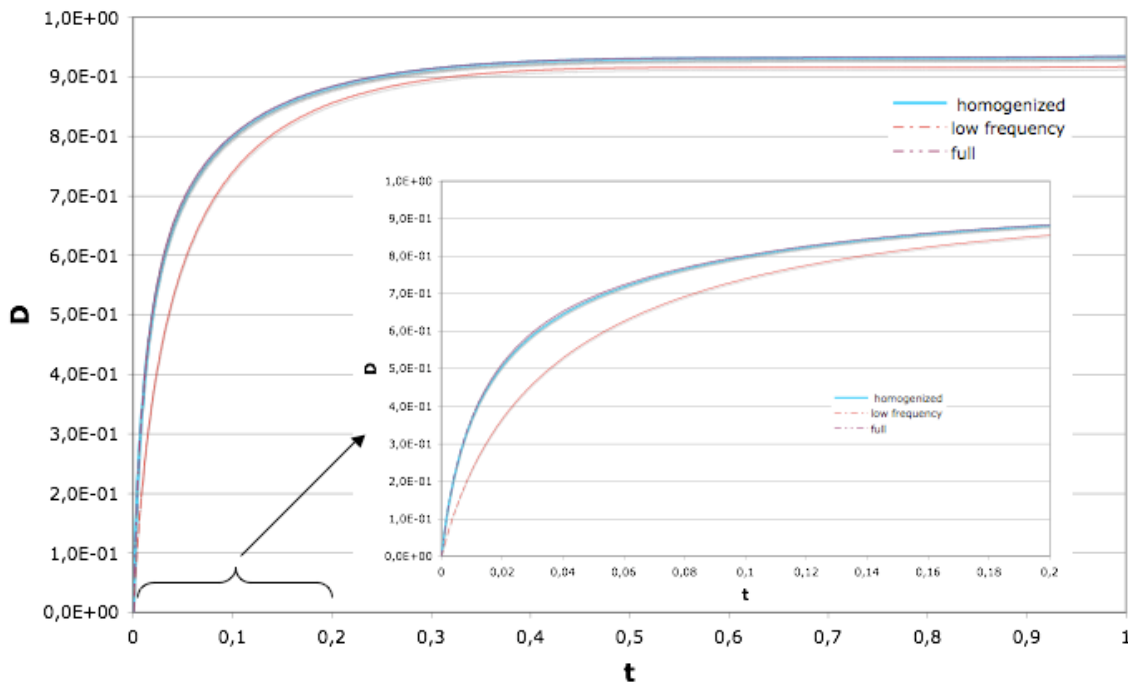


Figure 6.1 – Damage evolution far from the elliptic hole

The "full" or reference computation and the homogenized one are quite similar. The "low" case is obviously different : the comparison with the "full" computation shows why it is important to consider the high frequency cycles in the damage modelling.

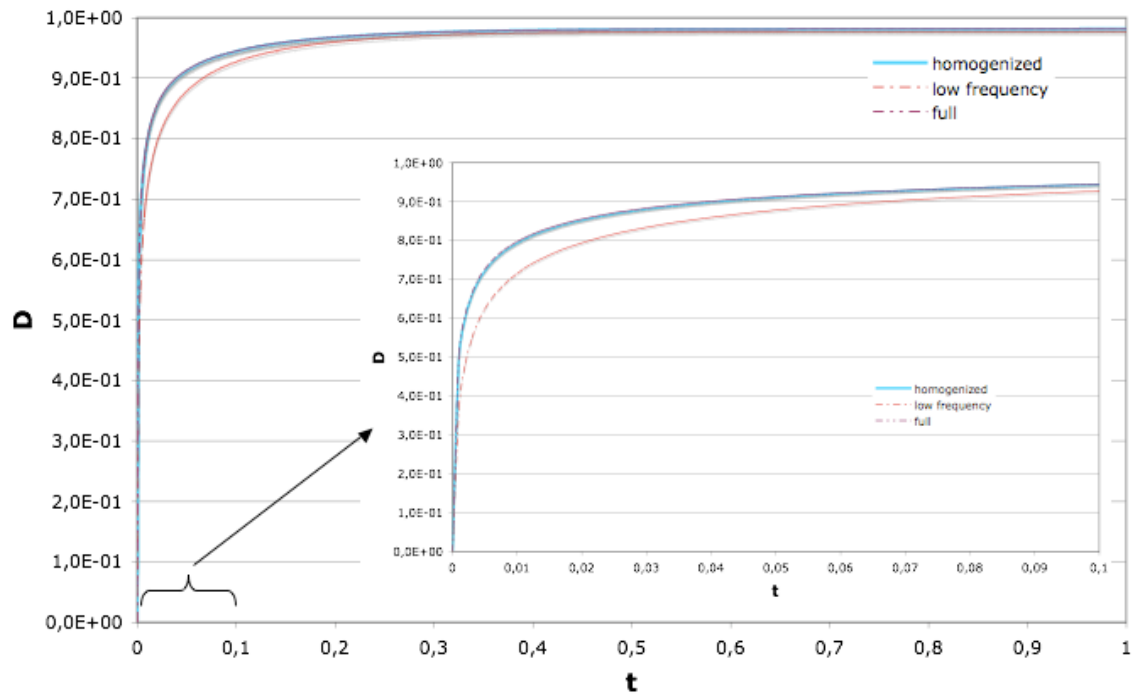


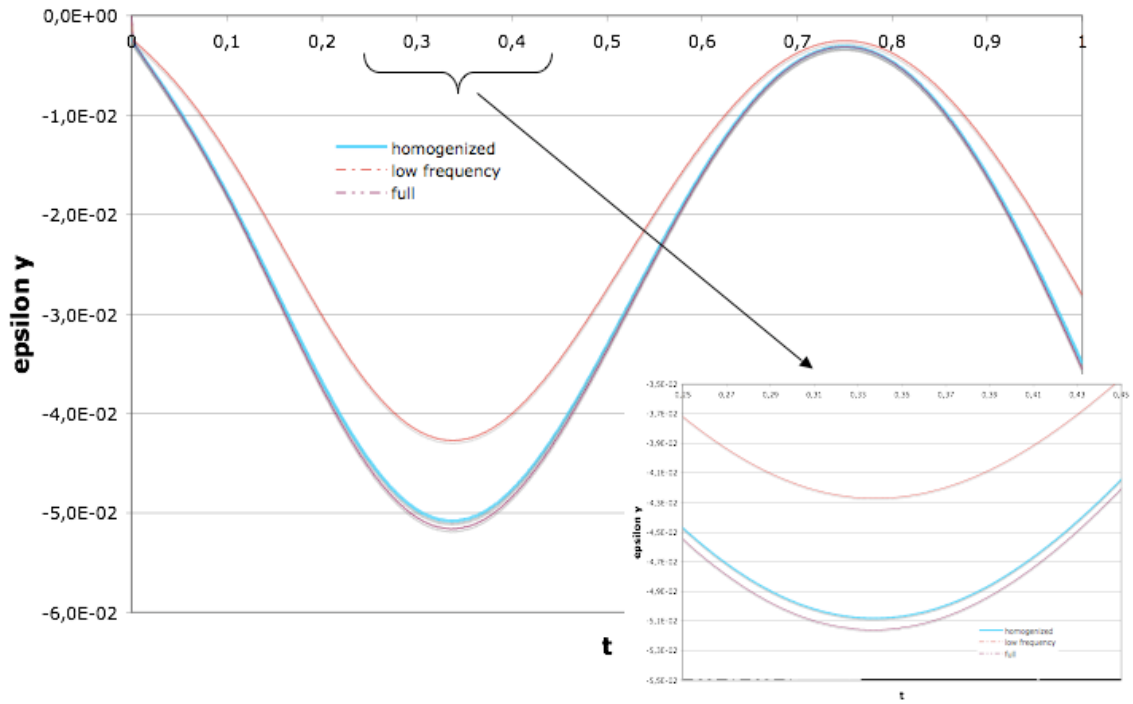
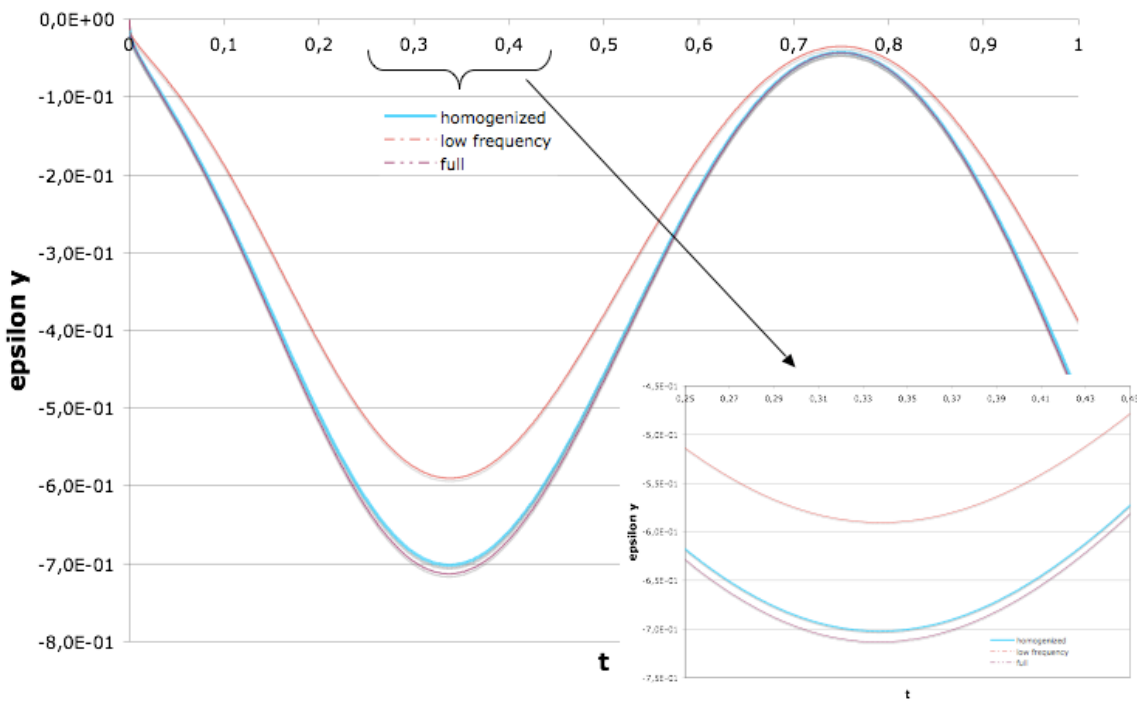
Figure 6.2 – Damage evolution in the lateral side of the elliptic hole

The damage increases faster, especially at the beginning, when the high frequency cycles are considered, which still proves it is worth taking them into account. Nevertheless, the discrepancy decreases progressively (see Tables 6.2 and 6.4). The damage value is obviously higher near the lateral side of the hole, which experiences stress and strain concentrations, than far from it (see Tables 6.1 and 6.3).

The longitudinal normal strain evolution associated with the previous evolution of the damage variable D through the constitutive equation 6.6 is given in Figures 6.3 and 6.4 far from the hole and near the lateral side of the hole respectively. Those figures are magnified in the interval $[0.25; 0.45]$.

As expected, the strain values are higher near the lateral side than far from it but the maximal discrepancy between the three models occurs when the load is maximal and is quite similar in both areas (Tables 6.2 and 6.4).

The following tables show the range of values of some mechanical quantities and the subsequent discrepancies e between the three models respectively in areas far from the elliptical hole (Tables 6.1 and 6.2) and near its lateral side (Tables 6.3 and

Figure 6.3 – Longitudinal normal strain ε_y evolution far from the elliptic holeFigure 6.4 – Longitudinal normal strain ε_y evolution in the lateral side of the elliptic hole

6.4).

Far from the hole			
ratio :	homogenized	full	low frequency
σ_y (MPa)	[5 ; 105]	[5 ; 105]	[5 ; 105]
ε_y (%)	[0 ; -5.1]	[0 ; -5.2]	[0 ; -4.1]
D	0.93	0.93	0.91

Tableau 6.1 – Range of values for quantities associated with homogenized, full and low frequency computations (σ_y , the stress, ε_y , the strain in the loading direction and D , the damage variable).

ratio :	homogenized / full	full / low frequency
e_{ε_y} (%)	1.61	20
e_D (%)	0.12	1.75

Tableau 6.2 – Values of the maximal relative error (e) between quantities associated with homogenized, full and low frequency simulations, far from the hole.

On the lateral side of the hole			
ratio :	homogenized	full	low frequency
σ_y (MPa)	[5 ; 355]	[5 ; 355]	[5 ; 355]
ε_y (%)	[0 ; -7]	[0 ; -7.1]	[0 ; -5.9]
D	0.98	0.98	0.975

Tableau 6.3 – Range of values for quantities associated with homogenized, full and low frequency computations, on the lateral side of the hole (σ_y , the stress, ε_y , the strain in the loading direction and D , the damage variable).

ratio :	homogenized / full	full / low frequency
e_{ε_y} (%)	1.62	20
e_D (%)	0.03	0.46

Tableau 6.4 – Values of the maximal relative error (e) between quantities associated with homogenized, full and low frequency simulations, on the lateral side of the hole.

The discrepancy for the damage variable D between the homogenized and full computations on the one hand and the low frequency calculation in the other hand is maximal at the beginning of the calculation then decreases progressively until it reaches the value 0.46% and 0.49% respectively near the lateral side of the hole and

1.75% and 1.86% far from it.

Obviously, the strain field is more affected by the temporal homogenization method because it depends on the damage field through the constitutive equation. Indeed, the discrepancy reaches about 20% between both cases, when the high frequency cycles are considered, and the case with the low frequency cycles case only (one cycle per day), is examined.

We conclude that the relative error between time homogenized and non homogenized stiffness is very low, even negligible ($\lll 1\%$) when stress and strain are in the physiological range and low (about 6%) for very high stresses. We should also note that the reduction of computation costs through the temporal homogenization method is very significant. The computation time is less than one minute for the time homogenized model and the low frequency one (time step of 10^{-3}) but exceeds six hours for the non homogenized (or full) model (time step of 10^{-5}).

The damage evolution law induces a very significant fast decrease of the stiffness. This choice allows to demonstrate the efficiency of the time homogenization achieved because when a slower evolution is considered, no difference is really observable. Moreover, the stress magnitude of the fast problem is chosen large enough to allow the examination of the influence of the stress field.

6.5 Conclusion

The time homogenization method proposed herein allows the resolution of a two time scale issue, especially applied to damage fatigue simulation. This method is based on an asymptotic expansion technique, which allows the computation of the mean evolution together with the local fast cycles loadings. The scaling parameter is defined by the ratio ξ between the material intrinsic time, associated with a quasi static load (low frequency cycles) and the high frequency cycles of the fast loading.

The average value of the zeroth order of the variables expansion leads to the resolution of the long-term response. The oscillatory or high frequency response is obtained through the complementary terms of the asymptotic expansion. The

discrepancy on the transient evolution of the damage variable D and the strain between the full computation (low and high frequency cycles resolved in the same problem) and the homogenized one is negligible.

Besides, the modelling seems really very satisfactory with respect to the significant reduction in the amount of time simulation in addition to a very low computation error between time homogenized and non homogenized models, which emphasizes the relevance of the method proposed here. An approximate fatigue damage criterion is also obtained. The dependence of the slow evolution of the damage variable with respect to the fast time is simply due to the strain term and its fast evolution is only identified by a given scalar factor function of τ . Thus, the accumulation of fatigue damage, issued from these high frequency cycles, can be well represented. The method allows thus to decouple the two scales and to take into account history effects.

In the next section, this time homogenization method will be performed on real human bone microstructures. Yet, the example briefly illustrated here demonstrated the ability of our homogenization method to get an approximation of the fatigue damage which could occur *in vivo* in cortical bone and could be really interesting in the prediction of risks of fracture and ageing.

Chapitre 7

A cortical bone remodelling scenario and fatigue damage applied to real human microstructures

7.1 Introduction

La génération d'ostéons au sein de microstructures réelles d'os cortical humain, analysées lors des chapitres expérimentaux précédents, est réalisée dans cette partie. Chaque microstructure est initialement décrite via la distribution de module de Young obtenu par nanoindentation et les images en niveaux de gris issues de la microscopie électronique à balayage.

Le scénario de remodelage osseux ainsi que la méthode d'homogénéisation temporelle, présentés dans les deux chapitres précédents, sont exploités et appliqués aux microstructures réelles. Les lois d'évolutions du module de Young et de l'endommagement sont toutefois légèrement modifiées afin de mieux représenter les phénomènes *in vivo*.

Les facteurs déterminants de l'activation du remodelage font l'objet d'une analyse particulière. On évalue également l'évolution des champs mécaniques lors des différentes phases du remodelage osseux ainsi que la viabilité de la microstructure remodelée et endommagée. Les différentes microstructures sont ensuite comparées

afin de préciser les facteurs mécaniques et morphométriques déterminants.

La plupart des travaux précédents sur le remodelage sont principalement macroscopiques et portent rarement sur l'os cortical humain à l'échelle de l'ostéon (Cf. chapitre Bibliographie 1.4.6). L'intégration simultanée de l'endommagement par fatigue et des déformations comme stimuli, tout comme des données expérimentales au sein de simulations numériques sur des microstructures soumises au remodelage semble également faire défaut. La considération d'un scénario de remodelage à l'échelle microscopique est par ailleurs requise puisque l'hétérogénéité du tissu osseux, qui assure sa résistance, est issue de ce processus biologique [51] [142]. L'endommagement par fatigue qui se produit est considéré via la méthode d'homogénéisation temporelle décrite dans le chapitre précédent. L'analyse de ces deux phénomènes sur l'os cortical humain semble essentiel d'un point de vue médical, notamment dans la prédiction du risque fracturaire et du diagnostic de maladies osseuses comme l'ostéoporose. Les microstructures des fémurs humains qui ont fait l'objet de la partie expérimentale de ce travail sont ainsi implémentées dans un code éléments finis. En particulier, les données mécaniques et morphométriques à l'échelle de la microstructure sont prises en compte. L'effet de couplage entre endommagement par fatigue et remodelage est évalué. Enfin, la viabilité et l'intégrité des microstructures finales sont examinées. La compréhension du vieillissement, de l'endommagement par fatigue et du processus de remodelage osseux de l'os cortical constituent ainsi l'objectif de ce chapitre.

Après avoir brièvement rappelé la provenance des microstructures humaines réelles, leur implémentation dans le code éléments finis ainsi que les conditions initiales et aux limites sont décrites. L'analyse des facteurs influençant l'activation du remodelage, de l'évolution temporelle des variables mécaniques ainsi que de la validité des microstructures finales est ensuite effectuée.

7.2 Data on the experimentally-determined microstructures of human cortical bone

Eight femoral diaphyses of women have been experimentally investigated. We proposed here to compare four of these specimens issued from women of 74, 79, 86 and 91 years old respectively. They correspond to the specimens 1, 2, 6 and 7 analysed in the experimental part of this study and they will be named microstructures 1, 2, 6 and 7 in the following.

Compression tests on parallelepipedic samples, issued from the previous specimens, were achieved under the objective of a light microscope equipped with a DCC camera to observe the evolution of damage at the sample surface. Especially, the stage of cracks initiation was analysed through a technique of Digital Imaging Correlation (DIC) to determine the value of the mean strain associated. This value was set as the threshold value of the equivalent strain ε_{eq0} needed to activate the remodelling process.

In addition to the compression tests, nanoindentation tests were performed on the observation surface of the samples. Nanoindentation allows the measurement of the elastic modulus. About thousands points were indented resulting in a distribution of the Young modulus value of the sample surface. Morphometrical parameters were determined through Scanning Electronic Microscopy (SEM) technique which gives access to the mineral content through the gray levels distribution of the observation surface. Each microstructure is thus described by the local value of the Young modulus and the mineral density issued from the gray levels of the SEM imaging. Besides, a linear relationship between these parameters was demonstrated [139], [143], [46]. We assume, as a simplification, that the mean Young modulus and the standard deviation issued from the whole nanoindentation data of a given sample surface correspond to the mean mineral content and the associated standard deviation.

The numerical simulation is based on a two dimensional model with plane stress assumptions. The material was supposed to be isotropic and damageable. Poisson's ratio was set to 0.35 [63] and the volumic density to 1990 kg/m^3 . The microstructure, corresponding to the observation surface of the experimental sample, is submitted to a cyclic loading in compression, using the time homogenization method together

with the boundary conditions presented in the former chapter 5.

We recall that the remodelling scenario proposed here is initiated only when some activation criteria are checked (Cf. chapter 5). Since microcracks preferentially initiate in interstitial bone (areas where Young modulus is high)([138]), it is assumed that the remodelling process can occur only in regions where initial Young modulus E_0 is above an arbitrary threshold E_{0_T} . Besides, damage induces a deterioration of mechanical parameters and an increase of the strain values. The local equivalent strain value ε_{eq} should thus exceed a threshold value ε_{eq_0} during a characteristic time t_{eq_0} in order to initiate bone remodelling. The activation criteria are set to either an arbitrary strain threshold value ε_{eq_0} of $4 \cdot 10^{-3}$ or the experimental value issued from DIC analysis at the stage of the cracks initiation, an activation time t_{eq_0} of 10 low frequency cycles, related to the so-called "slow time" (quasi static loading), and a Young modulus threshold E_{0_T} of 16 GPa. Two quasi static loading amplitudes (low frequency cycles) can be imposed resulting in compressive stress values of the order of either 100 MPa or 50 MPa.

7.3 Sensitivity analyses of the determining factors for remodelling activation on microstructures 1 and 2

7.3.1 Initial microstructures

The initial finite element microstructures 1 and 2 (in term of Young modulus) and the associated Scanning Electron Microscopy images are shown in 7.1 and 7.2 respectively.

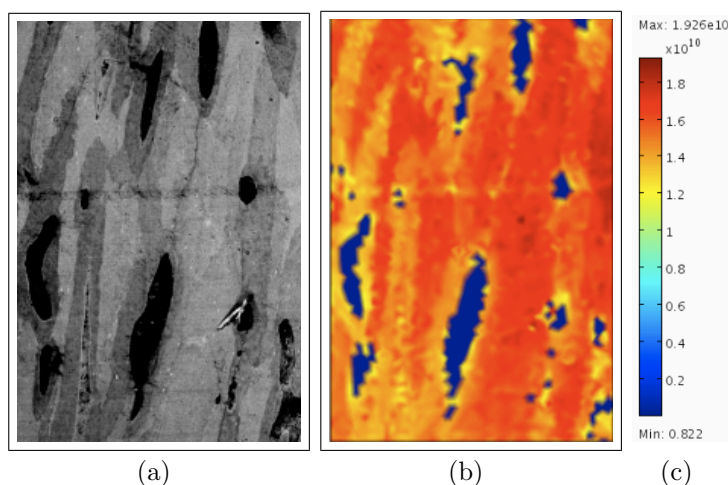


Figure 7.1 – Microstructure 1 : (a) SEM imaging (gray levels), (b) Young modulus distribution before remodelling ($t=0$), (c) scale of the Young modulus value (Pa)

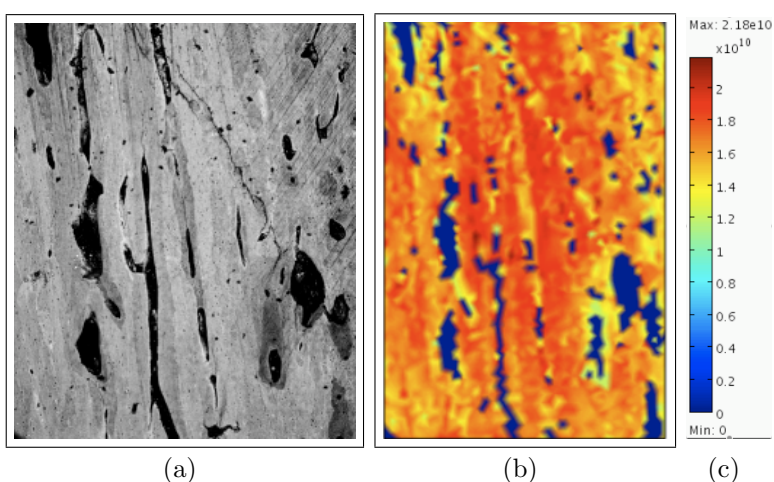


Figure 7.2 – Microstructure 2 : (a) SEM imaging (gray levels), (b) Young modulus distribution before remodelling ($t=0$), (c) scale of the Young modulus value (Pa)

7.3.2 Activation sites

The determination of the different sites and times of activation, whatever the activation criteria and the loading amplitude, is achieved by using the different equations described in 5.2.2.1.

The different sites of activation of the microstructure 1 are described in figure 7.3 and called Ost_α , Ost_β , Ost_δ , Ost_γ , Ost_φ in Figure 7.3(a). Only the activation times differ. The scale 7.3(b) refers to the local Young modulus values attached to the microstructure (porosity in blue, highest value of the Young modulus in red). The symbol P stands for a small porosity in the microstructure which is not kept as a potential site for the Young modulus threshold is not reached albeit the other criteria are checked. In the same way, the different activation sites associated with the microstructure 2 are shown in Figure 7.3(c).

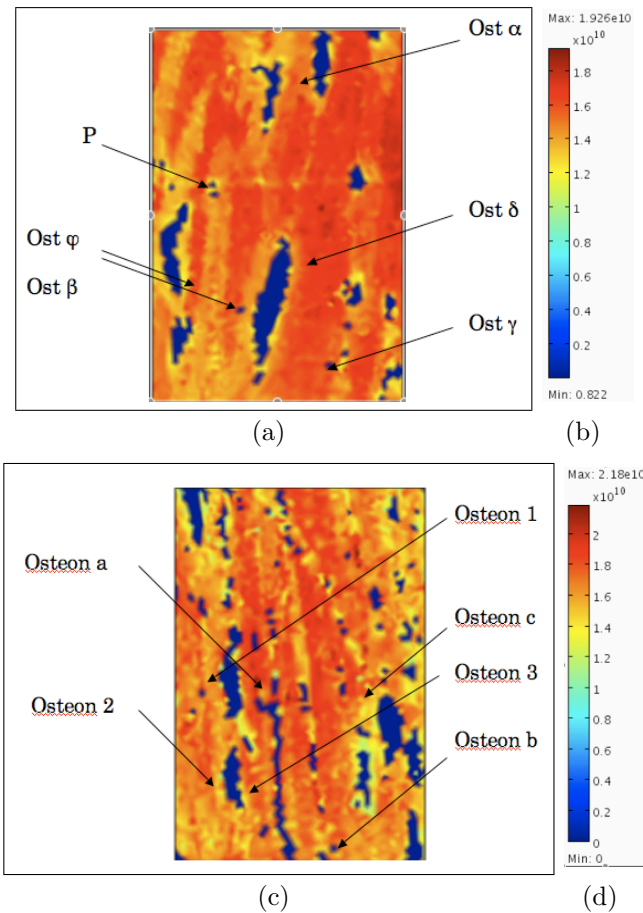


Figure 7.3 – Young modulus distribution ($t = 0$). Activation sites : (a) Microstructure 1, (c) Microstructure 2; (b, d) associated scale of the initial Young modulus value (Pa).

7.3.3 Mechanical fields at the initial state

The initial microstructures 1 and 2 are presented according to the Young modulus, stress and strain distributions in Figures 7.4 and 7.5 respectively. In the following figures, the white color corresponds to the values which exceed the maximal value of the scale. The scales are chosen so that the gradient of color was significant enough to figure the mechanical fields.

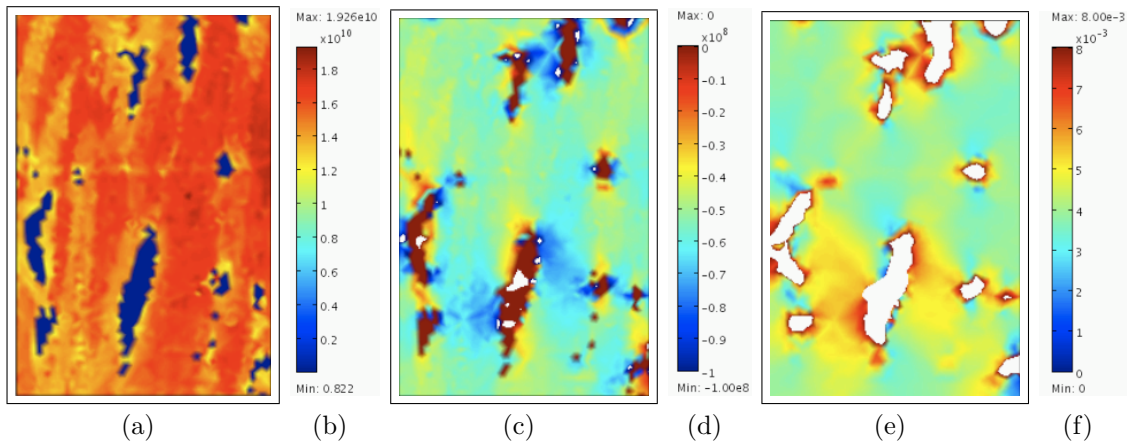


Figure 7.4 – Microstructure 1 before remodelling ($t=0$) : (a) Young modulus distribution; (b) scale of the Young modulus value (Pa); (c) normal longitudinal stress distribution; (d) scale of the stress value (Pa); (e) equivalent strain distribution; (f) scale of the strain value

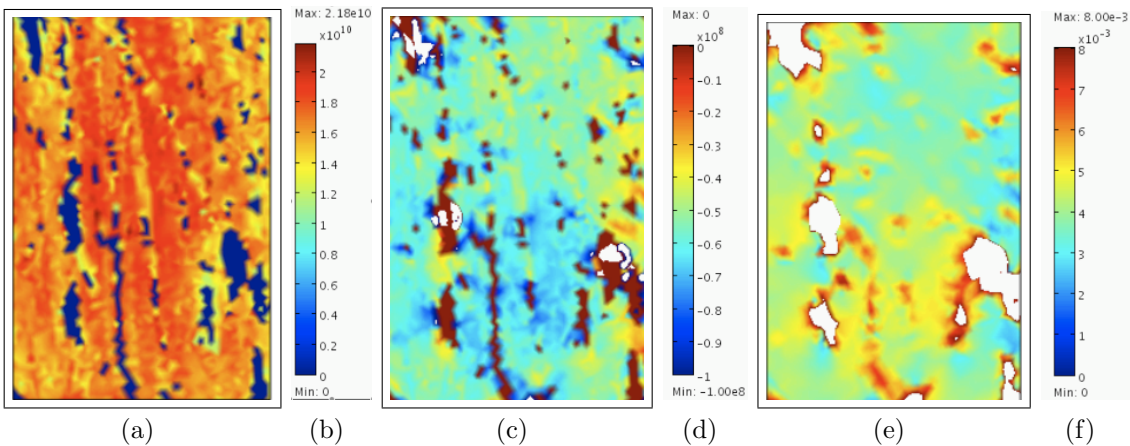


Figure 7.5 – Microstructure 2 before remodelling ($t=0$) : (a) Young modulus distribution; (b) scale of the Young modulus value (Pa); (c) normal longitudinal stress distribution; (d) scale of the stress value (Pa); (e) equivalent strain distribution; (f) scale of the strain value

At the initial state, the Young modulus goes from a quasi null value up to 19.26 GPa for the microstructure 1 and 21.8 GPa for the microstructure 2. In both cases, the normal longitudinal stress and the equivalent strain are inferior to 100 MPa and $8 \cdot 10^{-3}$ respectively. The microstructure 2 has a higher number of small porosities than the microstructure 1. The Young modulus distribution seems also more heterogeneous and slightly higher. For both microstructures, the stress and strain concentrations around the porosities are pointed out starting from the initial state.

7.3.4 Effect of the high frequency cycles

To investigate the effect of the high frequency cycles taking into account with the time homogenization method, we achieved two simulations on the microstructure 1 with and without this method. Thus, the first case considered the low frequency cycles only. In both cases, the activation criterion is chosen to an equivalent strain threshold ε_{eq0} of $4 \cdot 10^{-3}$. A loading amplitude resulting in stress values of the order of 100 MPa together with the Frondrk damage law, presented in chapter 5, are applied. The activation sites are given in Table 7.1.

Low frequency cycles :	Ost δ	Ost α	Ost β
time (cycles)	154,960	159,680	161,140
low and high frequency cycles	Ost δ	Ost α	Ost β
time (cycles)	154,940	159,600	161,120

Tableau 7.1 – Activation sites and times with (low and high frequency cycles) or without (low frequency cycles only) the use of the time homogenization method for the microstructure 1

In both cases, the same zones are identified through the activation criteria, only the initiation times change (Table 7.1). Obviously, the consideration of the high frequency cycles results in an earlier activation time. The discrepancy is small because the strain threshold is exceeded after just a few low frequency cycles only. The same results are obtained for the microstructure 2.

7.3.5 Influence of the equivalent strain value

A comparison between a strain threshold of $4 \cdot 10^{-3}$ and $8.4 \cdot 10^{-3}$ (experimental value) for the microstructure 1 is now presented. Whatever the case, the loading amplitude is set to induce a subsequent stress of the order of 100 MPa. The time homogenization method and the Frondrk damage law are used. The subsequent activations sites and times are given in Table 7.2.

$\varepsilon_{eq_0} = 4 \cdot 10^{-3} :$	Ost δ	Ost α	Ost β
time (cycles)	154,940	159,600	161,120
$\varepsilon_{eq_0} = 8.4 \cdot 10^{-3} :$	Ost α	Ost β	Ost δ
time (cycles)	241,290	252,220	272,230

Tableau 7.2 – Activation sites and times according to the equivalent strain threshold ε_{eq_0} value for the microstructure 1

The strain threshold value influences thus the activation time t_0 but not the zone of the bone remodelling initiation. Only the site "Ost δ " is not activated in the first position when ε_{eq_0} is set to $8.4 \cdot 10^{-3}$. This discrepancy seems to be issue from a discretization error about the validation of the activation criteria (threshold case). Yet, when the strain threshold value diminishes, the remodelling is obviously initiated earlier. In a general way, we can also note that the higher the equivalent strain threshold value is, the smaller the number of activation sites is and the later they occur.

7.3.6 Influence of the quasi static loading amplitude

Here, the influence of the loading amplitude is analysed. We compare two simulations on microstructure 1 with a strain threshold value ε_{eq_0} equal to $4 \cdot 10^{-3}$ and an amplitude of the quasi static loading resulting in stress values of about 50 MPa (case 1) and 100 MPa (case 2) respectively. The time homogenization method and the Frondrk damage law are still used. The subsequent activations sites and times figured in Table 7.3.

As for the strain threshold value, the quasi static loading amplitude influences only the activation time t_0 since the same activation sites (in the same order) satisfy the activation criteria.

$\sigma \sim 50$ MPa :	Ost δ	Ost α	Ost β
time (cycles)	232,210	242,260	283,250
$\sigma \sim 100$ MPa :	Ost δ	Ost α	Ost β
time (cycles)	154,940	159,600	161,120

Tableau 7.3 – Activation sites and times according to the loading amplitude value for the microstructure 1

Furthermore, we could note a linear relation between the strain threshold value, the loading amplitude and the activation time, as it is shown by the ratio between the value in Tables 7.2 and 7.3, which means that the loading amplitude and the strain threshold value have the same influence on the activation time.

7.4 Quantitative analyses : Influence of the damage and the remodelling laws

The previous parameters used in the damage and remodelling laws, submitted in chapters 5 and 6, are not completely satisfying because their evolutions do not exactly represent the reality. Indeed, the damage evolution as well as the mineralization rate in the remodelling scenario seem faster than the *in vivo* state. We have consequently tried to improve them in order to better approximate this *in vivo* state.

We recall that the key parameter of the biological process chosen in this work is the Young modulus E , which is space- and time-dependent. The damageable matrix in Ω_m is defined through the deterioration of its Young modulus E_D and the three main phases of bone remodelling (Activation-Resorption-Formation) are modelled through the remodelling Young modulus evolution Y . New "versions" of the damage and remodelling laws are thus considered. The first one, described in the chapter 5 and depicted in 7.6, is said "accelerated" because the damage and remodelling Young evolution (especially during the mineralization phase) are too fast compared to what occurs *in vivo*. The second version, illustrated in 7.7 and 7.8, tries to approach the best the *in vivo* state and is thus called "quasi *in vivo*" law. Thus, the damage evolution is fitted to induce rupture ($D=1$) after three years [3] and the new remodelling evolution induces a slower mineralization together with a further mineralization of the whole matrix to consider the ageing of the bone (Figure 7.8).

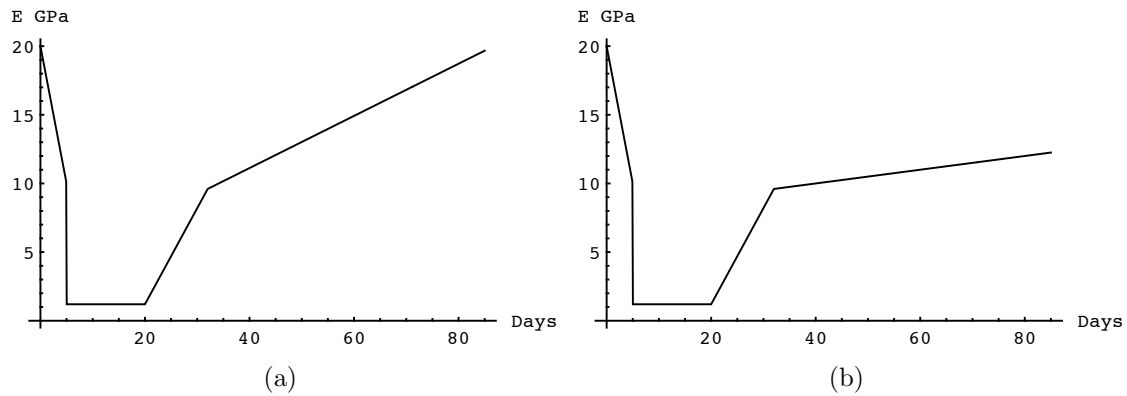


Figure 7.6 – Accelerated damage and remodelling Young modulus evolutions. (a) : in osteonitic lamellae, (b) : in cement line

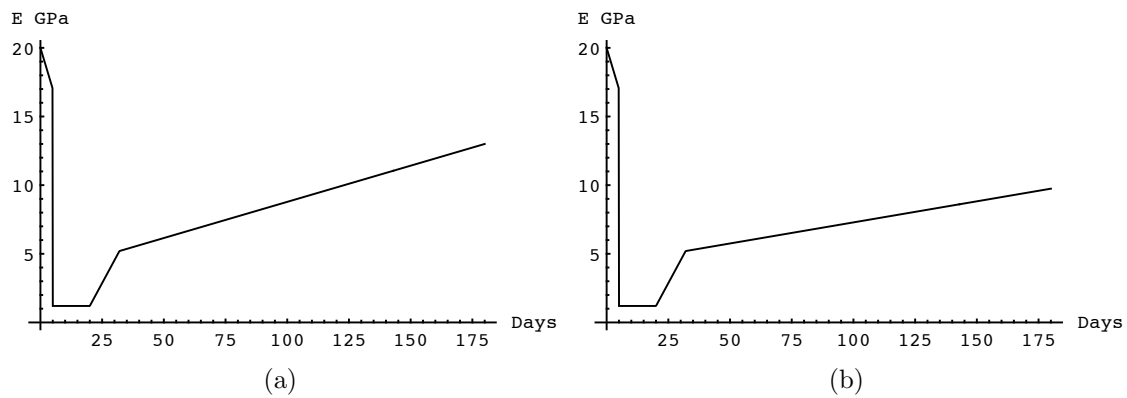


Figure 7.7 – Quasi *in vivo* damage and remodelling Young modulus evolutions. (a) : in osteonitic lamellae, (b) : in cement line

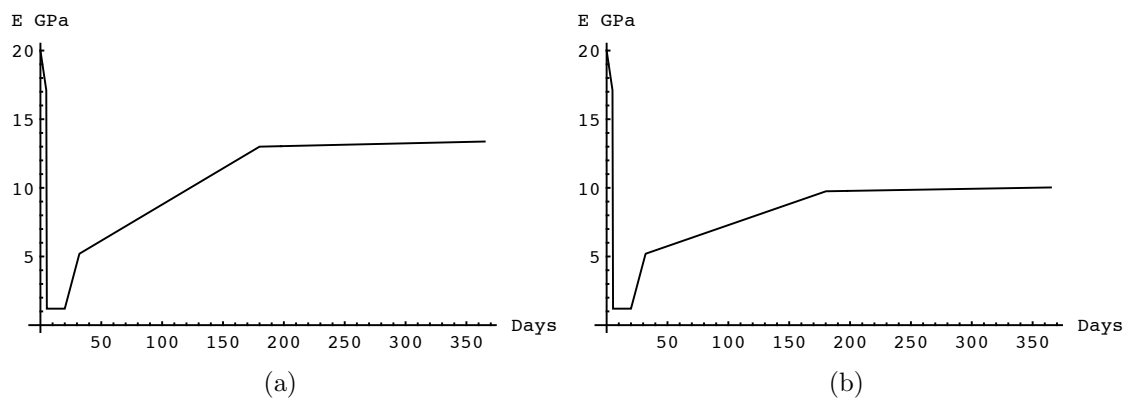


Figure 7.8 – Quasi *in vivo* damage and remodelling Young modulus evolutions with further mineralization . (a) : in osteonitic lamellae, (b) : in cement line

We thus achieved simulations on the microstructure 1 (Table 7.4) and 2 (Table 7.5) with the "accelerated" and the "quasi *in vivo*" laws respectively. The activation criteria are set to an equivalent strain threshold ε_{eq0} of $4 \cdot 10^{-3}$, a resulting stress amplitude of 100 MPa together with the time homogenization method.

accelerated :	Ost δ	Ost α	Ost β
time (cycles)	154,940	159,600	161,120
$\sim in vivo$	Ost δ	Ost α	Ost β
time (cycles)	155,250	159,840	161,480

Tableau 7.4 – Activation sites and times with the accelerated or the quasi *in vivo* damage law for the microstructure 1 ($\varepsilon_{eq0} = 4 \cdot 10^{-3}$, $\sigma \sim 100$ MPa)

accelerated :	Ost 1	Ost 2	Ost 3
time (cycles)	164,050	170,630	172,390
$\sim in vivo$	Ost 1	Ost 2	Ost 3
time (cycles)	164,450	171,160	172,740

Tableau 7.5 – Activation sites and times with the accelerated or the quasi *in vivo* damage law for the microstructure 2 ($\varepsilon_{eq0} = 4 \cdot 10^{-3}$, $\sigma \sim 100$ MPa)

Once again, only the activation times change. Obviously, the use of the accelerated law results in an earlier time. The discrepancy is small because the strain threshold is still exceeded after just a few low frequency cycles only.

7.5 Interaction between biology and mechanics

In the following sections 7.5.1 and 7.5.2, the mechanical parameters evolutions of the microstructure 2 are assessed. The strain threshold is set to $4 \cdot 10^{-3}$, the loading amplitude results in stresses of the order of 100 MPa. The time homogenization method together with the quasi *in vivo* damage and remodelling laws are applied.

7.5.1 Mechanical fields evolution during the remodelling process for a whole microstructure

The intermediate mechanical states of the microstructure 2, with the previous parameters, during each remodelling phases, are presented in Figure 7.9.

As expected, high stresses together with high strains occur when porosities are created during the resorption phase. Around the resorption front, compressive stress values may exceed 100 MPa while during the apposition and mineralization phases, the stress values progressively decrease from more than 70 MPa down to value between 30 and 50 MPa. In the same way, the strain values overstep $8 \cdot 10^{-3}$ at the front resorption boundaries. In some areas, the strain values exceed $1 \cdot 10^{-2}$. Strains decrease gradually when non mineral then mineral materials are apposed and reach then values in the range of $3 \cdot 10^{-3}$ and $6 \cdot 10^{-3}$.

After 250 days of loading, the subsequent microstructure 2 is illustrated in Figure 7.10.

The final distribution in terms of Young modulus, stress and strain values of the microstructure 2 are illustrated in Figures 7.10 (a), (c) and (e) respectively and show that stress and strain concentrations appear generally in the areas which surround porosities. The light colored effect observed for the Young modulus distribution of the whole microstructure results from damage which leads to stiffness degradation. The damage law is such that the decrease of the Young modulus will be about 30 % in three years, which refers to *in vivo* data. The stress and strain fields are clearly modified by the remodelling process especially by the new formed porosities associated with the haversian canals of the osteons.

In a general way, the resorption phase always implies stress and strain concentrations which decrease when apposition of collagen occurs. Then, the stress and strain values go on diminishing progressively with the mineralisation phase. This still demonstrates the interest of the osteon formation.

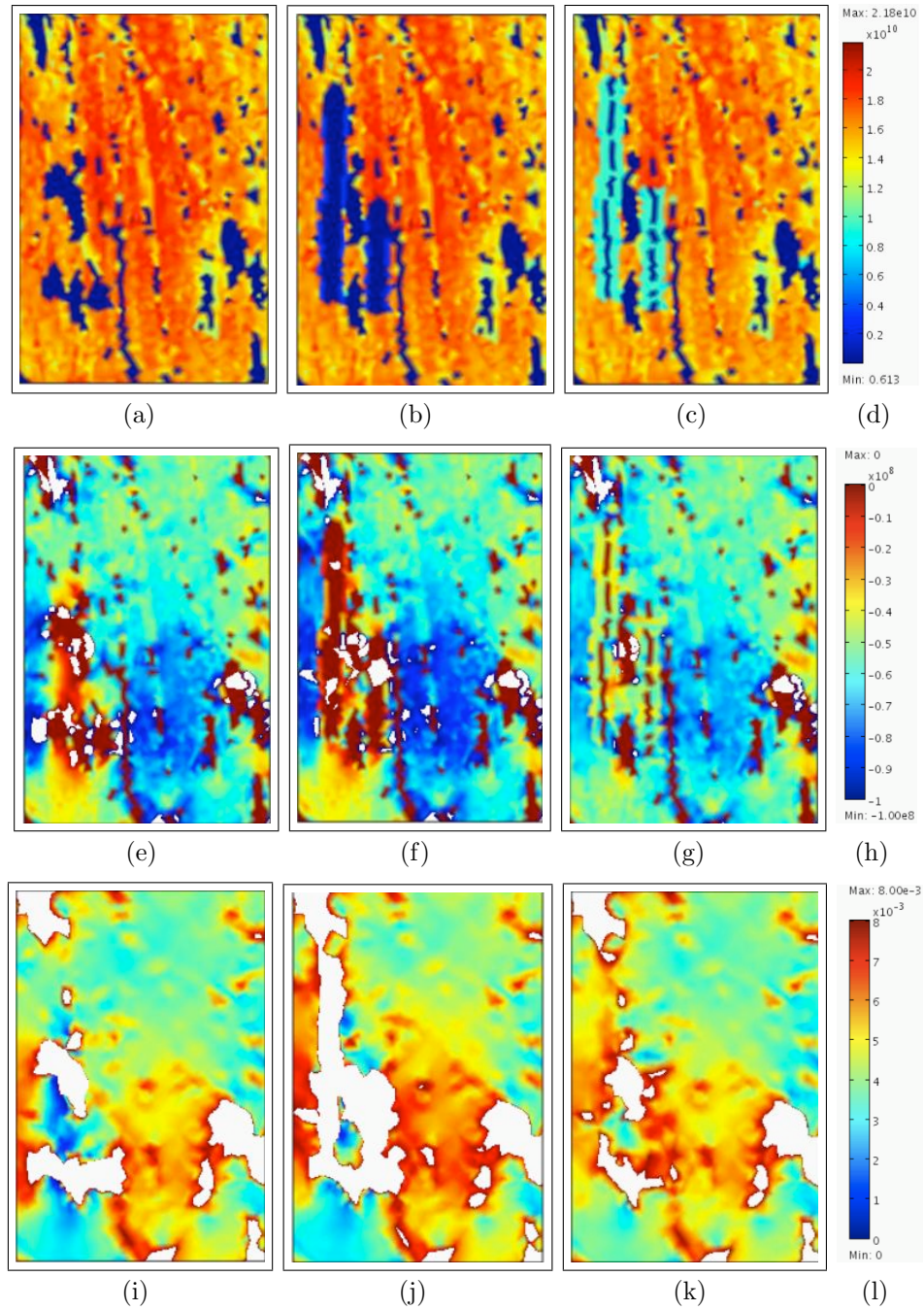


Figure 7.9 – Microstructure 2 ($\varepsilon_{eq0} = 4 \cdot 10^{-3}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Evolution of the Young modulus (first row), normal longitudinal stress (second row) and equivalent strain (third row) in the microstructure of human cortical bone : (a, e, i) Resorption phase, t_r ; (b, f, j) Apposition (of collagene) phase, t_a ; (c, g, k) : Mineralization phase, t_m ; scale : (d) Young modulus value (Pa), (h) normal stress value (Pa), (l) equivalent strain value.

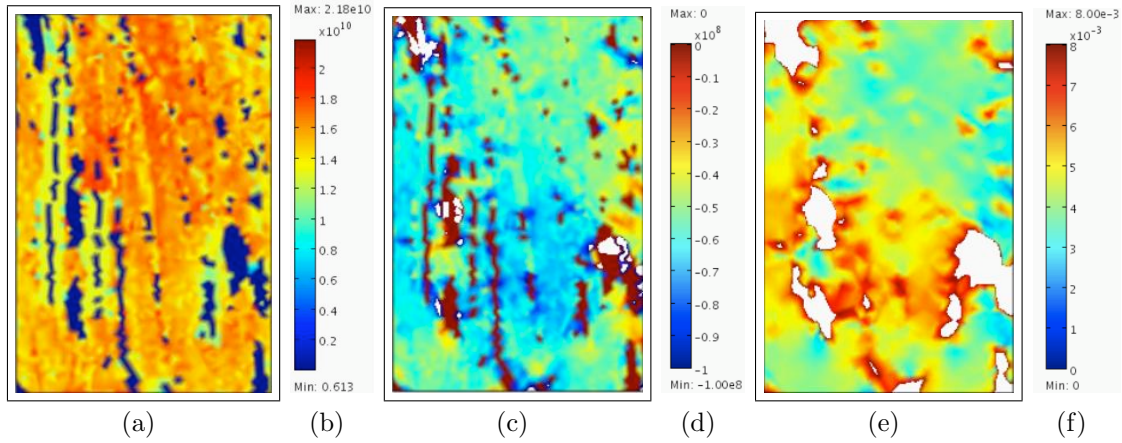


Figure 7.10 – Microstructure 2 ($\varepsilon_{eq0} = 4 \cdot 10^{-3}$, $\sigma \sim 100$ MPa) after remodelling with the "quasi *in vivo*" laws ($t = 250$ days) : (a) Young modulus distribution (b) scale of the Young modulus value (Pa); (c) normal longitudinal stress distribution ; (d) scale of the stress value (Pa) ; (e) equivalent strain distribution ; (f) scale of the strain value

We could also note that the stress and strain values increase between two osteons being closely generated, especially when resorption occurs. The damage evolution is thus faster. Since some studies have demonstrated that the osteocytic signal could be transmitted on a rather limited distance ($\leq 800 \mu\text{m}$) [74], we may thus define a space domain where osteon generation is contained. Nevertheless, it could be also noted that two osteons could not grow too close because of some biological phenomena.

Eventually, a simple observation of the final microstructures, when the "quasi *in vivo*" laws are applied, seems to validate the remodelling scenario. The new formed osteons appear well integrated in the whole microstructure. The deteriorated stiffness is locally improved and results in more adapted mechanical properties. The Young modulus is reestablished in satisfactory values and the stress and strain fields are in the range of physiological level.

7.5.2 Local strain evolution for each remodelling phases

In particular, the strain values along a line, defined in Figure 7.11, through the future osteon 1 (Ost 1) of the microstructure 2, are depicted for the activation time (Figure 7.12) and the resorption, the apposition (of collagen) and the mineralization phase (Figure 7.13).

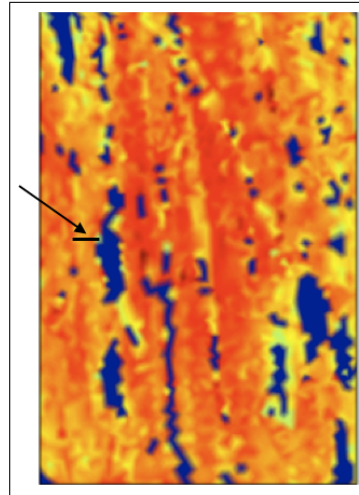


Figure 7.11 – Microstructure 2 : line of interest through the osteon 1 (in black, pointed by the arrow)

Analysis of the equivalent strain in the activation sites : "jump" of the strain

The local equivalent strain values along the line, illustrated in Figure 7.11 on the microstructure 2, are depicted in 7.12 for the activation time of the osteon Ost 1.

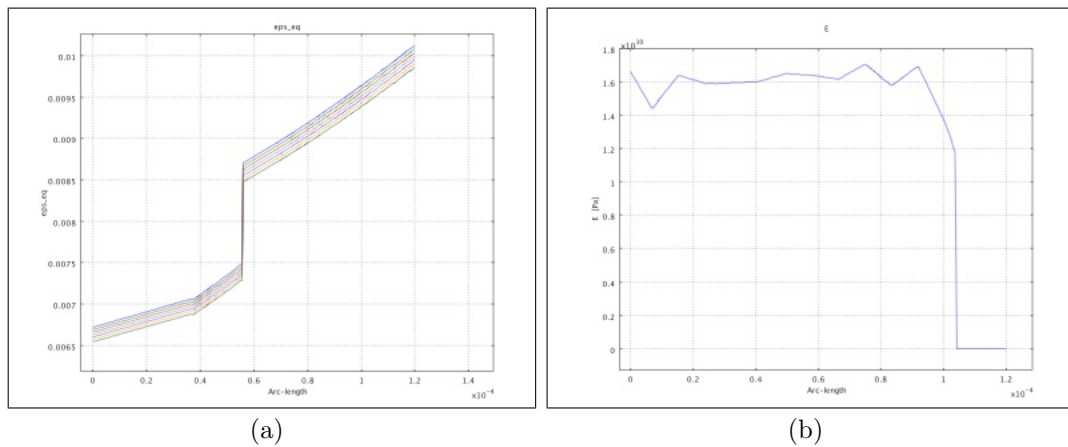


Figure 7.12 – Microstructure 2 : along the line through the activation site "Ost 1" (Cf. figure 7.11) at the activation time ($\pm\delta t$) ($\varepsilon_{eq0} = 4 \cdot 10^{-3}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : (a) strain jump, "quasi *in vivo*" laws; (b) distribution of the initial Young modulus value E_0 (Pa)

When the activation time is reached, a local jump of the strains occurs at the activation site (Figure 7.12 (a)) and is associated with a local Young modulus value which exceeds the Young modulus threshold value E_{0T} set to 16 GPa (7.12 (b)). Identical results are obtained for the microstructure 1.

The strain level reached, when remodelling activation occurs, is not the same for all microstructures. Some studies [99] demonstrate that, *in vivo*, the osteon diameter and the number of osteons generated are related to the amplitude and the type of loading. A bone highly submitted to loadings induce an elevated remodelling activation rate : the number of osteons is high but their diameters are small. Implementation of a law linking the local strain value when the activation occurs and the osteon diameter will be thus interesting.

Equivalent strain evolution during resorption, apposition and mineralization

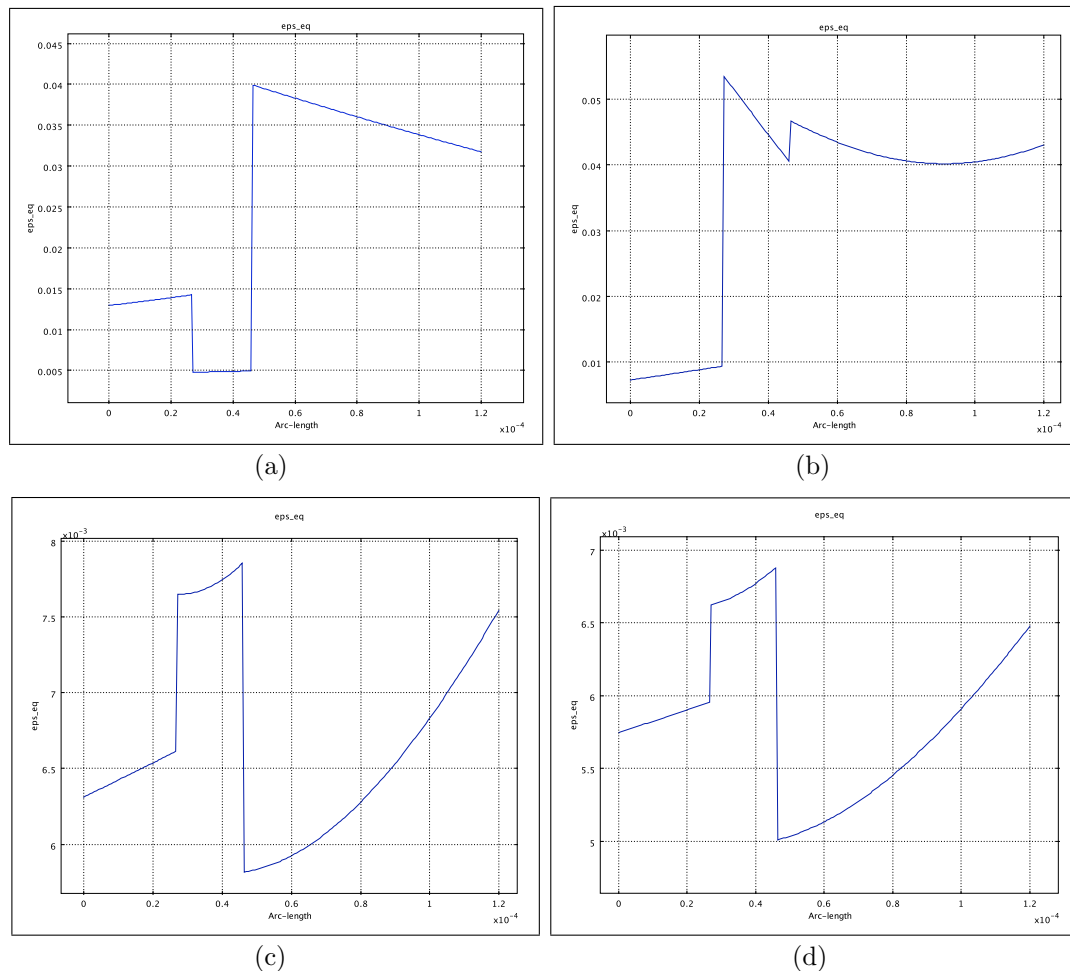


Figure 7.13 – Strain evolution on a line through the osteon 1 of the microstructure 2 (Cf. Figure 7.11). (a) : resorption; (b) : apposition (of collagen); (c, d) : mineralization ($t=128$ days and $t=212$ days respectively)

The local strain values are high during the resorption phase ($5 \cdot 10^{-3} \leq \varepsilon_{eq} \leq 4 \cdot 10^{-2}$) (Figure 7.13 (a)). A decrease is observed when the apposition of collagen begins (Figure 7.13 (b)) (ε_{eq} varies from $1.4 \cdot 10^{-2}$ during the resorption (Figure 7.13 (a)) to $9 \cdot 10^{-3}$ during the apposition (Figure 7.13 (b)) on the interval $[0; 0.2]$ of the arc length). Then, the decrease goes on during the mineralization phase (Figures 7.13 (c) and (d)).

7.5.3 Viability of the final microstructure

In this section, only the Young modulus field is illustrated during the remodelling process. The loading amplitude still results in stress values of the order of 100 MPa. The accelerated laws are applied in order to use the experimental strain threshold value.

For the microstructure 6, ε_{eq0} is set to $1.41 \cdot 10^{-2}$ and to $1.03 \cdot 10^{-2}$ for the microstructure 7. The initial and final microstructures 6 and 7 (in term of Young modulus) are shown respectively in 7.14 and 7.15.

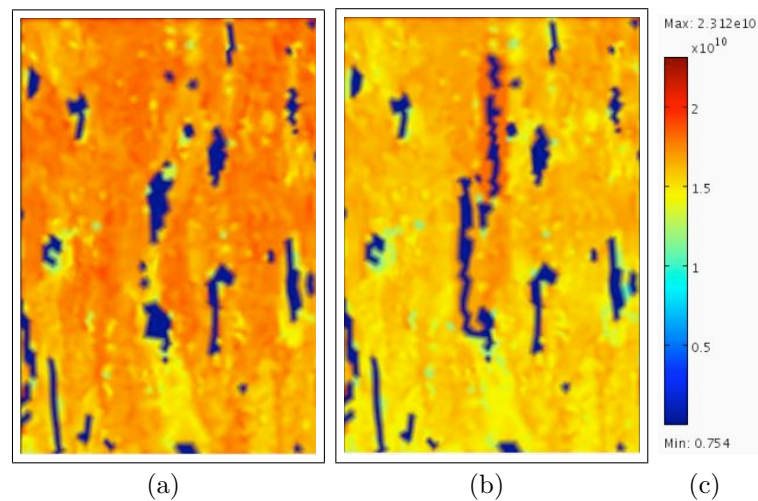


Figure 7.14 – Microstructure 6 ($\varepsilon_{eq0} = 1.41 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Young modulus distribution : (a) initial microstructure; (b) final microstructure after remodelling (t=100 days); (c) scale of the Young modulus value (Pa)

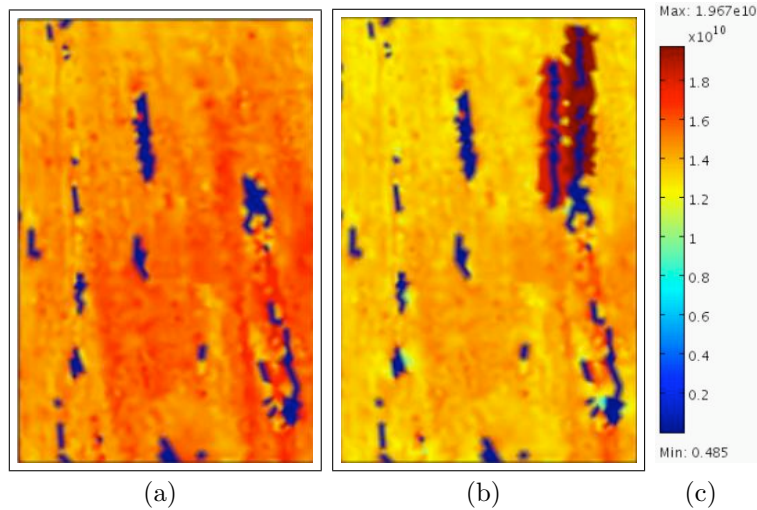


Figure 7.15 – Microstructure 7 ($\varepsilon_{eq0} = 1.03 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Young modulus distribution : (a) initial microstructure; (b) final microstructure after remodelling (t=150 days); (c) scale of the Young modulus value (Pa)

Only two sites checked the activation criteria for the microstructure 6 et 7. Besides, the second osteon is initiated very late. The evolution of the Young modulus distribution in these microstructures, during the remodelling process, is given in annexe C. We could also note that, if the "quasi *in vivo*" laws are applied, no remodelling is initiated with the experimental strain threshold value.

The four microstructures 1, 2, 6 et 7 are compared at the same time (65 "days" of loading) in Figure 7.16. For each microstructure, the loading amplitude induces stresses of the order of 100 MPa. The so-called "accelerated" damage law together with the time homogenization method are applied. The strain threshold is fixed to the experimental strain value measured at the microcracks initiation stage.

Whereas the mineralization phase of the remodelling process is occurring for the microstructures 1, 2 and 7, the microstructure 6 only experiences the apposition (of collagen) phase. This latter microstructure has the highest Young modulus (Cf. Table 7.6) and the highest experimental strain threshold value.

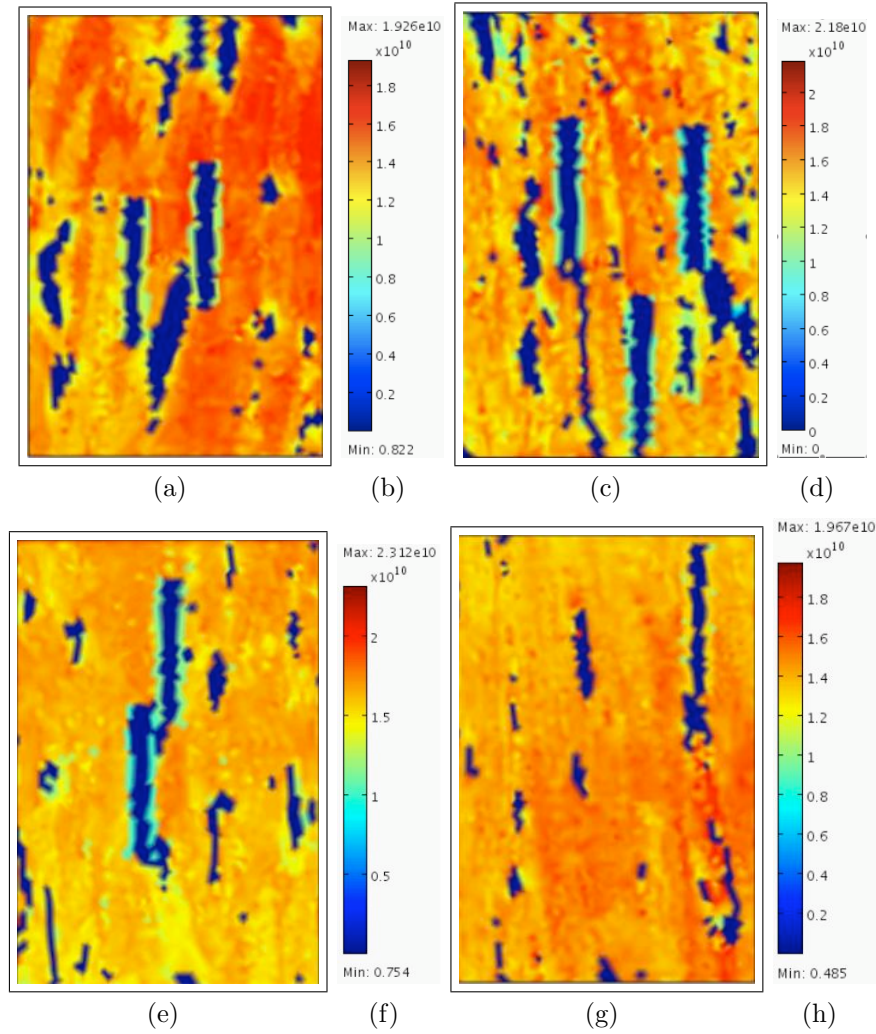


Figure 7.16 – Microstructure 1, 2, 6 et 7 ($t=65$ days)

i	1	2	6	7
E_{ni} (GPa)	14.95	15.75	16.06	14.83
ε_{eq0} (%)	0.84	0.92	1.41	1.03

Tableau 7.6 – Mean Young modulus get by nanoindentation (E_{ni}) (en GPa) for the microstructure i and the associated experimental strain threshold value ε_{eq0} get by DIC)

These results demonstrate the microstructure effect (in term of geometry and mechanical parameters) on the sites and times of activation and the progression of the remodelling process. It also shows that the higher the strain threshold is, the later the remodelling activation is. The distribution of the mechanical fields is also obviously influenced by the generation of osteons in the microstructure. The interaction between the remodelling process and the microstructure is still demonstrated

and the effect of the microstructure is revealed through these different calculations.

7.6 Discussion and Perspectives

The prediction of adaptation of cortical bone to damage through the bone remodelling process is investigated in the present model. This latter tries to describe a potential evolution of real microstructures of human cortical bone subjected to loading similar to *in vivo* state and remodelling. The remodelling scenario together with the time homogenization method, submitted in the previous sections, are applied on the experimentally determined microstructures.

The description of such real microstructures together with the representation of the damage and remodelling phenomena request many parameters. Yet, they are all issued from either mechanical, histomorphometrical or biological experimental analyses. Besides, a high level of damage, corresponding to *in vitro* data, which does not represent the *in vivo* state, was chosen to check our time homogenization method. However, verification with a smaller damage rate was achieved. An additional mineralization law which induces the progressive increase of the Young modulus in the interstitial matrix may be applied, resulting in a lower final damage.

Since the examination of only few microstructures is proposed here, it is quite difficult to get precise conclusions on the mechanical fields evolution. The model is also limited to a two dimensional representation of the top surface of the parallelepipedic samples experimentally investigated, under plane stress conditions and isotropic laws. The consideration of the third dimension, together with the bone anisotropy seems important to improve the description of the mechanical and biological phenomena. Additional considerations are also required such as some biological, chemical or electrical phenomena which have not been taken into account in this model. The simulation of the whole process of bone remodelling, integrating the mechanotransduction, seems also to be worth analysing.

However, the significant interaction between the remodelling process and the local mechanical parameters is pointed out and shows the dependence between the

mechanical behavior of the cortical bone, especially bone damage, and the bone remodelling process. The numerical simulation also reveals the remodelling phenomenon as a self sustained process because it may locally induce high strain and damage values.

A model of osteon generation in human microstructure is thus set up, the main purpose consisting in the simulation of the time adaptation of cortical bone due to change in the mechanical environment. Besides, few works have tried to simulate at the same time damage and remodelling in a history path dependent model, in particular at the osteon scale. The bone remodelling process produces, at this scale, a heterogeneous material with a highly variability in mechanical, morphometrical and geometrical osteon properties. To describe this complex biological process independently of the mesh, we recall that internal variables associated with evolution laws in the form of ordinary differential equations are used.

At the osteon scale, understanding the role of the highly heterogeneous microstructure and its damaging evolution on the bone remodelling process is thus relevant for predicting the risk of fracture and the viability of the subsequent microstructure. According to the final microstructures and the associated mechanical and histomorphometrical properties, one could propose whether medical treatments, particularly for osteoporosis, are requested. With regard to the high cost of such treatments, it is certainly worth wondering.

Conclusions Générales et Perspectives

Les travaux menés pour cette étude, couplant une approche expérimentale et numérique, ont notamment abouti à la modélisation d'un scénario simplifié mais complet du processus de remodelage osseux au sein de microstructures réelles d'os cortical humain. La modélisation s'est en particulier attachée à respecter les données expérimentales associées aux microstructures initiales et les données *in vivo* liées au remodelage osseux et au chargement auquel est soumis l'os. Cela a requis une analyse des propriétés morphométriques et mécaniques à différentes échelles ainsi qu'un travail numérique parallèle pour simuler les chargements cycliques de fréquence élevée, tels qu'ils se produisent *in vivo*, afin de considérer l'endommagement par fatigue.

Le volet bibliographique a permis de mettre en évidence les travaux existants concernant le comportement mécanique et les propriétés morphométriques du tissu cortical humain. Toutefois, les relations entre ces deux types de paramètres sont souvent mal identifiées. De même, la connaissance du processus biologique de remodelage osseux est encore imparfaite, du fait d'un grand nombre de phénomènes (biologiques, chimiques, électriques, mécaniques...) qui interviennent simultanément. Le rôle majeur des paramètres mécaniques, notamment des champs de déformations et de l'endommagement par fatigue, a cependant été reconnu. La question de l'interaction entre ces paramètres, le processus de remodelage et le comportement mécanique à l'échelle de la microstructure de l'os cortical reste cependant ouverte.

L'étude expérimentale s'est intéressée à caractériser les paramètres mécaniques et morphométriques aux échelles macro-, micro- et nanoscopique. La spécificité de chaque microstructure a été démontrée et certains paramètres déterminants pour le

comportement mécanique, ainsi que pour le remodelage osseux, ont été identifiés. A l'échelle macroscopique, des essais de compression, effectués dans les deux directions principales de la diaphyse fémorale (longitudinale et transversale), ont permis l'obtention de valeurs de module de Young et des paramètres à la rupture (contrainte et déformation). Le module de Young et la contrainte à la rupture sont plus élevés dans la direction longitudinale, contrairement à la déformation, marquant ainsi la direction principale de sollicitation (direction longitudinale). Les écarts types associés, marqueurs de l'hétérogénéité du matériau, se sont révélés supérieurs dans la direction transversale. Ces différences démontrent l'anisotropie de l'os. La porosité joue également un rôle majeur, notamment dans le comportement à la rupture, une forte porosité favorisant une rupture précoce. Aux échelles micro et nanoscopique, l'hétérogénéité de la microstructure, en particulier en terme de module de Young, est mise en avant via les essais de nanoindentation. Les trois "phases" constituant l'os cortical, la matrice interstitielle, l'ostéon et la ligne cémentante, ont démontré leur spécificité. La matrice interstitielle, plus ancienne, possède un module de Young plus élevé que les ostéons et est plus sujette à l'endommagement. L'observation par microscopie optique de l'évolution de la microstructure, au cours des essais de compression, révèle que la matrice interstitielle est plus propice à l'amorçage de fissures. L'analyse par corrélation d'images (DIC) de l'évolution des champs de déformation au cours de ces essais conforte ces notions d'anisotropie et d'hétérogénéité de la microstructure corticale et a permis de relever des valeurs de déformations pour lesquelles l'initiation de fissures avait lieu. Cette étape d'amorçage de fissures est d'ailleurs marquée par un saut de l'écart type de la déformation relevée par corrélation d'images. De plus, la comparaison entre la déformation macroscopique (obtenue par les essais de compression) et la déformation du tissu (obtenue par DIC), dans les directions longitudinale et transversale respectivement, montre un effet de microstructure plus important dans la direction transversale, marquant le rôle majeur de la porosité liée aux canaux de Havers.

Ce sont sur ces données que repose le travail numérique. Les microstructures sont implémentées avec leurs caractéristiques mécaniques et leurs géométries propres dans le code éléments finis. Notamment, la microstructure initiale est exprimée en terme de valeurs locales de module de Young et est soumise à un chargement cyclique en

compression comparable aux chargements *in vivo*. Les valeurs de déformations seuils participent à la mise en place d'un jeu de critères à valider pour pouvoir activer le remodelage osseux. Ce jeu de critères repose également sur une valeur de module de Young seuil à dépasser pour pouvoir favoriser l'initiation du remodelage dans les zones les plus sujettes à l'endommagement, i.e. la matrice interstitielle. Un scénario, où l'ensemble des principales phases de ce processus sont décrites, est alors établi, de manière simplifiée. Une fois les critères d'activation vérifiés, les phases de résorption, d'apposition de collagène et de minéralisation se succèdent afin d'aboutir à la formation d'un nouvel ostéon au sein de la microstructure. Une loi modélisant l'évolution de l'endommagement de l'os et modifiée via une méthode d'homogénéisation temporelle, afin de considérer les fréquences rapides de chargements physiologiques, est implémentée. Elle induit localement une diminution du module de Young initial et contribue ainsi à déterminer les zones d'activation du remodelage. L'interaction du phénomène biologique avec les champs mécaniques locaux est ensuite évaluée et montre que chaque phase a un impact différent sur la microstructure. La phase de résorption, où une porosité est créée, engendre de fortes valeurs de contraintes et de déformations alors que les phases de formation de nouveau tissu résultent en leur diminution, ce qui démontre l'intérêt du processus quant à son adaptation vis à vis de l'environnement. L'effet de microstructure se constate sur la simple comparaison des microstructures finales remodelées ou non, des simulations sur différentes microstructures mais avec les mêmes conditions aux limites et les mêmes critères d'activation ayant été réalisées. Selon les critères d'activation et les conditions initiales imposées, on observe également des modifications sur le processus de remodelage, notamment en terme de temps d'activation.

Cette étude permet ainsi de mieux estimer la spécificité de l'os cortical humain et de mieux appréhender, via un outil numérique, le processus de remodelage osseux, en particulier certains déterminants de son activation et son impact sur les champs mécaniques et la géométrie de la microstructure corticale.

Les perspectives quant au développement et à l'enrichissement de ce modèle de remodelage osseux sur microstructure humaine sont vastes. Une complexification du

présent modèle, afin de mieux décrire les différentes phases du remodelage, peut être effectuée. Un modèle multiéchelle, permettant de mettre en jeu la mécanotransduction (échelle de la cellule) serait également très intéressant. La mécanotransduction est associée à un vaste ensemble de phénomènes complexes et interagissant entre eux (Cf annexe F). Leur modélisation permettrait, en particulier, de mieux comprendre l'activation du remodelage au niveau des filopodes des ostéocytes, cellules mécano-sensibles. De nombreux phénomènes, autres que mécaniques, sont également à considérer. L'insertion de données biologiques, hormonales, chimiques, électriques et bien d'autres encore serait bénéfique dans la réalisation d'un modèle complet du processus de remodelage osseux. L'influence de certains médicaments, engendrant des effets sur les microstructures et le remodelage, pourrait également être évalué via le type de modèle proposé ici.

Annexe A

Outils de caractérisation

A.1 Essai de compression

Lors de l'essai de compression, la caméra CCD Pantera SA 4M15 utilisée pour prendre les images avait une résolution de 2048 x 2048 pixels pour une taille de pixel de 7,4 μm .

Le capteur de force a une résolution de $\pm 2,5$ N et le LVDT possède une erreur de linéarité de ± 0.15 % sur l'étendu de mesure.

A.2 Microscanner, microtomographie 3D

Le microscanner est fondé sur le principe de tomographie à rayon X. Un faisceau de rayons X, lors de la traversée d'un objet, est atténué par absorption et par diffusion (effets photo-électrique et Compton). Cette atténuation dépend de la densité du milieu, de sa composition atomique et de l'énergie du faisceau de rayons X et suit la loi suivante :

$$I = I_0 \cdot e^{-\mu \cdot L}$$

avec I_0 le flux (intensité) de rayons X à l'entrée, I le flux en sortie, μ , le coefficient d'atténuation linéique de l'objet et L , l'épaisseur du milieu traversée.

Dans le schéma suivant, chaque point en sortie contient la valeur intégrée de l'absorption au travers de l'objet.

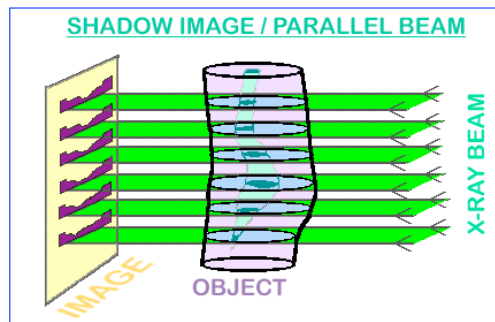


Figure 1.1: Parallel beam geometry

Figure A.1 – Géométrie du faisceau du Microscanner Skyscan 1172

A partir d'une série de prises de vues 2D, on reconstruit la géométrie tridimensionnelle d'un objet. L'acquisition d'un grand nombre de projections (monodimensionnelles) d'une coupe axiale transverse (bidimensionnelle) permet la reconstruction mathématique de l'objet examiné. L'acquisition de ces projections s'effectue en déplaçant, par rotation, le faisceau rayons X.

Le déplacement linéaire de cet ensemble de mesure de part et d'autre de l'objet examiné permet d'obtenir une série de mesures élémentaires. L'ensemble de ces mesures pour une direction donnée (q), constitue une projection $p(r, q)$. Ce processus est répété plusieurs fois tout autour de l'objet (sur 180 degrés ou 360 degrés) de manière à disposer des projections nécessaires à la détermination du coefficient d'atténuation linéique de chaque élément volumique de l'objet.

Le processus de reconstruction basé sur des mesures échantillonnées (m mesures élémentaires par projection et p projections par acquisition soit $m \times p$ mesures par acquisition) conduit à une matrice image dont le contenu de chaque pixel représente le coefficient d'atténuation d'un volume élémentaire (voxel) dont la section est égale au pixel et la profondeur est égale à la largeur du faisceau de rayons X traversant l'objet.

La méthode de reconstruction utilisée est celle de la rétroprojection.

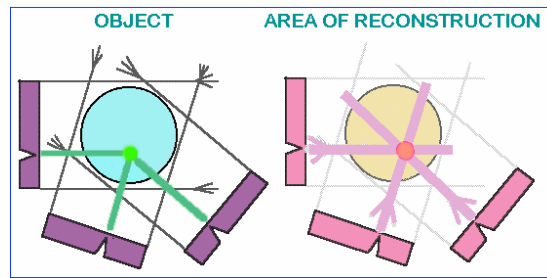


Figure A.2 – Vue schématisée de trois points d'un objet et de la reconstruction correspondante

En pratique, le microscanner Skyscan 1172 possède une source rayon X conique d'intensité comprise entre 20 et 100 kV et une résolution inférieure à $5 \mu\text{m}$. Le détecteur de ce rayonnement est une caméra CCD à fibre optique couplé à un scintillateur.

Dans notre cas, les paramètres d'acquisition, identiques pour chaque échantillon, sont les suivants. Les images sont obtenues à 80 kV et $100 \mu\text{A}$. La définition de la caméra CCD est de 4000×2400 pixels permettant une résolution de $1,94 \mu\text{m}$. La distance entre la caméra et échantillon est fixé à 30 mm environ. L'échantillon tourne de 360 degrés par pas de 0,25 degrés. Aucun filtre n'a été imposé (il existe sinon une possibilité de poser des filtres en aluminium (Al) ou en alliage Aluminium-cuivre (Al-Cu)). Une correction des artefacts dû à la variation de sensibilité du pixel de la caméra CCD (dont la taille est de $9 \mu\text{m}$) (Threshold for defect pixel mask fixé à 5 %) ou à une erreur de gain en un point, dans plusieurs vues adjacentes, (correction du ring artefact fixé à 15) est nécessaire.

Le passage d'un spécimen au microscanner dure approximativement 4 heures et 44 minutes.

Deux échantillons fantômes de densité différentes, respectivement de 0,25 et de $0,75 \text{ g/cm}^3$, ont été scannés avant et après l'ensemble de nos spécimens. Ces échantillons fantômes servent de référence lors de l'analyse de nos spécimens.

Le logiciel Skyscan (1172) permet la gestion du microtomographe, de la reconstruction 3D des échantillons et de l'analyse des différents paramètres architecturaux.

Pour la reconstruction 3D, on impose un filtre sur l'histogramme des coefficients d'atténuation : seules les valeurs comprises entre 0 et 0,35 sont conservées.

Lors de l'analyse, les paramètres principaux considérés sont la densité minérale et la porosité. L'obtention de la densité minérale passe par la connaissance des valeurs de niveaux de gris des microstructures.

Les densités minérales des fantômes étant connues, l'analyse par le logiciel CTan de ceux ci donnent accès aux valeurs en unité Hounsfield (HU) équivalentes et donc à la relation linéaire existante entre la densité minérale (BMD) et ces valeurs HU.

Par ailleurs, la relation, également linéaire, entre les unités HU et les niveaux de gris N_g est également connue. En découle une relation linéaire entre les niveaux de gris N_g et la densité minérale (BMD) qui s'écrit selon la forme suivante :

$$\text{BMD} = 0,01593 N_g - 0,40088.$$

Pour remarque, les unités Hounsfield (HU) constituent une échelle arbitraire, du nom de l'inventeur de la tomодensitométrie, et permettent de quantifier l'atténuation de chaque pixel entre -1000 (air) et +4000 (os compact). Par définition, l'eau pure possède une atténuation de 0 HU.

A.3 Analyse des images scannées : Logiciel Gimp et Amira 4.5

Les images scannées des échantillons ont pour inconvénient d'être de biais et d'inclure une zone plus grande que la zone d'intérêt que constitue l'os. Un script a donc été mis en place au sein du logiciel de traitement d'images Gimp afin de tourner et de rogner les images scannées pour en retirer le volume d'intérêt maximal.

Cette opération effectuée, les images sont traitées au moyen d'Amira TGS Mercury, logiciel de traitement et de reconstruction 3D d'images.

Une segmentation des niveaux de gris est réalisée sur chaque échantillon avec un seuil $N_{g_{seuil}}$ fixé à 15 pour les échantillons L et à 25 pour les T, sauf exception (la plage des niveaux de gris variant de 0 à 255). On en déduit alors le taux de porosité qui correspond au ratio du nombre de pixels dont le niveau de gris est inférieur

à Ng_{seuil} sur le nombre de pixels total du volume 3D représentatif des différentes couches scannées d'un spécimen. On note que la totalité des coupes ne pouvant être gérée en une seule fois par le logiciel pour cette segmentation, la porosité a été calculée en plusieurs fois par "tranches" de 200 coupes 2D environ.

Le niveau de gris moyen (ainsi que son écart type) des pixels de niveau de gris supérieur à Ng_{seuil} est déterminé puis converti en une densité minérale BMD (et en écart type de densité ΔBMD) selon la relation définie précédemment à l'aide du logiciel CTan donnée par l'équation suivante :

$$BMD = 0,01593 Ng - 0,40088.$$

A.4 Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La microscope électronique à balayage (MEB) consiste en un faisceau d'électron qui balaie la surface à analyser. L'os cortical induit la rétrodiffusion d'électrons secondaires dont la quantité est proportionnelle au numéro atomique moyen du volume analysé. Cette rétrodiffusion donne ainsi accès aux contrastes atomiques apparaissant en contraste de niveaux de gris représentatif de la densité minérale de l'os.

Annexe B

Méthode de corrélation d'images

B.1 Théorie

La méthode de corrélation d'images permet le calcul de la déformation à partir de la mesure du déplacement d'un champ de points discrets.

La déformation en mécanique des milieux continus est généralement définie par le tenseur de Green-Lagrange, noté ε . Deux configurations sont considérées : un état initial de référence et l'état déformé.

Soit X , la position dans la configuration initiale et x , celle dans la configuration déformée. La transformation matérielle ϕ se définit de la manière suivante $x = \phi(X)$.

On détermine le tenseur F du gradient de la transformation ϕ comme tel :

$$F = \frac{\partial x}{\partial X}$$

et la déformation vaut alors

$$\varepsilon = \frac{1}{2} \cdot (F \cdot F^T - I)$$

Les calculs de M. Bornert [144] estime le gradient local en un point p en calculant le gradient moyen sur un domaine autour de p .

La connaissance des positions des points uniquement dans le plan d'observation restreint le calcul du gradient moyen aux composantes dans le plan (i.e. F_{33} reste indéterminé).

On pose comme hypothèse que le déplacement varie linéairement entre deux points de mesures adjacents.

Soit le domaine d'observation D et soit S_D , sa surface.

n_s définit la normale sortante au segment reliant X^n et X^{n+1} et dl^n , la longueur de ce segment.

N représente le nombre de points de mesure et x^n , la position des points dans l'état déformé.

Le tenseur du gradient de la transformation F se réécrit ainsi :

$$F = \frac{1}{2.S_D} \cdot \sum_{k=1 \dots N} ((x^n + x^{n+1}) \otimes n_s) . dl^n$$

Et en conservant l'hypothèse de déformations planes, on obtient l'expression suivante du tenseur des déformations ε .

$$\varepsilon = \begin{pmatrix} F_{11}^2 + F_{21}^2 - 1 & F_{11} \cdot F_{12} + F_{22} \cdot F_{21} & 0 \\ F_{11} \cdot F_{12} + F_{22} \cdot F_{21} & F_{22}^2 + F_{12}^2 - 1 & 0 \\ 0 & 0 & ? \end{pmatrix}$$

Ce tenseur ε caractérise la déformation moyenne sur le domaine d'observation D_{obs} . Le terme ε_{33} reste inconnu puisque l'on ne peut mesurer F_{33} dans la profondeur.

B.2 Calculs du bruit de mesure

Avant toute analyse par corrélation d'images, la quantification des erreurs de mesure est nécessaire.

Lors de cette analyse, les sources d'erreur possibles sont :

- La variation du relief (polissage, lors de l'essai de compression) qui induit une variation du niveau de gris. On suppose son influence négligeable.
- La rotation de l'échantillon (la mesure se faisant en considérant une translation pure du domaine de corrélation).
- La variation de focalisation du microscope optique
- Le bruit de la caméra CCD.

La déformation dans le plan introduite par la variation de niveau de gris relative due à la variation de relief (la surface d'observation n'étant pas parfaitement plane) est supposée négligeable et l'orientation du repère des images de référence et déformée constante. En théorie, aucune rotation de corps rigide ne devrait donc être constatée.

Afin d'évaluer les erreurs issues du bruit de la caméra et de la défocalisation, on compare l'image de référence 0 à une image 1 n'ayant subi aucune transformation ainsi que deux autres images (2 et 3) prises aux extrema du domaine de focalisation où l'on a un aperçu net.

Aucune transformation n'ayant été introduite, le champ de déplacement doit rester théoriquement uniformément constant.

La base de mesure est de 200 pixels, un schéma d'intégration à 8 points est utilisé.

L'écart type de la déformation induit par le bruit de la caméra (comparaison entre 0 et 1) est de $2.2 \cdot 10^{-4}$ et celui induit par la défocalisation $\delta^{defocalisation}$ (comparaison entre 0 et 2 et 0 et 3) de $4.4 \cdot 10^{-4}$.

L'erreur de mesure $\delta(u)$ sur la position d'un pixel dans l'image à l'état déformé vaut alors $\delta(u) = bdm \cdot \delta^{defocalisation}$ avec bdm , la base de mesure. La base de mesure étant de 200 pixels, on obtient alors une erreur de mesure de 0,088 pixels. L'incertitude sur la déformation locale avec une base de mesure de 200 pixels est alors de $4.4 \cdot 10^{-4}$ sur ε_{11} .

Une base de mesure de 1500 pixels selon la direction **1** résulte à une incertitude sur la déformation macroscopique de $5.9 \cdot 10^{-5}$ pour ε_{11} . La base de mesure dans la direction **2** étant de 1000 pixels, l'incertitude sur la déformation macroscopique ε_{22} est alors de $8.8 \cdot 10^{-5}$.

Annexe C

Evolution du module de Young des microstructures 6 et 7 résultant du remodelage osseux

Cette annexe présente l'évolution de la distribution de module de Young des microstructures 6 et 7 lors du processus de remodelage osseux. La comparaison de ces microstructures avec les microstructures 1 et 2, présentées dans le chapitre 7, est ainsi possible. On rappelle que l'amplitude de chargement imposée est telle que la contrainte résultante est de l'ordre de 100 MPa. Les lois d'endommagement et de remodelage dites accélérées sont appliquées. Les déformations équivalentes seuils ε_{eq_0} sont fixées aux valeurs expérimentales. Ainsi, la déformation équivalente seuil vaut $1.41 \cdot 10^{-2}$ et $1.03 \cdot 10^{-2}$ respectivement pour les microstructures 6 et 7.

Les microstructures initiales et finales sont illustrées respectivement pour les microstructures 6 et 7 sur les figures C.1 et C.3. L'évolution de la distribution du module de Young au cours des différentes phases du remodelage osseux est donnée figure C.2 pour la microstructure 6 et figure C.4 pour la microstructure 7.

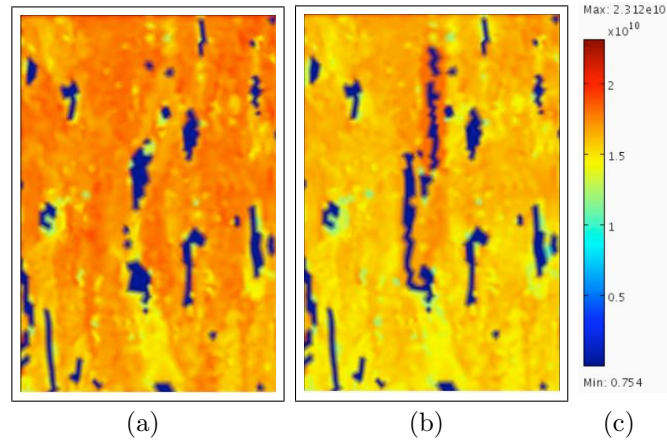


Figure C.1 – Microstructure 6 ($\varepsilon_{eq0} = 1.41 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Distribution du module de Young : (a) microstructure initiale ; (b) microstructure finale après remodelage ($t = 100$ cycles lents) ; (c) échelle de valeurs du module de Young (Pa)

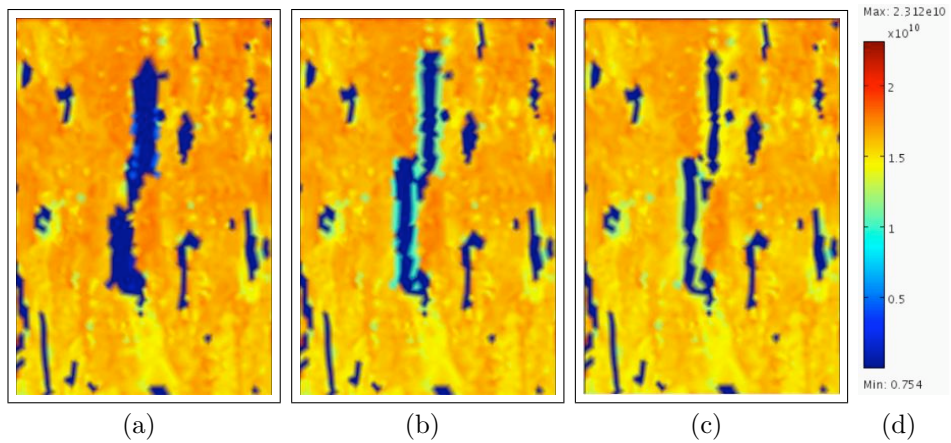


Figure C.2 – Microstructure 6 ($\varepsilon_{eq0} = 1.41 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Evolution du module de Young : (a) phase de résorption, t_r ; (b) phase d'apposition (de collagène), t_a ; (c) : phase de minéralisation, t_m ; (e) échelle de valeurs du module de Young (Pa)

Pour les deux microstructures, seuls deux sites vérifient les critères d'activation. Le second ostéon est, d'ailleurs, initié très tardivement. Ces résultats montrent l'effet de microstructure, en terme de géométrie et de valeurs initiales des paramètres mécaniques, sur les sites et temps d'activation et la progression du processus de remodelage. Cela montre également que plus le seuil de déformation est élevé, plus l'activation du processus est tardive.

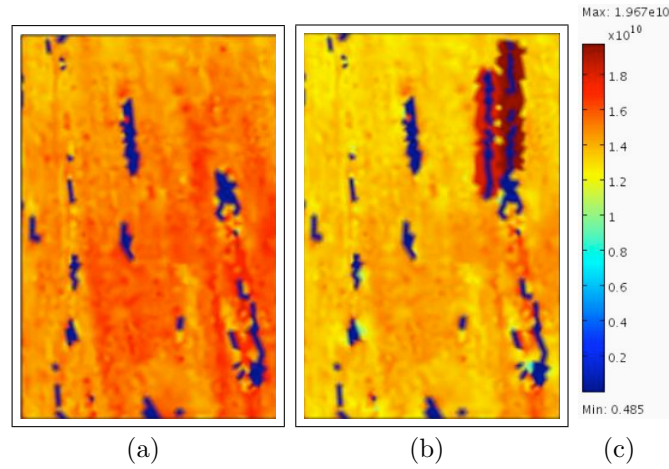


Figure C.3 – Microstructure 7 ($\varepsilon_{eq0} = 1.03 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Distribution du module de Young : (a) microstructure initiale ; (b) microstructure finale après remodelage ($t = 150$ cycles lents) ; (c) échelle de valeurs du module de Young (Pa)

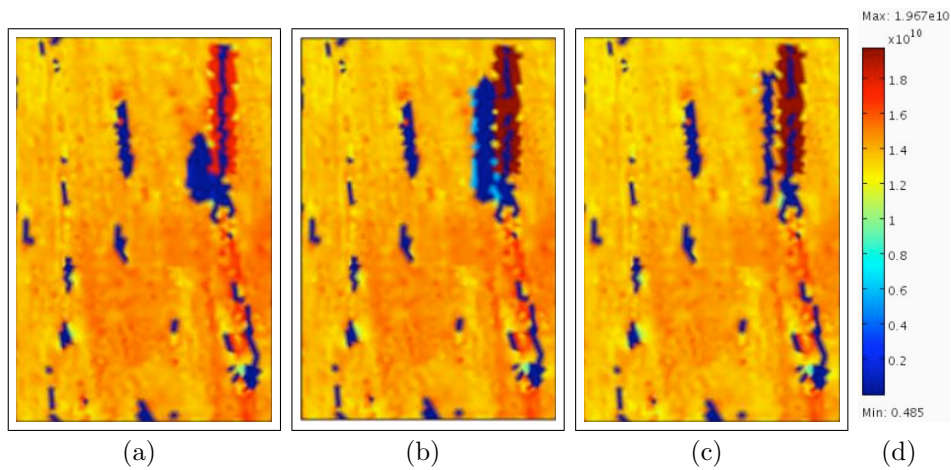


Figure C.4 – Microstructure 7 ($\varepsilon_{eq0} = 1.03 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Evolution du module de Young : (a) phase de résorption, t_r ; (b) phase d'apposition (de collagène), t_a ; (c) : phase de minéralisation, t_m ; (e) échelle de valeurs du module de Young (Pa)

Annexe D

Le processus de remodelage osseux

D.1 Les différentes étapes du remodelage

Comme précédemment dit dans le chapitre bibliographique 1.3, le tissu osseux se renouvelle avec une périodicité de quelques années. Le remodelage s'effectue en 6 grandes étapes : activation, résorption, réversion, formation, minéralisation, latence.

D.1.1 Activation

La phase d'activation dure deux à trois jours. Les cellules mécano-sensibles ostéocytaires vont être activées via divers stimuli environnants notamment lorsque le champ de déformation à proximité de leur filopodes dépassera un certain seuil. Elles vont alors envoyer différents messages chimiques et /ou électriques pour activer la différenciation de cellules souches (du sang (hématopoïétique) ou de la moelle osseuse (mésenchymateuse)) en futures cellules osseuses : les ostéoclastes et les ostéoblastes.

D.1.2 Résorption

L'étape de résorption se déroule sur environ trente à quarante jours (chez l'homme). Initialement, les ostéoclastes se fixent tels des ventouses sur le tissu osseux. Les interactions de l'intégrine de la membrane plasmique avec des protéines de la matrice osseuse (sialoprotéine, ostéopontine...) entraînent l'apparition d'une poche étanche

à la surface de l'os. Cette zone de scellement conduit à la polarisation de la cellule et à la constitution d'une membrane plissée. Cette poche de bordure ondulée est composée de pompes à protons de type V dépendante de l'adénosine triphosphatase (ATPase) et de canaux de chlore. Leur activité conjointe permet à la cellule de sécréter de l'acide chlorhydrique dans cette poche étanche qui se comporte comme un lysosome extracellulaire. Dans cette espace de résorption ou lacune de Howship, le pH est bas. Le pH devant atteindre la valeur de 4.5, cet espace doit être fermé à l'environnement grâce à une zone d'ancrage qui se forme de manière circulaire autour de la bordure plissée. Cet anneau hermétique est renforcé par voie intracellulaire par des filaments d'actine. La membrane cellulaire adhère, elle, fortement, via l'intégrine, à la protéine ostéopontine de la matrice osseuse qui a été synthétisée par les ostéoblastes.

L'acidité du compartiment sous-ostéoclastique est entretenue par des pompes à protons spécifiques de l'ostéoclaste qui expulsent les ions H^+ : l'acide dissout les cristaux de phosphate de calcium et des enzymes protéolytiques (cathepsine K, collagénase...) sont déversées par le biais de la fusion des lysosomes avec la membrane plissée et dégradent (ou plutôt digèrent) le collagène et les autres constituants organiques.

Ces produits s'évacuent par exocytose puis sont véhiculés à travers la cellule et sécrétés en surface. On les retrouve dans les vaisseaux sanguins et dans l'urine. Une autre partie des produits de dégradation de la matrice est internalisée par les ostéoclastes par des phénomènes d'endocytose pour être ensuite métabolisée ou relarguée dans la matrice osseuse par la partie basolatérale de la membrane (transcytose). Quand les ostéoclastes ont achevé leur travail de résorption, ils meurent par apoptose.

Les canaux de résorption peuvent apparaître aléatoirement dans le tissu osseux. Il est aussi probable que la résorption entraîne la libération au niveau de la matrice de facteurs de croissance et de différenciation qui stimuleront les prochains cycles de remodelage.

D.1.3 Réversion

L'étape de réversion est caractérisée par la différenciation des cellules mésenchymateuses en ostéoblastes et par le recrutement de ces ostéoblastes aux frontières de la lacune de résorption. Cette frontière est appelée ligne cémentante et définit la limite entre l'ostéon et la matrice d'os primaire. Elle possède d'ailleurs une composition et des propriétés mécaniques différentes des milieux adjacents qu'elle sépare. Cette étape de réversion dure environ 2 à 3 jours. Les facteurs de croissance, les vitamines (comme l'acide rétinol) et les molécules de la matrice (glycosaminoglycanes...) influent sur la différenciation des cellules souches mésenchymateuses en ostéoblastes qui élaborent « des travées » de matrice osseuse au sein du tissu conjonctif.

D.1.4 Formation

Lors de l'étape de formation, qui prend environ quatre-vingt jours, les ostéoblastes comblent la lacune en apposant une nouvelle matrice collagénique. Cette matrice non minéralisée ou ostéoïde est ensuite minéralisée afin de lui conférer sa solidité. Ainsi, les ostéoblastes arrivent au niveau de la périphérie du tunnel creusé par les ostéoclastes. Ils déposent des couches concentriques d'ostéoïde selon une vitesse décroissante (exponentiellement) (taux d'apposition de 1 à 2 μm par jour en moyenne). A noter que le taux d'apposition pourrait être fonction du gradient et du taux de déformation local.

La première couche apposée constitue la ligne cémentante, frontière entre l'ostéon et la matrice. Le porosité creusée n'est pas complètement remplie. Les ostéoblastes laissent en son centre un passage nommé canal de Havers de 40 à 50 μm de diamètre en moyenne. Cette étape de formation dure environ trois mois et nécessite plusieurs centaines d'ostéoblastes. Les ostéoblastes synthétisent alors des facteurs de croissance régulant leur propre métabolisme : des facteurs paracrines vont influencer le métabolisme des cellules voisines (Interleukine-1, facteurs stimulant la formation ou l'activité des ostéoclastes). Certains de ces facteurs sont inclus dans l'ostéoïde et seront ultérieurement libérés quand l'os sera à nouveau résorbé.

Notons d'ailleurs que certains facteurs de croissance tel que le FGF_2 , le TGF_β et

celui de l'endothélium vasculaire (VEGF) favorisent la formation locale de capillaires sanguins nécessaires lors du remodelage et à la survie du tissu osseux (puisqu'ils permettent l'apport de nutriments).

Suite à son apposition, on a minéralisation de l'ostéoïde. La minéralisation consiste en le dépôt de cristaux d'hydroxyapatite entre les fibres de collagène (fibres qui ont une périodicité de 67 nm environ). Elle ne s'effectue qu'après un temps d'environ dix à quinze jours appelé « mineralization lag time ». 60 % de la minéralisation s'effectue les premiers jours : c'est la minéralisation dite primaire. Les 40 % restant se font à un taux (vitesse) décroissant pendant 6 mois environ : c'est la minéralisation secondaire. Le vitesse de minéralisation diminue également au fur et à mesure que la phase de formation progresse.

D.1.5 Latence

L'étape de repos (« quiescence ») correspond au total retrait ou apoptose des ostéoclastes, à la transformation des ostéoblastes en ostéocytes ou en cellules bordantes ou à leur apoptose. Il n'y a plus d'activité cellulaire à proprement parler au niveau de l'ostéon nouvellement formé.

D.2 Le cône de coupe (ou "cutting cone")

Pour initier la résorption, un nombre suffisant d'ostéoclastes doit être rassemblé pour former ce cône de coupe en avant du front de remodelage formé par les unités multicellulaires de base ou BMU. Cependant, au maximum, une petite dizaine d'ostéoclastes suffit (relativement à la taille importante de ces cellules).

Différentes hypothèses quant à l'avancée du front existent. En voici quelques unes :

- un BMU dans l'os cortical avance au total de 4000 μm à 20 μm par jour ce qui induit un cycle de remodelage de 200 jours environ selon Parfitt [4]
- le cycle serait de 124 à 168 jours et l'avancée du front de résorption de 10 μm par jour [145]
- le front de résorption avance de 40 μm par jour longitudinalement et de 12 μm radialement [136]

Le cône de coupe serait assimilable à une surface ellipsoïdale d'environ 200 μm de diamètre et de 300 μm de long. Les ostéoclastes creusent donc une sorte de « tunnel » au sein de la matrice d'os primaire. Ce canal dit de Havers contient un vaisseau sanguin central relié perpendiculairement à d'autres vaisseaux via les canaux de Volkmann.

D.3 Le front de formation

L'avancée du front peut s'effectuer de manière symétrique bilatérale en terme de direction.

Les causes supposées de diminution du taux d'apposition sont multiples :

- Une seule génération d'ostéoblastes est présente dans la cavité de résorption. L'activité de ces cellules pouvant être ralentie au cours de la phase d'apposition, cela du à divers facteurs biologiques. (1)
- Plusieurs générations successives d'ostéoblastes sont à l'oeuvre mais chaque nouvelle génération est de plus en plus lente. (2)
- Plusieurs générations successives d'ostéoblastes sont à l'oeuvre mais le temps de création pour une nouvelle génération est de plus en plus long ce qui induit de plus longues périodes sans apposition. (3)
- Les causes (2) et (3) ont lieu simultanément.
- Les concentrations et déformations sont plus importantes en début de front qu'en fin et donc les premières cellules sont plus stimulées que les suivantes.

Toutes ces hypothèses font cependant encore débat et l'objet de nombreuses études.

Quant à la formation de matière minérale, la littérature a établi que, chez les hommes, le degré de minéralisation augmente jusqu'à l'âge de 40 ans puis se stabilise jusqu'à 60 ans, âge à partir duquel il commence à diminuer. Chez les femmes, il augmente également jusqu'à 40 ans puis diminue immédiatement. La diminution du degré moyen de minéralisation est la conséquence d'une augmentation du pourcentage de formation d'ostéons incomplètement minéralisés [14].

D.4 Le cas d'une fracture

En cas de fracture, l'activité cellulaire est temporellement et spatialement coordonnée par des facteurs de croissance et autres molécules de régulation comme l'*IGF* (Insulin Growth Factor), le *FGF* (Fibroblasts), le *PDGF* (platelet derived), le *TGF* (Transforming) et des protéines de morphogenèse de l'os (« Bone Morphogenetic Proteins » ou *BMPs*) [146].

Lors de la phase inflammatoire, consécutive à une fracture, la rupture de vaisseaux sanguins engendre un hématome. Celui-ci induit la libération des molécules de signalisation comme des cytokines inflammatoires (interleukines IL_1 et IL_6) et des facteurs de croissance (TGF_β , *PDGF*) qui vont réguler le processus de réparation de la fracture. Les *BMPs* activent alors la différenciation des cellules mésenchymateuses en chondrocytes ou en ostéoblastes.

On a alors soit ossification directe (formation intramembranaire ou remodelage) de la fracture soit formation endochondrale (formation de cartilage qui est ensuite minéralisé puis résorbé afin de laisser place à de l'os tissé. On a finalement remodelage de ce tissu afin d'obtenir de l'os lamellaire (avec ostéon)).

Les facteurs de croissance, comprenant les *BMP* (Bone Morphogenetic Proteins) et les facteurs de croissance fibroblastiques (FGF) ainsi que leurs récepteurs, sont sécrétés localement. Ils régulent le développement et la croissance du cartilage et de l'os pendant l'embryogenèse et stimulent la réparation en cas de fracture. Les *BMP* font donc partie d'un système de régulation (positive ou négative) de la formation du cartilage et de l'os.

On peut également remarquer que les taux de réparation, d'ossification du tissu et la rigidité sont améliorés lors de l'application de chargements cycliques.

D.5 Facteurs environnants nécessaires

D.5.1 Vascularisation et innervation du tissu osseux

La vascularisation est assurée par un réseau périphérique au niveau du périoste. Les vaisseaux pénètrent l'os perpendiculairement via les canaux de Volkmann et longitudinalement via les canaux de Havers. On trouve également des fibres nerveuses

dans le périoste et l'os (pénétration par les canaux de Havers et de Volkmann). Le tronc nerveux à l'intérieur de la diaphyse passe lui dans le canal médullaire avec les vaisseaux nourriciers.

D.5.2 Facteurs alimentaires et hormonaux

La régulation de l'ostéogenèse est déterminée par des facteurs génétiques (taille et forme des os), par les forces mécaniques environnantes (variations structurelles et des propriétés) et aussi par des facteurs nutritionnels et hormonaux.

L'alimentation doit apporter des acides aminés, de la vitamine *C*, du calcium, de la vitamine *D*, *A* et *K*.

En ce qui concerne les hormones, en voici quelques unes impliquées dans la formation et la longévité de l'os :

- Les hormones de croissance stimulent et activent les chondrocytes, les cellules ostéoprogénitrices et les ostéoblastes.
- La vitamine *D* favorise la minéralisation du tissu osseux. Elle stimule également l'ostéoclasie (résorption du tissu par les ostéoclastes)
- La parathormone (*PTH*) induit l'activation des ostéoclastes via les ostéoblastes, stimule l'ostéolyse par les ostéocytes, augmente la synthèse de l'hormone découlant de la transformation de la vitamine *D*.
- La calcitonine diminue l'activité des ostéoclastes et des ostéocytes (en ce qui concerne l'ostéolyse), stimule à court terme l'activité des ostéoblastes et favorise le stockage de calcium dans l'os.
- L'ostéocalcine est une protéine synthétisée par les ostéoblastes (synthèse vitamine *K* dépendante) : elle est sécrétée dans l'os et dans le sang et n'est pas relarguée par les ostéoclastes dans la matrice lors de la résorption osseuse.
- Les oestrogènes et stéroïdes sexuels contrôlent le début des ossifications endochondrales.

Annexe E

Le rôle des cellules dans le processus de remodelage osseux

E.1 Les unités multicellulaires de base ou Basic Unit Multicellular (BMU's)

L'ensemble des cellules osseuses intervenant dans le processus de remodelage osseux forme les unités multicellulaires de base ou BMU (Basic Multicellular Unit's). Celles ci peuvent provenir de [4] :

- la digestion de la membrane endostéale par des enzymes libérées par les cellules bordantes
- la néoangiogenèse (formation de vaisseaux sanguins)
- la sortie de précurseurs mononucléaires d'ostéoclastes circulants (le rassemblement d'un nombre suffisant de ces ostéoclastes étant nécessaire afin de former le cône de coupe)

E.2 Les cellules du remodelage

E.2.1 Les ostéoclastes

Les ostéoclastes sont d'énormes cellules multinuclées, actives pendant 12 jours environ. Ils sont ainsi constitués de plusieurs noyaux, de lysosomes et d'une bordure plissée ou en brosse. Ils sécrètent, entre autre, de l'interleukine 6 et de l'annexine II

(qui pourrait être un signal d'appel pour les ostéoblastes) [145], des acides organiques qui assurent la dissolution des minéraux et des hydrolases qui digèrent la partie organique (collagène notamment) de la matrice. Les ostéoclastes peuvent exprimer le connexon *C43*. On peut remarquer aussi que certaines substances, tel que l'oxyde d'azote *NO*, peuvent inhiber l'activité des ostéoclastes et stimuler la prolifération des ostéoblastes [147].

E.2.1.1 La différenciation des cellules souches

Cette différenciation nécessite la présence d'ostéoblastes. Les précurseurs des ostéoclastes-macrophages sont les cellules hématopoïétiques qui quittent les vaisseaux sanguins suite à un signal chimique ou autre et arrive à proximité d'un ostéoblaste qui, en temps normal, sécrète de l'ostéoprotégérine. L'ostéoprotégérine a une très grande affinité avec les récepteurs *RANK-L* se trouvant en surface des ostéoblastes. La liaison ostéoprotégérine-*RANK-L* empêche l'activation des précurseurs ostéoclastiques.

Une chute de la concentration extracellulaire de Ca^{2+} , en réponse à un stimulus (mécanique par exemple), va activer la glande parathyroïde qui sécrètera la parathormone (PTH). La parathormone se lie à des récepteurs qui lui sont spécifiques, se trouvant en surface des ostéoblastes. Cette liaison induit les effets suivants sur les ostéoblastes :

- Blocage de la synthèse d'ostéoprotégérine
- Production de ligands *RANK-L*
- Production des ligands *M-CSF* (notamment en réponse à la vitamine D_3 et à la *PTH*) : ce ligand *M-CSF* se lie alors au récepteur *M-CSF* à la surface du précurseur ostéoclastique. Celui ci va se transformer en précurseur ostéoclastique immature mais pourvu d'un récepteur *RANK*. Une liaison se crée entre ce récepteur *RANK* et le ligand *RANK-L*, fourni par les ostéoblastes, permettant la maturation de l'ostéoclaste immature.

La maturation des ostéoclastes est totalement terminée lorsque la zone d'ancrage et la bordure plissée (*ruffled border*) sont totalement formées. La résorption peut alors commencer.

E.2.1.2 La résorption de la matrice

Le pôle basal ou bordure de la cellule en contact avec l'os présente, comme dit précédemment, un plissement de la membrane (membrane plissée) dont la surface permet des échanges métaboliques nombreux. Les ostéoclastes, macromolécules multinuclées spécialisées, se fixent donc comme des ventouses à la surface du tissu osseux. La zone de contact proprement dite est dénuée de tout organite (zone claire) alors que le cytoplasme est lui chargé de très nombreuses vacuoles, de vésicules et de lysosomes qui contiennent des acides et enzymes capables de détruire la matrice osseuse minéralisée. La profondeur d'érosion dépendra de la durée de cette phase et donc de la durée de vie et du nombre des ostéoclastes.

E.2.2 Les ostéoblastes

E.2.2.1 Les cellules souches

Les précurseurs des ostéoblastes sont les cellules mésenchymateuses du stroma médullaire de la moelle osseuse ou des couches périostéales. Ces précurseurs proviennent de la prolifération de cellules pluripotentes. Ces cellules peuvent aussi se différencier en cellules adipeuses, en chondrocytes (qui permettent la formation endochondrale de l'os) ou en myoblastes.

Cette prolifération est régulée par l'interaction intercellulaire, des facteurs hormonaux ou locaux. On trouve ainsi des facteurs de transcription (protéine se fixant sur les régions promotrices de l'ADN) tel que le *Cbfa₁* qui est caractéristique et nécessaire à la différenciation des cellules de la lignée ostéoblastique. Ce facteur est d'ailleurs stimulé par des facteurs de croissance tel que des protéines morphogénétiques de l'os (*BMPs*, Bone Morphogenetic Proteins). D'autres facteurs de croissance tel que le *FGF₂*, le *TGF_β* et celui de l'endothélium vasculaire (VEGF) favorisent par la suite la formation locale de capillaires sanguins nécessaires lors du remodelage et à la survie du tissu osseux (apport de nutriments ...). Les ostéoblastes

comme les ostéocytes sont également sous la dépendance d'hormones circulantes.

L'ostéoblaste actif est une cellule cuboïde, polarisée, vésiculeuse, dont le cytoplasme est composé d'organites utiles à la synthèse et à la sécrétion de macromolécules matricielles. La partie de la membrane adjacente à l'os en formation possède un nombre plus important de filopodes que le côté qui y est opposé [75].

E.2.2.2 La synthèse de la matrice extracellulaire

La principale molécule synthétisée par les ostéoblastes est le collagène de type I, protéine présente initialement sous forme de procollagène. Ils synthétisent aussi des protéines non collagéniques, notamment de l'ostéocalcine et de l'ostéopontine et sécrètent également des facteurs de croissance tels que le $TGF\beta$, l' IGF , le FGF (respectivement le Transforming, l'Insulin et le Fibroblast Growth Factor).

Les molécules de collagène de type I forment des triples hélices qui s'assemblent en fibrilles via des ponts de pyridolines. Ces fibrilles s'organisent ensuite en faisceaux.

E.2.2.3 L'arrêt de la résorption

Pour arrêter cette phase de résorption, seule l'hormone calcitonine, en se liant à un récepteur de la membrane plasmique des ostéoclastes, a une influence directe sur ceux-ci. En effet, les ostéoclastes matures sont caractérisés par l'existence d'un récepteur à la calcitonine : la liaison se traduit par une rétraction cellulaire et une inhibition de la résorption. Ils possèdent aussi des récepteurs à la vitronectine, aussi appelés intégrine α_v ou intégrine β_3 , capables de se lier à d'autres molécules que la vitronectine telle que l'ostéopontine, protéine nécessaire à l'adhésion de l'ostéoclaste sur la travée osseuse.

Suite à la dissolution de la zone d'occlusion et à la disparition de la bordure plissée en fin de résorption, les ostéoclastes se libèrent de la matrice osseuse et meurent.

E.2.2.4 La minéralisation

La formation des cristaux d'hydroxyapatite n'est possible qu'en présence de certains niveaux de concentrations en Ca^{2+} et en PO_4^- . L'ostéopontine, la sialoprotéine osseuse et l'ostéonectine de la matrice osseuse non minéralisée possèdent des sites capables de se lier au calcium qui est déposé par les ostéoblastes lors de la phase de minéralisation. L'ostéocalcine présente dans l'ostéoïde, peut également capter les ions calcium extracellulaires, dont la concentration intracellulaire locale augmente lors de la phase de minéralisation. La phosphatase alcaline, enzyme synthétisée par les ostéoblastes, est capable d'hydrolyser les esters phosphoriques (pyrophosphates ...-P-O-P-.....) qui sont des inhibiteurs de la minéralisation. Cette enzyme permet l'accumulation de Ca^{2+} et de PO_4^- . Les ions calcium réagissent alors avec les fibres de collagène.

L'ajout progressif de minéraux se fait au dépourvu de la quantité d'eau qui va donc diminuer [75]. Notons que la minéralisation va déterminer la densité de l'os (le volume osseux étant lui fixé par la sécrétion d'ostéoïde).

E.2.3 Les ostéocytes (Rappel)

Les ostéocytes ont un rôle essentiel dans la réception et la transmission des divers stimuli environnants. Les cellules ostéocytaires sont organisées par couches et se trouvent dans les lacunes ostéocytaires. Ce sont notamment leurs filopodes se trouvant dans les canaliculi (conduits de $0.2 \mu m$ de diamètre environ) qui sont sensibles aux stimuli. Chaque filopode peut se connecter à 12 cellules environ.

La matrice entourant ces ostéocytes est non calcifiée, la minéralisation de l'ostéoïde s'arrêtant à l'approche d'un ostéocyte.

L'eau et autres petites molécules peuvent pénétrer le réseau de lacunes et canaliculi. Les canaliculi peuvent eux même traverser les lignes cémentantes ce qui permet la communication entre ostéon et matrice interstitielle. La surface d'échange totale de ces canalicules représente 1000 à 4000 m^2 . Le réseau tridimensionnel que les ostéocytes forment entre eux et avec les ostéoblastes et les cellules bordantes est parfois nommé CNN (connected cellular network [73]).

Ce réseau de protubérances opère de façon analogue au réseau neuronale. C'est un système dynamique stable, la rétroaction y est possible. Il peut être oscillatoire : les signaux rétroactifs permettent sa réorganisation afin de l'adapter aux événements extérieurs. L'information n'y est pas stockée de façon discrète mais y est distribuée continûment, plusieurs informations pouvant être stockées simultanément. Ce réseau s'adapte et s'organise en fonction de l'activité du cytosquelette (ajustement des charges mécaniques).

Selon Turner et al. [74], la transmission du signal via le réseau de filopodes des ostéocytes serait limitée en distance ($< 800 \mu\text{m}$). De même, la diffusion des nutriments étant peu efficace, l'ostéocyte ne pourrait survivre que s'il se trouve à moins de $200 \mu\text{m}$ environ d'un vaisseau sanguin. Cette limitation peut expliquer la taille des ostéons (diamètre maximale de $200 \mu\text{m}$ approximativement).

Les filopodes des ostéocytes contiennent un espace rempli de faisceau de filaments d'actine qui sont liés transversalement à intervalles réguliers le long de l'axe du filopode via les fimbrines (molécules de liaisons). Les filaments d'actine sont soumis à des charges internes dues aux fimbrines et externes dues à la matrice extracellulaire. Par ailleurs, entre la membrane cytoplasmique des protubérances, relativement rigides, et la paroi des canaliculi se trouve un fluide additionné de complexes macromoléculaires qui va induire des contraintes auxquelles seront sensibles les filopodes ostéocytaires. Les filopodes sont donc des acteurs majeurs de la mécanotransduction (transcription d'un stimulus mécanique en un phénomène biologique). La déformation de la membrane des filopodes nécessaire pour obtenir une réponse biochimique est de l'ordre de 1 à 10% in vitro. (1 à 3% selon Burger [76]). En général, macroscopiquement, la déformation du tissu osseux est de 0.04-0.3% (elle excède d'ailleurs rarement 0.1%). Une amplification du signal via le cytosquelette des cellules a donc probablement lieu (Cf. annexe F).

En plus de sa mécano sensibilité, l'ostéocyte permet de réguler la concentration en calcium dans le corps. En effet, le taux de calcium dans le sang est régulé par une hormone sécrétée par la glande parathyroïdienne, hormone qui stimule la mobilisation par les ostéocytes du calcium de la matrice adjacente. Sous l'action de la PTH et de la vitamine D, les ostéocytes résorbent la matrice adjacente, tandis que sous l'action de la calcitonine, elle favorise le stockage de calcium au niveau de cette

même matrice, assurant ainsi l'homéostasie du calcium dans le plasma.

E.2.4 Les cellules bordantes (lining cell)

Une couche d'ostéoïde de 1 μm d'épaisseur sépare les cellules bordantes de l'os minéralisé mais ne les empêche pas de communiquer avec les ostéoblastes et les ostéocytes. Les cellules bordantes agissent sur signal des ostéocytes et pourraient être susceptibles de « sentir » dans le temps et dans l'espace la nécessité de remodelage. Bien qu'inactives en terme de synthèse de tissu osseux, elles possèdent des récepteurs de la *PTH* (hormone parathyroïde), de l'oestrogène et autres messagers chimiques.

E.3 Le front de remodelage

Le front formé par le BMU (unité multicellulaire de base) se déplace plus ou moins longitudinalement, peut être bidirectionnel et forme une spirale (angle de courbure de 12 degrés environ) [136].

Lors de la formation, les ostéoblastes déposent la matière avec une vitesse décroissante. Cependant, au niveau de la microstructure, la formation de lamelles au sein des ostéons fait encore l'objet d'interrogation. Il s'agirait soit de la marque de l'arrivée d'un nouveau groupe d'ostéoblastes formant le tissu soit d'une pause dans l'activité de ces derniers.

Ce front subit divers champs mécaniques. Plusieurs théories existent notamment sur les contraintes agissant au niveau du cône, à l'avant du front. Selon Martin [136], on a une concentration de contraintes en extrémité avant du cône (là où se trouvent les ostéoclastes), contraintes dont l'intensité diminue le long du cône (vers l'extrémité où s'effectue l'apposition). D'autres optent pour des déformations faibles en tête du cône et fortes en queue (au niveau des ostéoblastes) [147] [148] ou encore pour différents types de contraintes (traction au niveau des ostéoclastes, compression au niveau des ostéoblastes) [149]. L'orientation des ostéons serait elle-même fonction des champs de déformations environnants. De même, certains pensent que les fibres de collagène au sein des ostéons sont également orientées en fonction des contraintes environnantes subies par les ostéoblastes.

On peut remarquer qu'un BMU qui avance de 3 mm et trois BMU qui avancent chacun de 1 mm nécessitent le même nombre d'ostéoclastes et d'ostéoblastes, ont les mêmes effets histologiques et biochimiques mais ont une signification et une initiation biologique différentes.

Annexe F

La Mécanotransduction

F.1 Généralités

A l'origine de l'activation du phénomène de remodelage se trouve la mécanotransduction. En effet, le remodelage est généralement initialisé suite à un stimulus d'ordre biologique, chimique ou mécanique. La stimulation mécanique consiste en des déformations, des contraintes, de l'énergie de déformation ou de contrainte et/ou de l'endommagement par fatigue.

Lorsqu'un chargement cyclique, par exemple, induit des microfissures, la perméabilité des canaliculi augmente et la vitesse du flux de fluide diminue. On a un endommagement par fatigue qui active le remodelage i.e. la résorption puis, à nouveau, la formation de l'os. Le remodelage sert, en effet, à renouveler l'os abîmé, entre autre, par de l'endommagement par fatigue qui se présente à l'échelle de l'ultrastructure par des zones endommagées, localisées, dans la matrice d'os primaire. En ces lieux, les ostéocytes sont plus sensibles aux déformations.

Il est possible que les microfissures ainsi créées interfèrent avec l'intégrité du réseau ostéocytaire et lacuno-canaliculaire en rompant les canaliculi et empêchent ainsi la communication inter-ostéocytes qui s'effectue via les filopodes ostéocytaires et les cellules surfaciques ou ostéoblastiques (du tissu osseux). Une décharge mécanique peut ainsi diminuer le potentiel et le nombre d'ostéocytes. Il est également probable qu'une maladie puisse réduire la stimulation mécanique des ostéocytes et qu'un manque d'apport en nutriments puisse diminuer la viabilité des ostéocytes et les tuer. La mort des ostéocytes pourrait être un signal d'appel pour les ostéoclastes,

initiant ainsi la résorption de l'os sans pour autant avoir formation par la suite. Il est donc probable que les ostéocytes soit à l'origine de signal d'inhibition de l'activité des ostéoclastes. Leur mort permettrait l'activation des ostéoclastes. D'où l'initiation du remodelage [73]. En effet, selon des expériences *in vitro*, les ostéocytes sont capables de sécréter de l'oxyde d'azote (*NO*) qui est inhibiteur de l'activité des ostéoclastes [76] [150]. D'autres théories sont évoquées dont une, opposée à la précédente, qui suppose que les signaux ostéocytaires inhibent les ostéoblastes et les cellules bordantes et non pas les ostéoclastes. Cette théorie se base sur l'hypothèse que ces cellules bordantes ou « lining cell » sont capables d'activer le phénomène de remodelage osseux. Ainsi une baisse d'oestrogène ou la rupture du réseau de filopodes, suite à une forte déformation par exemple, induirait une diminution de signal d'inhibition et donc impliquerait une activation des « lining cell » et donc du remodelage [151].

Remarque : on peut également remarquer une baisse de l'efficacité de la mécanotransduction avec l'âge.

F.2 La mécanotransduction réalisées par les cellules osseuses

La description des cellules osseuses effectuée dans cette partie est uniquement relative au phénomène de mécano-transduction. Des généralités sont données dans le chapitre bibliographique et autres annexes. Les cellules osseuses, notamment les ostéocytes, sont sensibles aux stimulations mécaniques (flux de fluide, contraction des muscles), chimiques et électriques (SGP, potentiel électrique généré par des déformation). En effet, les cellules osseuses sont électriquement actives.

F.2.1 Les ostéoclastes

Les ostéoclastes, cellules multinuclées géantes, sécrètent, comme évoqué dans l'annexe E, et entre autre, de l'interleukine 6 et de l'annexine II (qui pourrait être un signal d'appel pour les ostéoblastes) [152] et peuvent aussi exprimer le *C43*. On peut remarquer, par exemple, que l'oxyde d'azote *NO* inhibe l'activité des ostéo-

clastes et stimule la prolifération des ostéoblastes [147]. L'hormone calcitonine en se liant à un récepteur de la membrane plasmique a une influence directe sur les ostéoclastes. En effet, les ostéoclastes matures possèdent des récepteurs à la calcitonine : la liaison de la calcitonine avec ce récepteur se traduit par une rétraction cellulaire et une inhibition de leur activité de résorption. Les ostéoclastes ont également des récepteurs à la vitronectine, aussi appelés intégrine α_v / β_3 , capable de « réceptionner » d'autres molécules, telle que l'ostéopontine, nécessaires à leur adhésion sur la travée osseuse.

F.2.2 Les ostéoblastes

Les ostéoblastes sont reliés entre eux, avec les cellules bordantes (ou « bone lining cell » se situant au niveau des parois osseuses) et les ostéocytes (anciens ostéoblastes enlisés dans la matrice) via des jonctions intercellulaires et des sites d'adhésion focale (ou « gap junctions ») se trouvant au niveau de leurs filopodes.

Lors d'une stimulation mécanique, suite à d'une sécrétion autocrine d'Adénosine TriPhosphate (ATP) extracellulaire par exemple, les ostéoblastes, comme les chondrocytes produisent des ondes synchronisées d'ions calcium Ca^{2+} qui se propagent via diverses voies. Ces « ondes » peuvent véhiculer via des jonctions intercellulaires (ou connexons), les ostéoblastes étant capables d'exprimer les connexines C43 et C45, ou de se propager via des canaux ioniques (de cation, canaux voltage type L). Ces signaux, conséquences de la stimulation, convergent ainsi vers les cellules adjacentes ou la matrice extracellulaire.

La déformation des ostéoblastes engendre leur prolifération. Ils sécrètent alors en quantité supérieure à la normale des prostaglandines *PGE*, de la phosphatase alcaline et du collagène de type I puis de l'hydroxyapatite nécessaire à la minéralisation de la matrice extracellulaire.

On peut remarquer que, lors d'une activité « normale », les ostéoblastes et ostéocytes ont une faible activité. Cependant, il est possible que des charges physiologiques « normales » soient nécessaires à la conservation de la viabilité des ostéocytes pour permettre le déplacement de nutriments et de déchets mais aussi pour leur procurer un niveau minimum de stimulation mécanique grâce aux contraintes de cisaillement dues au flux de fluide qui permettrait, selon certains auteurs [153] [147], d'inhiber

la différenciation des cellules hématopoïétiques en ostéoclastes et donc d'éviter la résorption inutile de l'os.

F.2.3 Les ostéocytes

Les ostéocytes sont d'anciens ostéoblastes mécano-sensibles, qui ne peuvent pas proliférer.

A l'interface entre protubérances cytoplasmiques des ostéocytes et des cellules osseuses surfaciques se forment les jonctions intercellulaires (gap junctions...) (cf. paragraphes suivants) qui permettent les échanges de signaux entre cellules [152] [150]. La réponse des ostéocytes aux stimuli mécaniques consiste en l'expression de protéines osseuses, de facteurs de croissance insulinique *IGF – I* et *II*, d'ostéocalcine, de *c-fos*, de prostaglandine *PGE₂* et *PGI₂* et la libération d'oestrogène, de prostanoides, d'oxyde d'azote *NO* [148]. In vivo, les ostéocytes expriment aussi le mRNA du β -actine, l'ostéopontine, la connexine 43 et à moindre amplitude le *C45*, le *c-jun*. En leur surface, on trouve également des récepteurs spécifiques de l'hormone parathyroïdienne PTH.

Ainsi, en réponse à un flux de fluide, les ostéocytes vont induire une hausse de la production d'oxyde d'azote *NO*, de prostaglandine et une augmentation intracellulaire de la concentration en ions Ca^{2+} via les canaux ioniques activés par la déformation ou les jonctions communicantes. Les ostéocytes répondent ainsi au champ de déformation se produisant autour des unités multicellulaires basiques (BMUs, Basic Multicellular Unit). Cette réponse aux stimuli est fonction du lignage de la cellule ostéocytaire. Les plus jeunes seront les plus sensibles à la déformation et à l'influx croissant de Ca^{2+} extracellulaire. Les ostéocytes sont particulièrement sensibles aux déformations consécutives des flux de fluide à travers les canaliculi (le long de leurs filopodes qui induisent des cisaillements) plus qu'aux autres types de déformations (issues par exemple de compression hydrostatique) [76] .

On peut également remarquer que la déformation de la membrane des filopodes nécessaire pour obtenir une réponse biochimique est de l'ordre de 1 à 10% in vitro (1 à 3% selon Burger et al [76]). En général, macroscopiquement, la déformation du tissu osseux est de 0.04 à 0.3% (elle excède d'ailleurs rarement 0.1 %). Il y a donc une amplification du signal extérieur [123]. De plus, une sollicitation cyclique s'avère

plus efficace qu'un chargement statique pour initier un changement de métabolisme des ostéocytes et l'activation des cellules bordantes. Ce type de sollicitation engendre également la synthèse d'ostéoblastes dans la matrice et l'activation des cellules périostéales [154]. En terme de fréquence, *in vivo*, on a déformation macroscopique de l'os pour des fréquences de 0.2 à 40 Hz [155]. (Notons qu'on a contraction du muscle pour 50-60 Hz). Par ailleurs, si les cellules répondent à une déformation de 0.1% à 1 ou 2 Hz alors elles répondront à une déformation de 0.01% à 20 Hz.

De même, bien que l'activité métabolique des ostéocytes est inférieure à celle des ostéoblastes, les ostéocytes participent à l'apposition et la résorption de la matrice qui leur est adjacente.

Les ostéocytes ont donc pour fonction principales : la synthèse de fibres collagènes, la régulation de l'activité des ostéoclastes et la régulation de la minéralisation (via l'hormone parathyroïdienne).

Il est possible que les ostéocytes en conditions normales (i.e. conditions physiologiques, mécaniques (activité standard), chimiques) envoient un signal inhibiteur pour les ostéoclastes (signal de *NO* et autres vecteurs chimiques). Lors d'une baisse de masse osseuse, par exemple lors d'une immobilisation prolongée, la glande parathyroïde secrète l'hormone parathyroïde qui se fixe au niveau des récepteurs que possèdent les ostéocytes et les ostéoblastes. Les ostéoblastes sécrètent alors des ligands *M-CSF* et *RANK-L* qui vont permettre la différenciation des précurseurs ostéoclastiques en ostéoclastes (Cf. annexe D). Ces ostéoclastes peuvent alors initier la phase de résorption et donc le phénomène de remodelage. De même, lors d'une forte déformation qui induit de l'endommagement, la connexion entre ostéocytes peut être interrompue. Il peut même avoir mort de ces ostéocytes. Ceux ci ne sécrètent ainsi plus d'oxyde d'azote *NO*. Il n'y a plus d'inhibition des ostéoclastes. Dans ce dernier cas, se pose le problème de l'activation des ostéoblastes afin d'activer la différenciation des précurseurs ostéoclastiques. Elle pourrait être effectuée par les cellules bordantes (lining cell). Les ostéocytes permettraient la régulation et l'apport de calcium dans l'organisme. Il est alors possible que leur mort induisent une baisse de calcium qui va engendrer la sécrétion d'hormone par la glande parathyroïde et donc activer les ostéoblastes.

F.3 La stimulation des cellules osseuses

On a plusieurs types de stimulation possible, la plupart faisant encore l'objet de recherche. En général, la conséquence de ces stimulations est le changement de morphologie des cellules mécano-sensibles : celles-ci s'alignent selon les directions de chargement (contraintes de cisaillement consécutives du flux de fluide, déformations), le changement d'orientation pouvant s'effectuer en quelques secondes. La forme des cellules semble importante car son altération par des charges mécaniques peut se propager aux cellules voisines et induire la transduction du signal. On remarque que, lors des étapes de différenciation, les cellules sont plus sensibles aux divers stimuli.

Lors du remodelage osseux, la stimulation s'effectue notamment au niveau du cône de coupe du BMUs. Cette stimulation fait l'objet de plusieurs hypothèses. Il existerait des contraintes de traction en tête du cône (ostéoclastes) et de compression en fin de cône (ostéoblastes) [149]. Une autre possibilité est l'existence de faibles déformations en tête du cône qui facilitent l'activité des ostéoclastes et de fortes déformations à l'extrémité opposée qui stimulent l'activation des ostéocytes et des ostéoblastes [148]. On peut également avoir un influx de fluide dans le canaliculus au niveau de la tête du cône (où se trouvent les ostéoclastes), ce qui équivaut à des contraintes de cisaillement faibles sur les ostéocytes proches, et donc peu ou pas de libération d'oxyde d'azote NO et un exflux de fluide sur le reste du cône (là où sont les ostéoblastes) ce qui équivaut à de plus fortes contraintes de cisaillement sur les ostéocytes à proximité et donc à une production de NO [147].

F.4 Les différents déclencheurs de la mécano-transduction

F.4.1 Le flux de fluide

Le flux de fluide véhicule dans les lacunes et les canaliculi (formant ainsi un anneau de fluide dans l'espace péricellulaire entre les parois internes des canaliculi et les parois externes des filopodes) : il est un médiateur de la mécanotransduction dans l'organisme, notamment de la mécano-sensibilité des ostéocytes *in vivo*.

Lorsqu'une déformation mécanique a lieu, il y a changement de volume des pores (contraction ou dilatation) ce qui engendre un gradient de pression et donc un flux qui est important dans les petites porosités, notamment dans les porosités lacuno-caniculaires, et négligeable dans les plus grandes porosités (lumen, canaux de Volkmann et de Havers) [135] [156].

Les ostéocytes sont stimulés par la circulation de ce fluide : ils réagissent notamment au débit pulsatile en produisant certaines substances. *In vitro*, un flux de fluide sur les ostéocytes provoque la libération de prostaglandines PGE_2 et PGI_2 , essentiels à la transduction des stimuli mécanique. En effet, le PGE_2 stimule la prolifération des cellules ostéoblastiques et ainsi la formation de l'os [148].

Le flux de fluide engendre aussi la sécrétion d'ostéocalcine et d'alcaline phosphatase (ALP) par ces ostéocytes, dont la quantité sera fonction du niveau de la déformation et du niveau de différenciation cellulaire dans laquelle se trouvent les ostéoblastes stimulés. Notons qu'un flux pulsé ou une déformation cyclique [157] impliquera une libération cinq fois plus importante de PGE_2 et de PGI_2 et favorise donc la stimulation des ostéocytes et des ostéoblastes. Le taux de déformation influence plus fortement la stimulation que l'amplitude.

Remarquons aussi l'existence d'un phénomène de mémoire : la prostaglandine est produite longtemps après la fin de chargement cela grâce à la présence de COX_2 . Un chargement cyclique favorise donc une réponse adaptative et continue de l'os. Des expériences *in vitro* ont montré que des contraintes de cisaillement via un flux de fluide entraîne une libération de PGE_2 , dont la quantité serait fonction de la dose d'inositol triphosphate (IP_3) en présence. Ce flux induit aussi une libération rapide et continue de NO (favorisant les ostéoblastes en dépit des ostéoclastes) par les ostéocytes [147]. Il favorise la production de protéine G et une élévation de la concentration en calcium intracellulaire. Le flux peut impliquer également la soumission des membranes des cellules à des potentiels électriques (potential streaming ou Strain Generated Potential SGP) en addition des contraintes de cisaillement. Ce flux convectif créé dans les canaliculi permet également l'apport de nutriments aux ostéocytes et la modulation du mouvement ionique (Ca^{2+}) à travers les membranes cellulaires via les pompes ou canaux membranaires (Cf. paragraphes suivants). On peut relever que la vitesse du flux de Ca^{2+} au niveau des « gap junctions » est de

2 $\mu\text{m/s}$ (i.e. le flux traverse les trabécules ou ostéons en quelques minutes) [74].

Plusieurs remarques peuvent être faites à ce niveau. Une élévation des contraintes semble augmenter la viscosité sans augmenter la vitesse du flux de fluide (qui dépend du taux de déformation). Par ailleurs, la vitesse du flux est de l'ordre de 30 à 80 dyn/cm^2 selon Cowin [156], ou 8 à 30 dynes/cm^2 soit 0.8 à 3 Pa selon Burger et al. [76]. Ce flux fluide engendrerait des contraintes de cisaillement quasi proportionnelles à la fréquence de déformation [73] : une déformation macroscopique de 0.1% équivaut à des contraintes de cisaillement au sein du fluide de 1 Pa environ.

En ce qui concerne l'environnement extérieur à l'os, les contraintes de cisaillement entraînent aussi une adaptation des vaisseaux aux changements de débit du flux sanguin. Une élévation de la vitesse du flux induit une augmentation du diamètre des vaisseaux afin de conserver une pression constante. Cette adaptation se fait via les cellules endothéliales qui produisent (grâce à des enzymes du type oxyde d'azote synthétase *NOS*) des messagers intercellulaires : l'oxyde d'azote et la prostaglandine engendrent un relâchement musculaire et donc une dilatation des vaisseaux. Les ostéocytes et les cellules endothéliales semblent avoir ainsi la même sensibilité au flux de fluide.

F.4.2 Les potentiels électriques générés par les déformations (SGP)

Comme cela a été dit précédemment, le flux de fluide provoque des contraintes de cisaillement et des potentiels électriques (ou "Strain Generated Potential" *SGP*).

Les sites sources des potentiels générés par des déformations (*SGP*) sont les pores entourant les cristaux d'hydroxyapatite *HA* (diamètre de 16 nm) au sein de la matrice collagénique (Salzstein et al. [158]) (cohérent avec un modèle poroélastique-électrocinétique) ou encore les pores lacuno-canaliculaires, de diamètre 100 nm environ, sensibles au flux de fluide hydraulique et à la contribution électrocinétique qui est associée au passage de ce fluide à travers la surface matricielle (glycocalyx) et les protubérances ostéocytaires (filopodes).

La matrice extracellulaire possède, en effet, une couche de glycocalyx chargée négativement. Le fluide électrolytique adjacent à la matrice possède lui une bicouche diffuse de charge positive. Lors du mouvement de ce fluide (suite à une déformation),

les charges positives en excès se déplacent par convection ce qui induit un courant et des potentiels répartis. On trouve donc les *SGP* dans les "anneaux" de fluide se localisant entre les filopodes ostéocytaires et les parois internes des canaliculi ou le glycocalyx (au niveau de la surface matricielle).

Le changement de potentiel est fonction de la fréquence du stimulus (hyperpolarisation de la membrane cellulaire via un canal de Ca^{2+} et de K^+ et dépolarisation via un canal de Na^+). Selon Cowin et al. [122], la distribution spatiale des potentiels électriques intracellulaire (de la ligne cémentante au canal haversien de l'ostéon) est fonction de la fréquence des déformations et de la conductance des jonctions communicantes. D'autre part, le glycocalyx induit une augmentation de *SGP* et de la résistance hydraulique du flux suite à la déformation.

L'os est également susceptible de répondre à un champ électrique exogène (le domaine effectif où a lieu une réponse de l'os est de 1 à 10 $\mu V/cm$) du fait de sa caractéristique piézoélectrique [73])

F.4.3 Les jonctions communicantes ou « gap junction »

Les jonctions communicantes [152] régulent le fonctionnement des ostéoblastes et des ostéocytes et assurent leur interconnexion (au niveau du périoste et de l'endoste). Les cellules bordantes sont similairement interconnectées latéralement en surface de l'os et perpendiculairement avec les préostéoblastes. Les ostéoblastes et ostéocytes réorganisent leurs jonctions communicantes en réponse aux contraintes de cisaillement conséquentes au flux de fluide. Cela peut induire l'ouverture des demi-canaux de connexine entre les ostéoblastes et les ostéocytes. On peut remarquer que les jonctions communicantes permettent un passage bidirectionnel de l'information.

Les cellules bordantes et les ostéocytes vont ainsi pouvoir réguler les fonctions anabolisantes de l'os en coordonnant les signaux parmi les cellules osseuses via les longues filopodes ostéocytaires.

Au niveau du tissu osseux, on trouve trois types de protéines pour les jonctions communicantes ou connexines : la connexine 43 (*C43*), majoritaire, la connexine 45 (*C45*) et la connexine 46 (*C46*). Les chondrocytes (cellules à l'origine de la formation du cartilage), les ostéocytes, les ostéoblastes et les ostéoclastes expriment aussi et

surtout la connexine *C43* (notamment lors de la différenciation cellulaire ou en réponse aux contraintes de cisaillement). La *C43* permet, par exemple, la diffusion de molécules assez grandes (masse molaire < 1.2 kDa) de préférence de charge négative. Associée à l'inositol 1,4,5-triphosphate (*IP₃*), elle permet la propagation d'onde de Ca^{2+} de cellule en cellule.

Ainsi, les jonctions communicantes permettent de diriger le signal via les messagers secondaires et les métabolites qui sont propagés parmi les cellules et de participer à leur régulation. La connexine peut également permettre l'ouverture des demi-canaux sur le milieu extracellulaire.

Il existe toutefois des inhibiteurs de jonctions communicantes, telles que l'oléamide, qui peuvent empêcher la différenciation des préostéoblastes en ostéoblastes matures. La réaction à des stimuli hormonaux ou mécaniques est alors moindre. En effet, l'inhibition de *C43* dans les ostéoblastes en surface de l'os (bone lining) induit une diminution de gènes favorisant l'ostéoblastogenèse, une baisse de la capacité à répondre aux stimuli et en général, une baisse de la production en ostéocalcine et de collagène de type I α_1 .

On peut noter que l'on trouve également des jonctions communicantes parmi les cellules de la moelle osseuse (cellules stromales et endothéliales, constituant les vaisseaux sanguins) : cette interaction avec l'environnement de l'os favorise d'ailleurs l'ostéogénèse.

F.4.4 Influence de la gravité

La gravité a également un effet important sur les cellules osseuses et peut entraîner une perte de 1 à 2% de masse osseuse par mois [73]. Au cours du temps, elle ralentie ou arrête la croissance du périoste et peut engendrer un début d'ostéopénie.

F.5 Le processus de mécano-transduction appliqué au remodelage osseux.

F.5.1 Des récepteurs aux effecteurs

L'énergie produite par les stimuli modifie la structure et l'activité des récepteurs, tels que les canaux ioniques mécano-sensibles [135]. Ces canaux sont capables de s'ouvrir en réponse à un étirement de la membrane plasmique ou autre stimulus mécanique.

Par exemple, la liaison entre le neurotransmetteur acétylcholine et le récepteur associé est susceptible d'engendrer l'ouverture d'un canal ionique et aboutir à la dépolarisation de la membrane plasmique. La liaison entre un ligand ou une hormone et la surface d'un récepteur transmembranaire peut modifier leur conformation et augmenter leur affinité pour les protéines cytoplasmiques de signalisation, comme les protéines G (qui lient la guanine triphosphate). Dans tous les cas, une voie pour le passage de l'information est ainsi ouverte. Des messagers dits secondaires (Ca^{2+} , nucléotides cycliques, lipidiques) transportent alors, par diffusion, les informations au sein de la cellule.

Ces informations ont été auparavant transduites par des protéines de signalisation (kinase, protéine G). Ces protéines ont elles mêmes été activées en se liant avec un messenger secondaire (par exemple Ca^{2+}) par hydrolyse d'un nucléotide, par phosphorylation ou déphosphorylation. Ces protéines agissent souvent en cascade afin d'amplifier et/ou d'affiner la réponse cellulaire aux stimuli.

Les messagers intracellulaires secondaires vont agir sur des systèmes effecteurs, qui vont intégrer les signaux. Ces systèmes effecteurs peuvent être des facteurs de transcription qui contrôlent l'expression des gènes, des organes sécréteurs, des enzymes du métabolisme, des protéines motrices du cytosquelette, des récepteurs de surface, des protéines de régulation du cycle cellulaire et des canaux ioniques membranaires. Ils ont pour rôle de modifier le comportement, l'activité des cellules (sécrétion, différenciation, déplacement).

Les cellules envoient ensuite des signaux vers la matrice environnante via les jonctions communicantes notamment (« gap junction ») ou par adhérence cellulaire (via l'intégrine du cytosquelette cellulaire).

Lors du remodelage, les cellules les plus sollicitées sont les cellules mésenchymateuses et hématopoïétiques. Les cellules souches mésenchymateuses se différencieront en ostéoblastes, qui pour certaines d'entre elles deviendront les ostéocytes ou les cellules bordantes ; les cellules hématopoïétiques donneront elles les ostéoclastes.

F.5.2 Les cycles du processus de mécano-transduction.

La mécano-transduction cellulaire représente donc la conversion de force physique, mécanique en réponse biologique cellulaire. On peut différencier quatre phases principales [159] : le mécanocouplage, le couplage bio-chimique, la transmission du signal et la réponse des cellules effectrices.

Le mécanocouplage

Il consiste en la transduction de force mécanique macroscopique appliquée à l'os en un signal mécanique local perçu par des cellules dites mécano-sensibles. Les ostéocytes, notamment, agissent comme « capteur » des déformations locales du tissu osseux. Un gradient de pression se crée dans les pores canaliculo-lacunaires : des contraintes de cisaillement conséquentes de ce flux de fluide apparaissent autour des filopodes des ostéocytes et des autres cellules. Apparaissent aussi les courants de potentiel nommés « potential streaming » conséquent de ces déformations.

Ainsi, un chargement mécanique (à l'échelle des déformations physiologiques macroscopiques) induit des changements de pression hydrostatique, des déformations directes des cellules, du cisaillement induit par le flux de fluide et des champs électriques et donc une augmentation ou une modification de l'activité métabolique des cellules mécano-sensibles (ostéocytes, cellules bordantes..).

Le couplage bio-chimique

Les signaux arrivent aux cellules via des récepteurs (voies chimiques diverses, par exemple un canal de cation activé par étirement, ou via les filaments d'intégrines du cytosquelette des cellules au niveau des adhésions focales). Il existe de nombreux mécano-transducteurs dans les membranes cellulaires : ce sont entre autres des *G*-protéines liées. Une fois « transduit », les signaux sont transportés dans la cellule par les seconds messagers tels que l'inositol triphosphate, le cyclo-oxygénase

2 (COX_2) (enzyme nécessaire à la production de prostaglandine PG), de l'oxyde d'azote synthase (NOS). On a alors également des mouvements d'ions de calcium extracellulaire à travers les membranes cellulaires via les canaux ioniques. Un champ mécanique ou un flux de cisaillement induit donc rapidement une élévation du niveau intracellulaire de la concentration en Ca^{2+} (notamment dans les ostéoblastes soumis à des contraintes de cisaillement dues à un flux de fluide), une production de prostaglandine et d'oxyde d'azote.

La transmission du signal : communication cellule à cellule.

Ces divers signaux (Ca^{2+} , prostaglandines, oxyde d'azote, généré indépendamment de la prostaglandine et favorisant l'activation mécanique de l'expression du gène $c-fos$ dans les ostéocytes, de l' IGF_I (insulin growth factor) et autres) sont ensuite transmis à d'autres cellules (ostéocytes, ostéoblastes) via des jonctions intercellulaires (jonctions communicantes ou « gap-junction »). Chaque jonction crée un pore de 20 nm de diamètre permettant le passage d'ions et molécules [75].

La réponse effectrice

Ce sont alors les ostéoblastes et ostéoclastes qui agissent pour réaliser le remodelage osseux.

Dans ce qui suit, on précise comment s'effectue la régulation cellulaire, qui se produit à chaque instant.

F.6 La Mécanotransduction du point de vue de la biologie cellulaire.

F.6.1 Le cytosquelette

Le cytosquelette sert d'échafaudage au cytoplasme de la cellule et est constitué de filaments intermédiaires, de filaments d'actine et de microtubules (Cf. Glossaire, Annexe H). Il est l'un des facteurs intracellulaires majeurs déterminant la morphologie et la fonction des cellules.

Les fibres d'actine du cytosquelette sont orientées selon l'axe principal de la cellule sous forme de fuseau. Elles possèdent des récepteurs à intégrine.

L'intégrine est une protéine transmembranaire hétérodimétrique qui lie la matrice extracellulaire à l'extérieur de la cellule de façon mécanique et qui est liée aux filaments d'actine. Ces liens sont de type protéinique (α -actinine, vinculine) et favorisent le développement de tension interne dû à l'actine et à la myosine qui auront un rôle de transduction du signal de la matrice extracellulaire au noyau de la cellule afin de réguler l'expression des gènes.

La stimulation des protéines transmembranaires, comme l'intégrine, par des stimuli locaux (mécanique, chimique...), induit la réorientation des filaments d'actine et la distorsion locale du noyau dans la direction de chargement. Les contraintes de cisaillement vont permettre la réorganisation des filaments d'actine en fibres contractiles (capables de se contracter, nommées « stress fiber ») via l'apport de β -intégrine et de α -actinine au niveau des adhésions focales ou « focal-adhesion ». Ces filaments permettront la transduction du signal du cytosquelette vers les ostéocytes et les ostéoblastes. Remarquons que cette réorganisation dépend aussi du niveau de pré-contraintes du milieu.

Le cytosquelette régule donc plusieurs processus tel que le renforcement de la réponse mécanique via la connexion des filaments intermédiaires au site d'adhésion intercellulaires (« focal adhesion ») ou la réorientation des filaments d'actine dans la direction de chargement [160], ce qui va favoriser le processus de remodelage osseux.

F.6.2 La signalisation cellulaire

Lorsque les cellules reconnaissent un stimulus, elles le transduisent en une réponse qui induit généralement un changement d'activité cellulaire. La réponse s'effectue en plusieurs étapes :

- activation par un stimulus (souvent un ligand chimique) d'un récepteur
- transduction et souvent amplification du stimulus en un signal intracellulaire par les protéines de signalisation (qui correspond à changement de concentration d'un messenger ou d'activité d'une protéine)
- action du messenger intracellulaire sur des systèmes effecteurs associés afin de modifier le comportement de la cellule.

A ce processus s'ajoutent des informations de voies de signalisation parallèles (arrivée et départ de plusieurs informations au niveau d'un seul effecteur car les voies peuvent converger et/ou diverger) et de boucles de rétroaction (activation ou inhibition). Notons aussi que certaines voies de signalisation dépendent de l'intensité et de la durée du stimulus.

F.6.2.1 Le transport intracellulaire de l'information (réception et transduction des informations environnementales)

On s'intéresse ici aux plus utilisés.

Les récepteurs membranaires

La plupart des récepteurs membranaires sont des protéines membranaires qui interagissent avec les ligands qui leur sont associées et (*)/ou (**) qui sont stimulées par des phénomènes physiques se produisant à la surface des cellules.

Ils permettent donc de détecter et de répondre à des stimuli extracellulaires chimiques (hormones, monoxyde de carbone) ou physiques. Le signal est ainsi transmis à travers la bicouche lipidique (membrane).

On trouve les récepteurs à sept hélices membranaires couplés aux protéines G (*), les récepteurs des cytokines (*), les récepteurs tyrosine kinases (**), les récepteurs guanine cyclase... On peut noter que l'énergie produite par l'interaction entre les stimuli et les récepteurs ou par la liaison des ligands chimiques à leurs récepteurs modifie leur structure et leur activité.

Les canaux membranaires.

Il en existe deux types : les canaux ioniques contrôlés par les ligands et les canaux ioniques voltage dépendants.

Ce sont des protéines intramembranaires qui vont ménager des pores qui permettent à certains ions ou petites molécules de traverser la bicouche lipidique du cytoplasme. Ils permettent un mouvement plus rapide que les pompes et les transporteurs (Cf. Glossaire, annexe H).

Les canaux ioniques régulent le potentiel électrique transmembranaire dont la polarité et l'amplitude dépendent des gradients ioniques. L'ouverture des canaux engendre un potentiel électrique. La modification de ce potentiel via les ouvertures et les fermetures des canaux permet l'émission d'un signal électrique qui se propage sur la surface des cellules qui exploitent ce potentiel d'action ainsi créé. D'autres canaux permettent le passage d'ions du milieu extracellulaire ou du réticulum endoplasmique vers le cytoplasme. Certains canaux sont sensibles aux variations de potentiels membranaires, d'autres aux ligands intracellulaires (adénosine monophosphate cyclique *AMPC*, protéines *G*) ou extracellulaires (adénosine triphosphate (*ATP*)) et d'autres directement aux forces mécaniques.

Les canaux utilisés pour l'os sont notamment les canaux voltage dépendants (i.e. sensibles à une différence de potentiel) sensibles au calcium Ca^{2+} , et les connexines. Les canaux ouverts sont dits dans un état « actif ». Le flux ionique maximal possible est de 10^6 à 10^8 ions/s.

Les canaux voltage dépendants peuvent être toutefois de deux types :

- Les canaux sodiques et potassiques (K^+) engendrent des potentiels d'action. La dépolarisation de la membrane induit l'ouverture du canal. Le signal électrique généré par ces canaux voltage dépendants se propage rapidement (10 m/s) sur l'ensemble de la membrane plasmique. Le potentiel peut atteindre jusqu'à 40 à 50 mV avant de revenir au potentiel de repos. Les potentiels se déclenchent réciproquement ce qui favorise une propagation en cascade sans amortissement.
- Les canaux calciques (Ca^{2+}) voltage dépendants restent ouverts pendant une durée suffisamment longue pour permettre une modification de la concentration intracellulaire en Ca^{2+} et le déclenchement de phénomènes cellulaires

(sécrétion, activation des protéines kinases, contraction musculaire, modulation de l'expression des gènes). C'est l'un des seuls types de canaux capable de convertir un signal électrique en un signal chimique (via l'augmentation intracytoplasmique de concentration en Ca^{2+} qui est induit par la modulation du potentiel de la membrane).

Ces canaux agissent donc comme des détecteurs de différence de potentiel qui induit leur activation permettant la libération de Ca^{2+} au niveau du réticulum endoplasmique. Les canaux permettent un flux important de cations et peuvent s'ouvrir pour une déformation de l'ordre de 0.1 à 0.3%.

Les potentiels membranaires résultent ainsi de la séparation de charges de part et d'autre de la bicouche lipidique (interface isolante). Ces gradients de concentration ioniques permettent la diffusion des ions à travers le canal.

F.6.2.2 Les récepteurs de l'adhésion cellulaire.

Ce sont notamment les intégrines, les cadhérines et les sélectines.

Les protéines de signalisation.

Les protéines de signalisation sont des protéines cytoplasmiques qui interviennent le plus souvent dans la transduction des signaux. On trouve les protéines kinases, phosphatases, les guanines triphosphatases (*GTPases*) et les protéines adaptatrices. Une seule protéine peut jouer le rôle d'interrupteur binaire : l'activation et la désactivation d'une série de ces permutations moléculaires permet le transport des informations via une cascade de signaux, qui vont amplifier et/ou affiner la réponse cellulaire aux stimuli. Ces protéines de signalisation sont activées lorsqu'elles se lient à un second messager via échange ou hydrolyse d'un nucléotide lié ou par phosphorylation ou déphosphorylation (Cf. Annexe H).

Par exemple, les kinases phosphorylent les phospholipides inositol, catalysent le transfert du phosphate γ de l'*ATP*. Les protéines *G* ou *GTPases* (guanine triphosphate) servent elles à la régulation (via le phénomène de phosphorylation) et à la transduction des signaux provenant de récepteurs membranaires ou du cytosquelette. Les petites *GTPases* transfèrent les signaux provenant des récepteurs de

surface qui régulent la croissance cellulaire, l'actine du cytosquelette et la polarité cellulaire. Les *GTPases* hétérotrimétriques (ou protéines *G*) transfèrent les signaux reçus des récepteurs à sept hélices transmembranaires vers des enzymes et des canaux ioniques. Les kinases et les protéines *G* provoquent toutes deux des changements de conformation moléculaire qui permettent le transport d'informations au moyen du simple ajout (pour les kinases) ou du retrait (pour les protéines *G*) d'un phosphate inorganique (phosphorylation) sur les protéines cibles. Cela induit le passage de la protéine d'une conformation inactive en conformation active ou inversement.

Les seconds messagers.

Les seconds messagers sont de petites molécules qui transportent les signaux à l'intérieur de la cellule vivante.

On trouve, par exemple, les nucléotides cycliques, tels que l'adénosine- et la guanine- monophosphate 3-5 cyclique (AMP_c et GMP_c), qui agissent en se liant, de façon réversible, à des protéines cibles spécifiques. Les enzymes (les cyclases tels que la guanylate cyclase, qui est une enzyme hétérodimétrique du cytoplasme, ou les récepteurs transmembranaires) les produisent (à partir d' ATP ou de GTP) et les dégradent. Ils renouvellent rapidement leur substrat et peuvent ainsi amplifier massivement les signaux en quelques millisecondes sous le contrôle de diverses voies de signalisation. Ils diffusent dans le cytoplasme via des protéines kinases et des canaux ioniques.

Il existe aussi des messagers secondaires lipidiques qui sont produits par des enzymes stimulées par des voies de signalisation. Ces mécanismes de transduction font intervenir des récepteurs à sept hélices transmembranaires couplés aux protéines *G* et des facteurs de croissance. Trois sortes d'enzymes (phospholipases, lipides kinases, lipides phosphatases) produisent la majorité des médiateurs lipidiques. Ces médiateurs lipidiques peuvent être ensuite modifiés par exemple par des cyclo-oxygénases pour donner, par exemple, des prostaglandines. Les médiateurs lipidiques activent les cellules cibles en se fixant sur les récepteurs couplés aux protéines *G*. Ils activent ou inhibent la synthèse d' AMP_c , la libération de Ca^{2+} , la régulation des canaux ioniques. Parmi ces médiateurs, on trouve les prostaglandines E_2 et I_2 , dont la syn-

thèse peut être provoquée par des lésions tissulaires. Ces prostaglandines sont donc, entre autres, des médiateurs locaux de l'inflammation et agissent en dilatant les vaisseaux sanguins. Une des cibles des messagers lipidiques sont les IP_3 (inositol 1,4,5-triphosphate, un phospho-inositide hydrophile) qui utilisent des voies diverses, comme les canaux calciques du réticulum endoplasmique, pour libérer le Ca^{2+} des réserves intracellulaires situées dans le cytoplasme.

Le calcium Ca^{2+}

Le calcium joue un rôle majeur dans la régulation cellulaire de l'os. C'est un messager secondaire versatile qui régule la transmission synaptique, la sécrétion, la contraction musculaire. La spécificité des signaux de Ca^{2+} par rapport aux autres messagers secondaires est sa capacité d'opérer localement dans le cytoplasme et non pas dans son ensemble. Sa diffusion y est d'ailleurs très lente (la demi vie d'un ion Ca^{2+} est de 30 μs et sa distance de diffusion de 0.1 μm).

La régulation du signal de Ca^{2+} est réalisé via :

- des pompes (ATP dépendantes) qui expulsent le Ca^{2+} du cytoplasme
- des compartiments de stockage du Ca^{2+} .
- des canaux membranaires qui libèrent le Ca^{2+} dans le cytoplasme
- des stimuli qui ouvrent ces canaux
- des protéines effectrices qui transduisent les signaux de Ca^{2+}

Les canaux de libération du calcium (passage de la matrice extracellulaire dans le cytoplasme) sont des canaux voltage dépendants et des canaux-récepteurs (récepteurs de l' IP_3 et de la ryanodine) localisés dans la membrane plasmique. Ce sont les potentiels membranaires qui permettent leur ouverture.

Les canaux calciques voltage dépendants répondent rapidement (en moins d'une milliseconde) à un potentiel d'action ou autres stimuli pour faire entrer le Ca^{2+} extracellulaire. Cependant, la concentration de calcium cytoplasmique doit être suffisante. En effet, un canal reste fermé pour des concentrations de Ca^{2+} cytoplasmique inférieures à 0.1 μM et supérieures à 100 μM (ouverture la plus probable pour 0.3 μM de Ca^{2+}). Lors de sa libération, le Ca^{2+} effectue une rétro-régulation et peut alors activer de nombreuses protéines.

Les systèmes effecteurs

Les systèmes effecteurs sont des messagers intracellulaires qui vont agir sur d'autres systèmes effecteurs. L'intégration des signaux par ces systèmes va définir le comportement cellulaire, i.e. la sécrétion, le déplacement, la croissance, la division ou la différenciation. Ces systèmes effecteurs peuvent être des facteurs de transcription contrôlant l'expression des gènes, un appareil de sécrétion régulé, des enzymes de métabolisme, des éléments structuraux, des protéines motrices du cytosquelette, des récepteurs de surface, des protéines de régulation, des canaux ioniques membranaires. Ils permettent ainsi la régulation physiologique de l'organisme. On peut donc aussi les qualifier de régulateurs.

Notons qu'il existe également des mécanismes moteurs capables de convertir l'énergie issue de l'hydrolyse de l'*ATP* en force mécanique : ils constituent ainsi un lien mécano-chimique pour le transport intracellulaire. Par exemple, ces mécanismes permettent la circulation de la myosine dans les filaments d'actine et de la kinésine et de la dynéine par les microtubules.

F.6.2.3 L'interaction cellules/ matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire réalise la maintenance de la structure du tissu, transmet les informations (via des ligands au niveau des récepteurs surfaciques des cellules, peptides, protéinases..). Les propriétés des cellules sont d'ailleurs fonction de leur environnement solide proche, i.e de cette matrice. Elle sert de charpente mécanique, guide la migration cellulaire et détient de nombreux facteurs de croissance qui peuvent inhiber ou stimuler la sécrétion des protéines de matrice extracellulaire.

La matrice extracellulaire ne comporte que cinq types de macromolécules différentes : collagène, élastine, protéoglycanes, hyaluronane, glycoprotéines adhérentes. On s'intéresse ici surtout au collagène et aux protéoglycanes. Le collagène est constitué d'une triple hélice de polypeptide. Cette protéine forme des fibrilles ou d'autres structures dans la matrice extracellulaire. Les collagènes fi-

brillaires sont un assemblage de bâtonnets de collagène de 300 nm de long environ, organisés de façon périodique (périodicité de 67 nm) et apportent à l'os une résistance à la traction et un soutien mécanique à la plupart des organes. Ils s'organisent en couches régulières renforcées par des cristaux de phosphate de calcium (hydroxyapatite). Ils sont synthétisés et sécrétés par les fibroblastes, via exocytose, et par les ostéoblastes.

Les protéoglycanes sont sécrétés dans la matrice extracellulaire et sont susceptibles de favoriser ou d'empêcher le mouvement des cellules et leur adhésion. Un des principaux protéoglycanes de l'os est la biglycane. Les protéoglycanes transmembranaires peuvent fixer les cellules à la fibronectine et au collagène du tissu conjonctif. Certains facteurs de croissance peuvent se lier aux protéoglycanes ce qui permet leur accumulation ou leur libération de manière localisée et régulée. D'un point de vue mécanique, des pressions hydrostatiques cycliques d'amplitude de niveau physiologique ont une forte influence sur la synthèse de protéoglycanes.

L'adhérence cellulaire.

L'adhérence cellulaire est un phénomène qui permet de mettre en interaction des cellules avec la matrice extracellulaire via des protéines d'adhérences situées en surface de la cellule.

On trouve plusieurs familles de protéines d'adhérence : parmi elles, des intégrines, des sélectines, des cadhérines. On s'intéresse plus particulièrement à la famille des intégrines, principaux récepteurs cellulaires de la matrice extracellulaire qui fixent également un certain nombre de molécules d'adhérence avec d'autres cellules. Les intégrines sont également des récepteurs de transduction de signaux qui comportent des informations de régulation, de la croissance et de la structure moléculaire à partir de ligands d'adhésion. Elles permettent l'adhésion des fibroblastes et des leucocytes (lors de réactions inflammatoires) à la fibronectine et au collagène lors de leur déplacement vers la matrice extracellulaire.

L'affinité des intégrines relativement à leurs ligands est régulée via des stimuli extracellulaires qui véhiculent par des voies de signalisation intracellulaire. Les intégrines sont des hétérodimères de deux polypeptides transmembranaires (α et β). Les

queues intracytoplasmiques des intégrines interagissent avec de nombreuses protéines de signalisation et de structure. Ces interactions se réalisent au niveau des contacts focaux, sites spécialisés. Les intégrines s'y regroupent pour transduire des signaux transmembranaires et relier les filaments d'actine du cytosquelette des cellules à la matrice extracellulaire. A partir de la liaison entre intégrine et ligands de la matrice se déclenchent des signaux modifiant la capacité d'adhérence et le mouvement des cellules et l'expression de certains gènes.

Lors de cette jonction, on a :

- phosphorylation des protéines d'adhérence par des tyrosines kinases cytoplasmiques
- augmentation de la concentration cytoplasmique en Ca^{2+}
- modification de la configuration du cytosquelette et mobilisation des cellules.

Les intégrines se regroupent en « complexes focaux » puis en contacts focaux ou adhésions focales (« focal adhesion ») qui ancrent les fibres contractiles à la membrane cellulaire. Cela induit une tension au niveau des contacts focaux.

Le regroupement des intégrines, via des ligands, active aussi d'autres protéines cytoplasmiques et favorise l'assemblage du cytosquelette d'actine. Ces activités sont contrôlées par divers mécanismes, comme l'arrivée d'un signal intracellulaire, des facteurs de croissance ($TGF\beta$). La transduction des signaux de liaison vers la matrice est donc conditionnée par l'aggrégation de ces intégrines et par les filaments d'actine. Cependant, le mécanisme de transduction des signaux à la matrice via les intégrines et le cytosquelette d'actine reste mal connu.

Les jonctions cellulaires.

Les jonctions cellulaires sont elles impliquées dans plusieurs phénomènes : développement embryonnaire, morphogenèse du coeur et des poumons et, ce qui nous intéresse, développement du squelette. Les jonctions sont des sites d'interaction entre des cellules adjacentes. La majeure partie de ces jonctions est ancrée aux filaments du cytosquelette au niveau du cytoplasme membranaire. Ces contacts physiques entre cellules confèrent une force mécanique aux tissus.

Il existe les jonctions adhérentes (ancrées aux filaments d'actine) et les desmosomes (ancrées aux filaments intermédiaires). On trouve également des jonctions communicantes (« gap junction ») qui servent à unir les cellules entre elles mais surtout à former des canaux permettant le passage de petites molécules d'une cellule à une autre.

Chaque tissu possède ainsi des jonctions correspondant à ces fonctions physiologiques propres. Ces jonctions se retrouvent sous forme de plaquettes composées de grands canaux intercellulaires reliant les compartiments cytoplasmiques des différentes cellules. Ces plaques dépourvues de protéines transmembranaires possèdent un à plusieurs milliers de canaux. Les demi-canaux de chaque membrane sont nommés connexon et sont composés de six sous-unités protéiniques, les connexines, dont le regroupement latéral forme un canal aqueux traversant la bicouche lipidique du milieu extracellulaire. (Ainsi un demi-canal de jonction ou connexon est composé de deux rangées hexamérique de monomères connexine et les conduits aqueux sont formés par arrimage des deux demi-canaux sur des cellules adjacentes). Chaque connexon s'apparie ainsi avec un connexon de la cellule adjacente et forme ainsi une jonction étanche empêchant la sortie des ions de la cellule.

En terme de vocabulaire, on peut spécifier qu'un monomère connexine est un polypeptide simple composé de quatre « domaines » transmembranaires : deux boucles extracellulaires, une intracellulaire et deux extrémités intracellulaires (amino- et carboxyl-). Les connexines sont nommées selon leur poids moléculaire (ex : C43 est l'isoforme 43 kD) et possèdent une charge spécifique et une perméabilité fixée.

La longueur d'un canal transmembranaire est d'environ 10 nm et de diamètre 1.2 nm chez l'homme. Ce conduit permet la diffusion de molécules hydrophiles, d'ions, de métabolites et de petites molécules comme des seconds messagers (inositol, nucléotides cycliques). Ils peuvent également transmettre des signaux électriques : ils agissent alors comme des synapses électriques où le flux d'information est bidirectionnel. Ces synapses électriques véhiculent directement les potentiels d'actions d'une cellule à une autre sans délai. Ces synapses peuvent transmettre les potentiels d'action à très haute fréquence (> 1000 /s).

Les connexons alternent ainsi entre l'état ouvert (où la conductance varie entre 30 et 300 pS) et l'état fermé, ces états étant régulés par une différence de poten-

tiel transjonctionnel (indépendant du potentiel de la membrane plasmique), par les concentrations cytoplasmiques en H^+ et en Ca^{2+} et les protéines kinases. Le changement d'état des jonctions communicantes peut être très rapide.

On peut noter que de fortes concentrations en Ca^{2+} (100 à 500 μM) entraînent la fermeture des connexons. Par exemple, des cellules endommagées, qui ont une membrane dépolarisée, peuvent faire entrer de fortes quantités de Ca^{2+} et empêcher ainsi la circulation de l'information.

La communication par ces jonctions communicantes permet ainsi aux cellules de se comporter comme un syncytium, de modifier leur activité vis-à-vis de la matrice environnante et d'obtenir les nutriments, nécessaires à leur survie, provenant des vaisseaux sanguins.

Annexe G

Le modelage osseux

Cette annexe a pour unique but de donner un bref aperçu du phénomène de modelage osseux, qui s'effectue à la naissance, afin de le différencier de celui du remodelage, processus qui a lieu tout au long de la vie.

G.1 Généralités

La formation du tissu osseux ne se fait que par remplacement d'un tissu conjonctif préexistant.

Deux grands types de formation osseuse existent : l'ossification endochondrale et membranaire. L'ossification endochondrale débute par l'élaboration d'une ébauche cartilagineuse qui va se calcifier. Celle-ci est progressivement détruite et remplacée par du tissu osseux. Ce type d'ossification forme essentiellement de l'os spongieux et intervient dans la formation des os longs. L'ossification membranaire consiste en la formation directe de tissu osseux à partir des tissus mésenchymateux proches. Les os plats sont formés de cette façon.

On trouve aussi l'ossification péri-chondrale ou périostique : le tissu est alors élaboré à partir du tissu conjonctif fibreux.

G.2 L'ossification endochondrale

Lors de l'embryogenèse, se produit le phénomène de modelage osseux qui induit initialement l'ossification endochondrale. L'ossification endochondrale débute

par la formation de cartilage hyalin entouré d'une gaine de tissu conjonctif : le péri-chondre. Cette formation s'effectue via la condensation et la transformation de cellules mésenchymateuses en chondrocytes. Ces cellules se multiplient et sécrètent du collagène II et des glycosaminoglycanes afin de former une matrice cartilagineuse nommée cartilage hyalin. Après trois jours environ, les chondrocytes s'hypertrophient, sécrètent du collagène X et des métalloprotéases qui vont résorber la matrice adjacente. La partie centrale du cartilage calcifiée s'effondre alors progressivement afin de constituer la cavité médullaire primitive. Apparaît alors la calcification de la matrice cartilagineuse résiduelle. Une partie des chondrocytes se transforme en ostéoblastes qui vont calcifier les parois externes du cartilage hyalin afin de former une virole osseuse péri-diaphysaire. Le péri-chondre se transforme alors en périoste. Des facteurs de croissance tel que le FGF_2 , le TGF_β et de l'endothélium vasculaire (VEGF) vont favoriser la formation locale de capillaires sanguins qui vont former un "bourgeon" conjonctivo-vasculaire. Ce "bourgeon" va envahir la cavité médullaire. Les cellules mésenchymateuses périvasculaires se différencient alors en ostéoblastes. Celles-ci vont synthétiser une matrice osseuse tissée. L'ossification se fait de façon centrifuge du milieu de la diaphyse vers les épiphyses. Par la suite, des artères pénètrent les épiphyses et déterminent des foyers d'ossification secondaire. Epiphyse et diaphyse seront séparées par un cartilage de croissance jusqu'à la fin de la croissance. L'os ainsi formé se caractérise par un cylindre osseux entourant la cavité médullaire où se situe la moelle osseuse (ou hématopoïétique), deux cartilages situés à chaque extrémité de la diaphyse et deux épiphyses formés de tissu spongieux et recouverts de cartilage articulaire.

G.3 L'ossification membranaire

L'ossification membranaire débute, elle, par la condensation de cellules mésenchymateuses qui vont se transformer en fibroblastes. Celles-ci élaborent alors des fibres de collagène déposées aléatoirement entre les cellules. Ces fibres se condensent en une lame dans laquelle des cellules ostéoprogénitrices se rangent. Une partie de ces cellules se transforme en ostéoblastes. Celles-ci vont sécréter une matrice non minéralisée ou ostéoïde qui sera minéralisée par la suite. La poursuite de la croissance

s'effectue soit par une succession de ce type d'ossification à partir des membranes environnantes soit par apposition d'os sur le tissu osseux préexistant. L'os ainsi formé est totalement fibreux. Il est ensuite résorbé et remplacé ensuite par de l'os lamellaire.

G.4 L'ossification périostique

L'ossification périostique se produit autour des os et s'apparente à l'ossification endochondrale. Autour des ébauches cartilagineuses, les cellules de la couche interne du périchondre se transforment en cellules ostéoprogénitrices et se divisent. Certaines de ces cellules deviennent des ostéoblastes. L'os ainsi généré est fibreux et est nommé «virole osseuse périostique». Les ostéoblastes du périoste déposent de larges travées osseuses parallèles à la surface du diaphyse, reliées entre elles par des travées obliques. Elles laissent toutefois des espaces conjonctivo-vasculaires. Ce tissu primaire est rapidement remodelé en tissu secondaire haversien. En effet, les fibres de collagène vont s'orienter et former des lamelles concentriques autour de la virole osseuse. Cette ossification permet la croissance en épaisseur de l'os et assure l'augmentation du diamètre de la diaphyse.

G.5 Les chondrocytes, cellules du modelage

Les chondrocytes proviennent, comme les ostéoblastes, des cellules souches mésenchymateuses. On les trouve généralement lors de la formation de cartilages et lors de l'ossification endochondrale. Les chondrocytes sont sensibles à la fréquence et à l'amplitude de chargement [161]. Un chargement excessif et répétitif peut causer leur mort ou leur endommagement morphologique et/ou cellulaire. Les interactions matrice-cellules, les flux de fluide environnant, les états de contraintes-déformations ont un rôle majeur dans la mécano-transduction des chondrocytes et sont des stimuli associés au remodelage, à l'adaptation et à la dégénération de cartilage articulaire. Les chondrocytes peuvent exprimer les connexines *C43*. Lorsque les chondrocytes sont stimulées, ces connexines permettent la propagation du Ca^{2+} dans les cartilages articulaires. Les chondrocytes peuvent également accumuler de l' IP_3 et le diffuser,

via les jonctions communicantes, dans les cellules adjacentes afin d'amplifier leur réponse.

Annexe H

Glossaire de biologie

Albumine : protéine majeure dans le fluide interstitiel et le plasma. Il ordonne la matrice et détermine la taille des filtres moléculaires.

Apoptose : mort cellulaire programmée.

ATP : adénosine-1,4,5-triphosphate, carburant nécessaire à la mobilité des protéines.

Autocrine : autostimulation via la production cellulaire d'un capteur ou récepteur spécifique de la cellule.

Canaux : pores qui s'ouvrent et se ferment de façon transitoire sous l'action de mécanismes de régulation. Lorsqu'un canal est ouvert, un flux d'ions traverse rapidement la membrane en suivant les gradients électriques et de concentration. Cette circulation d'ions détermine les potentiels électriques de part et d'autre de la membrane. Ce sont les pompes membranaires qui donnent naissance aux gradients de solutés nécessaires au fonctionnement des transporteurs et des canaux.

Cellules bordantes ou « Bone lining cell » : Ces cellules sont d'anciens ostéoblastes qui « apparaissent » lorsque le processus de remodelage s'arrête. Ces anciens ostéoblastes restent en surface du tissu osseux, s'aplatissent et restent en contact via des protubérances, longues et plates, nommées filopodes. Ces cellules bordantes

forment ainsi une fine gaine qui couvre toutes les surfaces osseuses. Elles y sont absentes uniquement aux lieux où les ostéoclastes et ostéoblastes sont actifs. Elles sont connectées aux autres ostéocytes via des jonctions communicantes (« gap junctions »). Elles se trouvent sur les trabécules de l'os spongieux, sur les surface péri- et endostéales de l'os cortical et sur les canaux de Havers et de Volkmann. Il est possible que ces cellules soient activées afin de se redifférencier en ostéoblastes lors d'une stimulation mécanique « anormale ».

Cytoplasme : poche remplie de polymères protéiques qui résiste à la déformation et transmet des efforts mécaniques. Substance viscoélastique complexe, il résiste au flux et peut stocker de l'énergie s'il est étiré ou comprimé.

Cytosquelette : structure complexe, fortement organisée. Le cytosquelette contrôle la forme des cellules, régule leur mouvement, leur division et leur polarité. Il influence le comportement structural des cellules cardiovasculaire, endothéliale, musculaires, neuronales et osseuses.

Endocrine : sécrétion interne.

Endothélium : couche de cellules plates bordant l'espace interne fermé (ex : intérieur des vaisseaux sanguins)

Epithélium : couche de cellules plates bordant l'espace externe ouvert (ex : membrane des muqueuse). Ce sont des tissus dont les cellules sont jointives et solidaires les unes des autres grâce à des jonctions intercellulaires. Ils ne sont pas vascularisés, mais le tissu adjacent l'est ; l'apport des nutriments et l'export des déchets se fait alors par l'intermédiaire de la lame basale ou membrane basale, sur laquelle repose tout l'épithélium.

Eucaryote : cellule qui possède un noyau (au moins).

Fibres contractiles (« stress fiber ») : l'actine, la myosine et des protéines an-

nexes forment des faisceaux nommés « stress fiber » qui exercent une tension entre les jonctions adhérentes de la membrane plasmique au niveau desquelles les cellules se lient les unes aux autres ou à la matrice extracellulaire.

Fibroblastes : cellules non épithéliales. Ces cellules synthétisent et sécrètent la plupart des macromolécules de la matrice extracellulaire. La disposition de leurs fibrilles est fonction des flux de migration. Elles prolifèrent et forment une nouvelle matrice lors de lésions tissulaires. Les fibroblastes via les intégrines adhèrent à la matrice extracellulaire.

Fibronectines : protéines volumineuses constituées de deux chaînes polypeptidiques reliées entre elles par des ponts sulfurés. Elles se présentent sous forme de bâtonnets longs et flexibles.

Filament d'actine : ils se trouvent dans le cytosquelette. Ce sont des polymères fibreux composés de monomères de globules d'actine (diamètre 8 nm). Semiflexibles, ils ont un fort ratio de forme et sont dispersés dans le cytoplasme et dans les membranes plasmiques. Ils sont plus flexibles que les microtubules. Ils constituent un réseau viscoélastique au sein du cytoplasme et servent de fils conducteurs pour les déplacements cellulaires générés par la myosine. Leur rigidité augmente avec un taux de déformation croissant. Les fibres d'actine du cytosquelette sont orientées selon l'axe principal de la cellule en forme de fuseau. Elles possèdent des récepteurs à intégrine.

Filament intermédiaire : ce sont des câbles flexibles (diamètre 10 nm) très résistants en traction mais peu en compression. Ils ont pour origine le cytosquelette et sont protéiniques. Ils contiennent de la kératine. Ils parcourent le cytoplasme et préservent les cellules en cas d'étirement excessif exercé par une force extérieure. En cas de déficience de ces filaments, les tissus sont mécaniquement fragilisés.

Fréquence d'activation : taux de naissance d'une nouvelle unité cellulaire (BMU) dans une certaine quantité d'os. Nombre de cycles de remodelage. C'est le meilleur

indicateur de l'intensité du remodelage. Cette fréquence d'activation diminue de l'enfance jusqu'à 35 ans puis réaugmente pour chuter de nouveau en fin de vie.

Glycocalyx : revêtement polysaccharide sur les surfaces eucaryotes (notamment de la matrice extracellulaire osseuse), de charge négative due à leur acidité. L'épaisseur de la surface de glycocalyx est de 100 nm environ (ce qui équivaut à l'épaisseur de l'anneau de fluide entourant les ostéocytes dans les canaliculi). Ses fibres excluent les protéines plasmiques de diamètre supérieur à celui de l'albumine (i.e. 7 nm).

Intégrine : protéine transmembranaire hétérodimétrique qui lie la matrice extracellulaire à l'extérieur de la cellule de façon mécanique et qui est liée aux filaments d'actine via un cytoplasme court de sous unité β nommé jonctions adhérentes ou « focal adhesion » (polarisé). La protéine α -actinine est nécessaire à la création de liens entre les filaments d'actine et l'intégrine. Ces liens sont de type protéiniques (α -actinine, vinculine...) et vont favoriser le développement de tension interne dû à l'actine et à la myosine. Ces dernières auront un rôle de transduction du signal de la matrice extracellulaire au noyau de la cellule afin de réguler l'expression des gènes. L'intégrine est une molécule composée de deux sous-unités.

Jonction communicante ou adhésion focale : hétérocomplexe de protéines (vinculin, talin, integrin, paxillin...). Elles sont connectées aux filaments d'actine du cytosquelette et à la matrice extracellulaire et permettent l'établissement d'un lien direct entre deux cellules.

Lame basale : mince couche plane de protéines de la matrice extracellulaire qui soutient tous les épithéliums, les cellules musculaires et nerveuses.

Ligand : c'est un atome, ion ou groupe fonctionnel chimique qui donne un ou plusieurs de ses électrons à un autre atome ou ion via une liaison.

Lysosomes : structure sacculaire délimitée par une membrane imperméable contenant des enzymes hydrolytiques.

Cellules souches Mésenchymateuses : cellules pluripotentes non différenciées qui prolifèrent et se différencient pour donner naissance à des cellules du tissu conjonctif (fibroblastes, chondrocytes, ostéoblastes...) qui sont à l'origine de la matrice extracellulaire. Elles assurent la défense contre les infections et stockent les réserves d'énergie sous forme de lipides.

Métalloprotéases : cellules qui assurent les mécanismes physiologiques et pathologiques de dégradation de la matrice extracellulaire. Elles comportent un domaine zinc-protéase.

Mécanoréception : processus de transmission de l'information d'un stimulus mécanique extracellulaire à une cellule réceptrice.

Mécanotransduction : processus qui transforme un stimulus mécanique en un signal intracellulaire.

Microtubules : Polymères tubulaires constitués de tubuline (protéine de masse moléculaire de 100 kDa), et assimilés à des tiges de raccordement rigides et creuses qui supportent à la fois la traction et la compression. Fibres constitutives du cytosquelette, ils ont un diamètre de 25 nm. C'est le principal composant des cils, flagelles et du fuseau mitotique. Ils servent de guide aux déplacements cellulaires générés par la kinésine et la dynéine. Chaque microtubule est formé de treize protofilaments. Ils sont plus rigides que les filaments d'actine en compression et peuvent être le siège de processus cellulaires asymétriques et de circulation bidirectionnelle.

Moelle osseuse : elle contient au moins deux types de cellules souches : hématopoïétiques (formation des cellules du sang) et stromales ou mésenchymateuses (formation des cellules de l'os, du cartilage, de la masse grasseuse et des tissus connectifs fibreux).

Paracrine : libération, par des cellules endocrines, de substances agissant locale-

ment .

Phosphorylation : c'est l'addition d'un groupe phosphate (PO_4) à une protéine ou à une petite molécule. Chez les eucaryotes, la phosphorylation des protéines est probablement le mécanisme de régulation le plus important. De nombreuses enzymes et récepteurs sont mis en position "actif" ou "non-actif" par une phosphorylation ou une déphosphorylation. La phosphorylation est catalysée par diverses protéines kinases spécifiques, alors que les phosphatases se chargent de déphosphoryler.

Pompes membranaires : ce sont des enzymes qui utilisent l'énergie de l'adénosine triphosphate (ATP), de la lumière...afin de mobiliser les ions (généralement des cations) et autres solutés à travers la membrane des cellules. Le débit est souvent faible et induit des gradients de concentration de part et d'autre de la membrane. Ce sont les pompes membranaires qui donnent naissance aux gradients de solutés nécessaires au fonctionnement des transporteurs et des canaux.

Prostaglandine (*PG*) : messenger moléculaire intercellulaire qui assure la médiation du stimulus mécanique. On le trouve sous forme de *PGE₂* et de *PGI₂*. Ce sont les ostéocytes qui libèrent la plus grande quantité de prostaglandine suivi des ostéoblastes et enfin des fibroblastes.

Syncytium : masse nucléée de cytoplasme compact.

Transporteurs : protéines qui permettent le transfert passif des solutés à travers les membranes cellulaires selon le gradient de concentration, i.e. d'une région de concentration élevée à une région de concentration faible. Ce sont les pompes membranaires qui donnent naissance aux gradients de solutés nécessaires au fonctionnement des transporteurs et des canaux.

Bibliographie

- [1] R.P. Heaney. Is the paradigm shifting? *Bone*, 33 :457–465, 2003.
- [2] H.M Frost. Changing views about osteoporoses (a 1998 overview). *Osteoporosis International*, 10 :345–352, 1999.
- [3] R.B. Martin. Is all cortical bone remodelling initiated by microdamage. *Bone*, 30 (1) :8–13, 2002.
- [4] A.M. Parfitt. Targeted and nontargeted remodelling : relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone*, 30 (1) :5–7, 2002.
- [5] E. Bonucci. Basic composition and structure of bone. *In Cowin*, chapter 1 :3–21, 2001.
- [6] H.A. Yuehwei. Mechanical properties of bone. *In Cowin*, chapter 2 :41–63, 2001.
- [7] J.S. Nyman, M. Reyes, and X. Wang. Effect of ultrastructure changes on the toughness of bone. *Micron*, 36 :566–582, 2005.
- [8] A. Ascenzi and E. Bonucci. The tensile properties of single osteonic lamellae : Technical problems and preliminary results. *Journal of Biomechanics*, 15 :29–37, 1982.
- [9] G. Marotti. A new theory of bone lamellation. *Calcified Tissue International*, 53 (Supp. 1) :47–56, 1993.
- [10] P. Frasca, R.A. Harper, and J.L. Katz. Collagen fiber orientations in human secondary osteons. *Acta Anatomica*, 98 :1–13, 1977.
- [11] M.M. Giraud-Guille. Twisted plywood architecture of collagen fibrils in human compact bone osteons. *Calcified Tissue International*, 42 :167–180, 1988.
- [12] W. Wagermaier, H.S. Gupta, A. Gournier, M. Burghammer, P. Roschger, and P. Fratzl. Spiral twisting of fiber orientation inside bone lamellae. *Biointerphases*, 1 (1) :1–5, 2006.
- [13] D.B. Burr, M.R. Forwood, D.P. Fyhrie, R.B. Martin, M.B. Schaffler, and C.H. Turner. Bone microdamage and skeletal fragility in osteoporotic and stress fractures. *Journal of Bone and Mineral Research*, 12 (1) :6–15, 1997.
- [14] P.J. Meunier and G. Boivin. Bone mineral density reflects bone mass but also the degree of mineralization of bone : therapeutic implications. *Bone*, 21 (5) :373–377, 1997.
- [15] R. Vincentelli and F.G. Evans. Relations among mechanical properties, collagen fibers, and calcification in adult human cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 4 :193–201, 1971.

- [16] A.L. Boskey. Bone mineralization. *In Cowin*, chapter 5 :1–33, 2001.
- [17] P. Roschger, E.P. Paschalis, P. Fratzl, and K. Klaushofer. Bone mineralization density distribution in health and disease. *Bone*, 42 :456–466, 2008.
- [18] D.T. Reilly, A.H. Burnstein, and V.H. Frankel. The elastic modulus for bone. *Journal of Biomechanics*, 7 (3) :271–275, 1974.
- [19] D.T. Reilly and A.H. Burnstein. The elastic and ultimate properties of compact bone tissue. *Journal of Biomechanics*, 8 (6) :393–405, 1975.
- [20] A.H. Burnstein, D.T. Reilly, and M. Martens. Aging of bone tissue : mechanical properties. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 58 (6) :82–86, 1976.
- [21] N.J. Wachter, P. Augat, G.D. Krischak, M.R. Sarkar, M. Mentzel, L. Kinzl, and L. Claes. Prediction of strength of cortical bone in vitro by microcomputed tomography. *Clinical Biomechanics*, 16 (3) :252–256, 2001.
- [22] T.S. Kaneko, M.R. Pejcic, J. Tehranzadeh, and J.H. Keyak. Relationship between materials properties and CT scan data of cortical bone with and without metastatic lesions. *Medical Engineering and Physics*, 25 (6) :445–454, 2003.
- [23] R. Vincentelli and M. Grigorov. The effect of haversian remodelling on the tensile properties of human cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 18 (3) :201–207, 1985.
- [24] J.D. Currey. Tensile yield in compact bone is determined by strain, post-yield behaviour by mineral content. *Journal of Biomechanics*, 37 (4) :549–556, 2004.
- [25] H.H. Bayraktar, E.F. Morgan, G.L. Niebur, G.E. Morris, E.K. Wong, and T.M. Keaveny. Comparison of the elastic and yield properties of human femoral trabecular and cortical bone tissue. *Journal of Biomechanics*, 37 :27–35, 2004.
- [26] L. Duchemin. Prédiction du risque fracturaire de l’extrémité supérieure du fémur a partir d’une modélisation par éléments finis personnalisée. *PhD thesis, Ecole Nationale Supérieure des Arts et Métiers.*, 2006.
- [27] T.S. Keller, Z. Mao, and D.M. Spengler. Young’s modulus, bending strength and tissue physical properties of human compact bone. *Journal of Orthopaedics Research*, 8 (4) :592–603, 1990.
- [28] J.C. Lotz, T.N. Gerhart, and W.C. Hayes. Mechanical properties of metaphyseal bone in the proximal femur. *Journal of Biomechanics*, 24 (5) :317–329, 1991.
- [29] M. Cuppone, B.B. Seedhom, E. Berry, and A.E. Ostell. The longitudinal young’s modulus of cortical bone in the midshaft of human femur and its correlation with CT scanning data. *Calcified Tissue International*, 74 (3) :302–309, 2004.
- [30] R.B. Ashman, S.C. Cowin, W.C. Van Buskirk, and J.C. Rice. A continuous wave technique for the measurement of the elastic properties of cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 17 (5) :349–361, 1984.
- [31] M.C. Ho Ba Tho, J.Y. Rho, and R.B. Ashman. In vivo assessment of bone quality by vibration and wave propagation techniques. *Atlas of mechanical properties of human cortical and cancellous bone*, Eds G. Van der Perre and G. Lowet and A. Borgwardt, ACCO, Leuven, Part II :7–38, 1992.

- [32] R.B. Martin. Fatigue damage, remodeling, and the minimization of skeletal weight. *Journal of theoretical Biology*, 220 :271–276, 2003.
- [33] D.B. Burr. Targeted and nontargeted remodelling. *Bone*, 30 (1) :2–4, 2002.
- [34] T. Binkley, J. Johnson, L Vogel, H. Keckskemethy, R. Henderson, and B. Specker. Bone measurement by peripheral quantitative computed tomography (pQCT) in children with cerebral palsy. *Journal of Pediatrics*, 146 :791–796, 2005.
- [35] G. Boivin and P.J. Meunier. The degree of mineralization of bone tissue measured by computed quantitative contact microradiography. *Calcified Tissue International*, 70 :503–511, 2002.
- [36] D.M.L. Cooper, C.D.L. Thomas, J.G. Clement, A.L. Turinsky, C.W. Sensen, and B. Hallgrímsson. Age-dependent change in the 3D structure of cortical porosity at the human femoral midshaft. *Bone*, 40 :957–965, 2007.
- [37] C.D.L. Thomas, S.A. Feik, and J.G. Clement. Regional variation of intracortical porosity in the midshaft of the human femur : age and sex differences. *Journal of Anatomy*, 206 :115–125, 2005.
- [38] T.S. Keller. Predicting the compressive mechanical behavior of bone. *Journal of Biomechanics*, 27 (9) :1159–1168, 1994.
- [39] J.Y. Rho, M.C. Hobatho, and R.B. Ashman. Relations of mechanical properties to density and CT numbers in human bone. *Medical Engineering and Physics*, 17 (5) :347–355, 1995.
- [40] M.B. Schaffler and D.B Burr. Stiffness of compact bone : effects of porosity and density. *Journal of Biomechanics*, 21 (1) :13–16, 1988.
- [41] J.L. Katz. Anisotropy of young’s modulus of bone. *Nature*, 283 :106–107, 1980.
- [42] J.L. Katz and A. Meunier. The elastic anisotropy of bone. *Journal of Biomechanics*, 20 :1063–1070, 1987.
- [43] A. Ascenzi, A. Benvenuti, and E. Bonucci. The compressive properties of single osteons. *Anatomy Recordings*, 158 :377–392, 1967.
- [44] A. Ascenzi and E. Bonucci. The shearing properties of single osteons. *Anatomy Recordings*, 158 :499–510, 1967.
- [45] A. Ascenzi, P. Baschieri, and A. Benvenuti. The bending properties of single osteons. *Journal of Biomechanics*, 23 (8) :763–771, 1990.
- [46] T. Hoc, L. Henry, M. Verdier, D. Aubry, L. Sedel, and A. Meunier. Effect of microstructure on the mechanical properties of haversian cortical bone. *Bone*, 38 :466–474, 2006.
- [47] N.J. Wachter, G.D. Krischak, M. Mentzel, M.R. Sarkar, T. Ebinger, L. Kinzl, L. Claes, and P. Augat. Correlation of bone mineral density with strength and microstructural parameters of cortical bone in vitro. *Bone*, 31 (1) :90–95, 2002.
- [48] P. Zioupos, M. Gresle, and K. Winwood. Fatigue strength of human cortical bone : Age, physical and material heterogeneity effects. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 86 A (3) :627–636, 2007.

- [49] N. Sasaki, N. Matsushima, T. Ikawa, H. Yamamura, and A. Fukuda. Orientation of bone mineral and its role in the anisotropic mechanical properties of bone - transverse anisotropy. *Journal of Biomechanics*, 22 (2) :157–159, 1989.
- [50] D.B. Burr. The contribution of the organic matrix to bone's material properties. *Bone*, 31 (1) :8–11, 2002.
- [51] J.Y. Rho, P. Zioupos, J.D. Currey, and G.M. Pharr. Variations in the individual thick lamellar properties within osteons by nanoindentation. *Bone*, 25 (3) :295–300, 1999.
- [52] J.Y. Rho, M.E. Roy, T.Y. Tsui, and G.M. Pharr. Elastic properties of microstructural components of human bone tissue as measured by nanoindentation. *Journal of Biomedical Materials Research*, 45 :48–54, 1999.
- [53] J.Y. Rho, P. Zioupos, J.D. Currey, and G.M. Pharr. Elastic properties of human cortical and trabecular lamellar bone measured by nanoindentation. *Biomaterials*, 18 :1325–1330, 1997.
- [54] J.Y. Rho, P. Zioupos, J.D. Currey, and G.M. Pharr. Microstructural elasticity and regional heterogeneity in human femoral bone of various ages examined by nanoindentation. *Journal of Biomechanics*, 35 :189–198, 2002.
- [55] C.E. Hoffer, K.E. Moore, K. Kozloff, P.K. Zysset, and S.A. Goldstein. Age, gender and bone lamellae elastic moduli. *Journal of Orthopaedic Research*, 18 :432–437, 2000.
- [56] S. Bensamoun, M.C. Ho Ba Tho, Z. Fan, and J.Y. Rho. Intra and inter variation of elastic properties of human osteon lamellae. *49th Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, New Orleans*, 2003.
- [57] S. Hengsberger, A. Kulik, and P.K. Zysset. Nanoindentation discriminates the elastic properties of individual human bone lamellae under dry and physiological conditions. *Bone*, 30 (1) :178–184, 2002.
- [58] J.Y. Rho and G.M. Pharr. Effects of drying on the mechanical properties of bovine femur measured by nanoindentation. *Journal of Materials Science : Materials in Medicine*, 10 :485–488, 1999.
- [59] J.G. Swadener, J.Y. Rho, and G.M. Pharr. Effect of anisotropy on elastic moduli measured by nanoindentation in human tibial cortical bone. *Journal of Orthopaedic Research*, 20 (4) :806–810, 2001.
- [60] P.K. Zysset, X.E. Guo, E. Hoffer, K.E. Moore, and S.A. Goldstein. Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamellae measured by nanoindentation in the human femur. *Journal of Biomechanics*, 32 :1005–1012, 1999.
- [61] W.C. Oliver and G.M. Pharr. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research*, 7 (6) :1564–1583, 1992.
- [62] W. Bonfield. Anisotropy of young's modulus of bone. *Nature*, 270 :453–454, 1977.
- [63] J.Y. Rho. An ultrasonic method for measuring the elastic properties of human tibial cortical and cancellous bone. *Ultrasonics*, 34 :777–783, 1996.

- [64] J.J. Vlassak and W.D. Nix. Indentation modulus of elastically anisotropic half spaces. *Philosophical Magazine A.*, 67 (5) :1045–1056, 1993.
- [65] J.J. Vlassak, M. Ciaverella, J.R. Barber, and X. Wang. The indentation modulus of elastically anisotropic materials for indenters of arbitrary shape. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 51 (9) :1701–1721, 2003.
- [66] G. Franzoso and P.K. Zysset. Elastic anisotropy of human cortical bone secondary osteons measured by nanoindentation. *Journal of Biomechanical Engineering*, 131 (2) :1–11, 2009.
- [67] S.C. Cowin. in *Cowin, Bone Mechanics Handbook, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL*, 2001.
- [68] Z. Fan, J.G Swadener, J.Y. Rho, M.E. Roy, and G.M. Pharr. Anisotropic properties of human tibial cortical bone as measured by nanoindentation. *Journal of Orthopaedic Research*, 20 :806–810, 2002.
- [69] D.B. Burr. Morphology of the osteonal cement line in human bone. *The Anatomical Record*, 217 :223–228, 1987.
- [70] R. Lakes and S. Saha. Cement line motion in bone. *Science*, 204 :501–503, 1979.
- [71] I. Couret. Biologie du remodelage osseux. *Médecine Nucléaire Imagerie Fonctionnelle et Métabolique*, 28 :57–65, 2004.
- [72] D.B. Burr, M.B. Schaffler, and R.G. Frederickson. Composition of the cement line in human bone and its possible mechanical role as a local interface in human compact bone. *Journal of Biomechanics*, 21 (11) :939–945, 1988.
- [73] S.C. Cowin and M.L. Moss. Mechanosensory mechanisms in bone. in *Cowin, Bone Mechanics Handbook, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL*, 2001.
- [74] C.H. Turner and M.R. Forwood. What role does the osteocytes network play in bone adaptation. *Bone*, 16 (3) :283–285, 1995.
- [75] V. Toppets, V. Pastoret, V. De Behr, N. Antoine, C. Dessy, and A. Gabriel. Morphologie, croissance et remaniement du tissu osseux. *Annales Médicales Vétérinaires*, 148 :1–13, 2004.
- [76] E.H. Burger and J. Klein Nulend. Mechanotransduction in bone : role of the lacuno-canalicular network. *FASEB*, 13 :101–112, 1999.
- [77] D.B. Burr, C.H. Turner, P. Naick, M.R. Forwood, W. Ambrosius, M.S. Hassan, and R. Pidaparti. Does microdamage accumulation affect the mechanical properties of bone. *Journal of Biomechanics*, 31 :337–345, 1998.
- [78] C.A. Pattin, W.E. Caler, and D.R. Carter. Cyclic mechanical property degradation during fatigue loading on cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 29 :69–79, 1996.
- [79] N.D. Sahar, S.I. Hong, and D.H. Kohn. Micro- and nano- structural analyses of damage in bone. *Micron*, 36 :617–629, 2005.
- [80] T. Diab and D. Vashishth. Effects of damage morphology on cortical bone fragility. *Bone*, 37 (1) :96–102, 2005.
- [81] G.P. Parsamian and T.L. Norman. Diffuse damage accumulation in the fracture process zone of cortical bone specimens and its influence on fracture toughness. *Journal of Materials Science : Materials in Medicine*, 12 :779–783, 2001.

- [82] K.J. Jepsen, D.T. Davy, and O. Akkus. Observation of damage in bone. *Bone Mechanics Handbook, in Cowin, CRC Press*, chapter 17, 2001.
- [83] D.B. Burr, C. Milgrom, D. Fyrhie, M. Forwood, M. Nyska, A. Fineston, S. Hoshaw, E. Saiag, and A. Simkin. In vivo measurement of human tibial strains during vigorous activity. *Bone*, 18 :405–410, 1996.
- [84] C. Milgrom, A. Fineston, A. Simkin, I. Ekenman, S. Mendelson, M. Milgram, M. Nyska, E. Larsoon, and D. Burr. In vivo strain measurements to evaluate the strenghtening potential of exercises on the tibial bone. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 82 (4) :591–594, 2000.
- [85] T.L. Norman and Z. Wang. Microdamage of human cortical bone : incidence and morphology in long bones. *Bone*, 20 (4) :375–379, 1997.
- [86] M.B. Schaffler, K. Choi, and C. Milgrom. Aging and matrix microdamage accumulation in human compact bone. *Bone*, 17 (6) :521–525, 1995.
- [87] F.J. O'Brien, D. Taylor, and T.C. Lee. The effect of bone microstructure on the initiation and growth of microcracks. *Journal of Orthopaedic Research*, 23 :475–480, 2005.
- [88] X.E. Guo, L.C. Liang, and S.A. Goldstein. Micromechanics of osteonal cortical bone fracture. *Journal of Biomechanical Engineering*, 120 :112–117, 1998.
- [89] D. Vashishth, K.E. Tanner, and W. Bonfield. Experimental validation of a microcracking-based toughening mechanism for cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 36 :121–124, 2003.
- [90] R.K. Nalla, J.S. Stolken, J.H. Kinney, and R.O. Ritchie. Fracture in human cortical bone : local fracture criteria and toughening mechanisms. *Journal of Biomechanics*, 38 (7) :1517–1525, 2004.
- [91] R.K. Nalla, J.J. Kruzic, and R.O. Ritchie. On the origin of the toughness of mineralized tissue : microcracking or crack bridging. *Bone*, 34 :790–798, 2004.
- [92] R.K. Nalla, J.J. Kruzic, J.H. Kinney, and R.O. Ritchie. Effect of aging on the toughness of human cortical bone : evaluation by r-curves. *Bone*, 35 :1240–1246, 2004.
- [93] Y.N. Yeni and D.P. Fyrhie. Fatigue damage-fracture mechanics interaction in cortical bone. *Bone*, 30 :509–514, 2002.
- [94] P. Zioupos and A. Casinos. Cumulative damage and the response of human bone in two-step loading fatigue. *Journal of Biomechanics*, 31 :825–833, 1998.
- [95] D.R. Carter, W.E. Caler, D.M Spengler, and V.H. Frankel. Fatigue behavior of adult cortical bone : the influence of mean strain and strain range. *Acta Orthopaedica Scandinavia*, 52 :481–490, 1981.
- [96] M.B. Schaffler, E.L. Radin, and D.B. Burr. Long-term fatigue behavior of compact bone at low strain magnitude and rate. *Bone*, 11 (5) :321–326, 1990.
- [97] M.B. Schaffler and K.J. Jepsen. Fatigue and repair in bone. *International Journal of Fracture*, 22 :839–846, 2000.
- [98] H.M Frost. Does bone design intend to minimize failures a case for the affirmative. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 18 :278–282, 2000.

- [99] V.A. Gibson, S.M. Stover, J.C. Gibeling, S.J. Hazelwood, and R.B. Martin. Osteonal effects on elastic modulus and fatigue life in equine bone. *Journal of Biomechanics*, 39 :217–225, 2006.
- [100] D.B. Burr, R.B. Martin, M.B. Schaffler MB, and E.L. Radin. Bone remodeling in response to in vivo fatigue microdamage. *Journal of Biomechanics*, 18 (3) :189–200, 1985.
- [101] J. Lemaitre. *A course on Damage Mechanics*, Springer, 1990.
- [102] D. Kondo, H. Welemene, and F. Cormery. Basic concepts and models in continuum damage mechanics. *Revue Européenne de Génie Civil*, 11 (7-8) :927–943, 2007.
- [103] K. Tai, M. Dao, S. Suresh, A. Palazoglu, and C. Ortiz. *Fatigue of materials*. Cambridge University Press, 1991.
- [104] D.T. Davy and K.J. Jepsen. Bone damage mechanics. *Handbook of bone mechanics, Raton, FL : CRC Press Boca*, chapter 18, 2001.
- [105] M.T. Frondrk. An experimental and analytical investigation into nonlinear constitutive equation of cortical bone. *Ph.D dissertation, Department of mechanical and aerospace engineering, Case Western Reserve University, Cleveland, OH*, 1989.
- [106] D. Taylor and J.H. Kuiper. The prediction of stress fractures using a stressed volume concept. *Journal of Orthopaedic Research*, 19 :919–926, 2001.
- [107] S.C. Cowin SC and D.H. Hegedus. Bone remodelling I : Theory of adaptative elasticity. *Journal of Elasticity*, 6 (3) :313–326, 1976.
- [108] J. Wolff. The law of bone remodelling (das gesetz der transformation der knochen). *Springer, Berlin*, 1986.
- [109] D.R. Carter, T.E. Orr, and D.P. Fyrhie. Relationship between loading history and femoral cancellous architecture. *Journal of Biomechanics*, 22 (3) :231–244, 1989.
- [110] G.S. Beaupré, T.E. Orr, and D.R. Carter. An approach for time-dependent bone modelling and remodelling - theoretical development. *Journal of Orthopaedic Research*, 8 (5) :651–661, 1990.
- [111] P.J. Prendergast and D. Taylor. Prediction of bone adaptation using damage accumulation. *Journal of Biomechanics*, 27 (8) :1067–1076, 1994.
- [112] M. Doblaré and J.M. Garcia. Anisotropic bone remodelling model based on continuum damage-repair theory. *Journal of Biomechanics*, 35 (1) :1–17, 2002.
- [113] P.J. Prendergast and R. Huiskes. Mathematical modelling of microdamage in bone remodelling and adaptation. In : *Odgaard A, Weinans H (Eds), Bone Structure and Remodelling*, World Scientific Publishers, Singapore, 18 (3) :213–224, 1995.
- [114] P.J. Prendergast and L.M. McMamara. Bone remodelling algorithms incorporating both strain and microdamage stimuli. *Journal of Biomechanics*, 40 :1381–1391, 2007.
- [115] S.J. Hazelwood, R.B. Martin, M.M. Rashid, and J.J Rodrigo. A mechanistic model for internal bone remodelling exhibits different dynamic responses in disuse and overload. *Journal of Biomechanics*, 34 :299–308, 2001.

- [116] R. Huiskes, R. Ruimerman, G.H. Van Leth, and J.D. Janssen. Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form of trabecular bone. *Nature*, 405 :704–706, 2000.
- [117] C.J. Hernandez. Simulation of bone remodelling during the development and treatment of osteoporosis. *PhD thesis, Stanford University*, 2001.
- [118] A. Terrier, J. Miyagaki, F. Hiromichi, K. Hayashi, and L. Rakotomanana. Delay of intracortical bone remodelling following a stress change : A theoretical and experimental study. *Clinical Biomechanics*, 20 :998–1006, 2005.
- [119] J.M. Garcia-Aznar, T. Rueberg T, and M. Doblaré. A bone remodelling model coupling microdamage growth and repair in 3D BMU activity. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 4 (2-3) :147–167, 2005.
- [120] J. Martinez-Reina, J.M. Garcia-Aznar, J. Dominguez, and M. Doblaré. A bone remodelling model including the directional activity of BMU's. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 8 (2) :111–127, 2009.
- [121] A.L. El Haj, S.L. Minter, S.C. Rawlinson, R. Suswillo, and L.E. Lanyon. Cellular responses to mechanical loading in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research*, 5 (9) :923–932, 1990.
- [122] S.C. Cowin, S. Weinbaum, and Y. Zeng. A case for bone canaliculi as the anatomical site of strain generated potentials. *Journal of Biomechanics*, 28 (11) :1281–1297, 1995.
- [123] L. You, S.C. Cowin, M.B. Schaffler, and S. Weinbaum. A model for strain amplification in the actin cytoskeleton of osteocytes due to fluid drag on pericellular matrix. *Journal of Biomechanics*, 34 :1375–1386, 2001.
- [124] R.B. Martin and D.B. Burr. The structure, function and adaptation of cortical bone. *Raven Press, New York*, 1989.
- [125] T.C. Lee, A. Staines, and D. Taylor. Bone adaptation to load : microdamage as a stimulus for bone remodelling. *Journal of Anatomy*, 203 :161–172, 2002.
- [126] Y. Qing and J. Fish. Temporal homogenization of viscoelastic and viscoplastic solids subjected to locally periodic loading. *Computational Mechanics*, 29 (3) :199–211, 2002.
- [127] C. Oskay and J. Fish. Fatigue life prediction using 2-scale temporal asymptotic homogenization. *International Journal for Numerical Methods in Engineering*, 61 :329–359, 2004.
- [128] T. Guennouni and D. Aubry. Reponse homogénéisée en temps de structures sous chargements cycliques. *C.R. Acad. Sc. Paris, t. 303, Serie II*, 20 :1765–1767, 1986.
- [129] P. Doumalin. Microextensométrie locale par corrélation d'images numériques. *PhD thesis, Ecole polytechnique.*, 2000.
- [130] M. Bornert. Morphologie microstructurale et comportement mécanique ; caractérisations expérimentales, approches par bornes et estimations autocohérentes généralisées. *PhD thesis, Ecole Nationale Supérieure des ponts et chaussées.*, 1996.
- [131] D.T. Reilly and A.H. Burnstein. The mechanical properties of cortical bone. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 56 (5) :1001–1022, 1974.

-
- [132] J.S. Yerramshetty and O. Akkus. The associations between mineral crystallinity and the mechanical properties of human cortical bone. *Bone*, 42 :476–482, 2008.
- [133] Z. Fan, J.Y. Rho, and J.G. Swadener. Three-dimensional finite element analysis of the effects of anisotropy on bone mechanical properties measured by nanoindentation. *Journal of Materials Research*, 19 (1) :114–123, 2004.
- [134] A.M. Parfitt. The physiological and clinical significance of bone histomorphometric data. In : *Bone histomorphometry techniques and interpretation*, CRC Press, Boca Raton, pages 143–223, 1983.
- [135] T.D. Pollard and W.C. Earnshaw. Biologie cellulaire. Ed. Elsevier, 2004.
- [136] R.B. Martin, D.B. Burr, and N.A. Sharkey. Analysis of bone remodelling. *Skeletal Tissue Mechanics*, Springer-Verlag (Book, Chapter 3).
- [137] L.N. Metz, R.B. Martin, and A.S. Turner. Histomorphometric analysis of the effect of osteocytes density on osteonal morphology and remodelling. *Bone*, 33 :753–759, 2003.
- [138] T. Diab and D. Vashishth. Morphology, localization and accumulation of in vivo microdamage in human cortical bone. *Bone*, 40 :612–618, 2007.
- [139] J.G. Skedros, R.D. Bloebaum, K.N. Bachus, and T.M. Boyce. The meaning of graylevels in backscattered electron images of bone. *Journal of Biomechanics*, 27 :47–56, 1993.
- [140] D.P. Fyrhie and M.B. Schaffler. The adaptation of bone apparent density to applied load. *Journal of Biomechanics*, 28 (2) :135–146, 1995.
- [141] C.H. Turner. Toward a mathematical description of bone biology : the principle of cellular adaptation. *Calcified Tissue International*, 65 :466–471, 1999.
- [142] H.S. Gupta. Mechanical modulation at the lamellar level in osteonal bone. *Journal of Materials Research*, 21 :1913–1921, 2006.
- [143] P. Roschger, Jr H. Plenck, K. Klaushofer, and J. Eschberger. A new scanning electron microscopy approach to the quantification of bone mineral distribution : backscattered electron image grey-levels correlated to calcium $\text{K}\alpha$ -line intensities. *Scanning Microscopy*, 9 (1) :75–88, 1995.
- [144] L. Allais, M. Bornert, T. Bretheau, and D. Cadelmaison. Experimental characterization of the local strain field in a heterogenous elastoplastic material. *Acta Metall materiala.*, 42 (11) :3865–3880, 1994.
- [145] S.M. Ott. Histomorphometric analysis of bone remodelling. *Principle of Bone Biology*, 1 :Chapter19, 2002.
- [146] P.J. Prendergast. Mechanics of bone generation. in Cowin, *Bone Mechanics Handbook*, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 2001.
- [147] E.H. Burger, J. Klein-Nulend, and T.H. Smith. Strain-derived canalicular fluid flow regulates osteoclast activity in a remodelling osteon- a proposal. *Journal of Biomechanics*, 36 :1453–1459, 2003.
- [148] J. Klein-Nulend, R.G Bacabac, and M.G. Mullender. Mechanobiology of bone tissue. *Pathologie Biologie*, 53 :576–580, 2005.

- [149] R.B. Martin, R.N. Clark, and S. Advani. An electro-mechanical basis for osteonal mechanics. *In Brighton, C.T. , Goldstein, S. 5 eds, Advances in Bioengineering ASME 14, New York, NY, USA, 1974.*
- [150] Y. Mikuni-Takagaki. Mechanical responses and signal transduction pathways in stretched osteocytes. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 17 :57–60, 1999.
- [151] R.B. Martin. Toward a unifying theory of bone remodelling. *Bone*, 26 (1) :1–6, 2000.
- [152] J.P. Stains and R. Civitelli. Gap junctions in skeletal development and function. *Biochimica et Biophysica Acta*, Review 1719 :69–81, 2005.
- [153] E.H. Burger, J. Klein-Nulend, and T.H. Smith. Experiments on cell mechanosensitivity : Bone cells as mechanical engineers. *in Cowin, Bone Mechanics Handbook, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 2001.*
- [154] A.E. Gooship and J.L. Cunningham. Pathophysiology of functional adaptation of bone remodelling and repair in vivo. *in Cowin, Bone Mechanics Handbook, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 2001.*
- [155] S.P. Fritton, K.J. McLeod, and C.T. Rubin. Quantifying the strain history of bone : spatial uniformity and self-similarity of low magnitude strains. *Journal of Biomechanics*, 33 (3) :317–325, 2000.
- [156] S.C. Cowin. Bone poroelasticity. *Journal of Biomechanics*, 32 :217–238, 1999.
- [157] V. Sikavitsas, J.S. Temenoff, and A.G. Mikos. Biomaterials and bone mechanotransduction. *Biomaterials*, 22 :2581–2593, 2001.
- [158] R.A. Salzstein, S.R. Pollack, A.F. Mak, and N. Petrov. Electromechanical potentials in cortical bone - I : A continuum approach. *Journal of Biomechanics*, 20 (3) :261–270, 1987.
- [159] C.H. Turner and F.M. Pavalko. Mechanotransduction and functional response of the skeleton to physical stress : the mechanisms and mechanics of bone adaptation (Review). *Journal of Orthopaedics Science*, 3 :346–355, 1998.
- [160] P.R. Leduc and R.M. Bellini. Nanoscale intracellular organization and functional architecture mediating cellular behavior. *Biomedical engineering (Annals)*, 2005.
- [161] J.Z. Wu and W. Herzog. Analysis of the mechanical behaviour of chondrocytes in unconfined compression tests for cyclic loading. *Journal of Biomechanics*, 39 :603–616, 2006.

Table des figures

1	Relation entre le risque fracturaire et l'activité de remodelage osseux [1]	4
1.1	Composantes d'un os long	9
1.2	Microstructure d'un os cortical humain (image par microscopie électronique à balayage)	11
1.3	Principales phases du remodelage osseux	30
2.1	Protocole d'obtention des échantillons parallélépipédiques à partir des prélèvements fémoraux. (a) : Localisation de la zone de prélèvement. (b) : Cylindre prélevé dans la diaphyse. (c) : Découpe d'une tranche par scie Secotom. (d) : Découpe successive de la section d'intérêt en parallélépipède.	48
2.2	Images 3D représentant la porosité des échantillons 4T et 5T obtenues à partir du logiciel Amira	51
2.3	Mesure de la densité minérale à partir de l'histogramme, Corde à 40%, moyenne BMD et écart type ΔBMD	52
2.4	Montage expérimental. (a) : Dispositif expérimental complet. (b) : Machine de compression	53
2.5	Courbes de compression des échantillons dans les directions L et T .	58
2.6	Relation entre le module de Young E macroscopique et l'âge des patients dans les directions L et T	61
2.7	Relation entre les propriétés mécaniques (E, σ_m) macroscopique et la porosité des échantillons dans les directions L et T	62
3.1	Analyse de l'indentation	68
3.2	Exemple de grille de nanoindentation sur l'échantillon 4T	70
3.3	Photographies des microstructures 1, 2, 3 et 5 L d'os cortical humain étudiées. (L : section d'observation longitudinale)	71
3.4	Photographies des microstructures 6, 7 et 8 L d'os cortical humain étudiées. (L : section d'observation longitudinale)	72
3.5	Photographies des microstructures 1, 2, 3 et 4 T d'os cortical humain étudiées. (T : section d'observation transversale)	73
3.6	Photographies des microstructures 5, 6, 7 et 8 T d'os cortical humain étudiées. (T : section d'observation transversale)	74
3.7	Rapport du module moyen dans la direction longitudinale sur le module moyen dans la direction transversale obtenu par nanoindentation pour les différents échantillons.	76

3.8	Module de Young moyen obtenu par nanoindentation en fonction de l'âge des patients pour les différents échantillons.	77
3.9	Ecart type du module de Young local obtenu par nanoindentation en fonction de l'écart type de la densité minérale pour les différents échantillons	78
4.1	Emplacement des zones de mesures de la déformation locale utilisées en microextensométrie pour l'échantillon 3T. Les points bleus au centre des carrés correspondent aux sommets des zones à analyser . .	82
4.2	Evolution des écarts types $\Delta\varepsilon_l$ des déformations moyennes locales en fonction des déformations moyennes macroscopiques ε_{11} des échantillons respectivement de section (a) : longitudinale L, (b) : transversale T	85
4.3	Relation entre la déformation macroscopique à l'étape de fissuration (ε_{11_f}) et l'âge des patients dans les directions L et T	86
4.4	Relation entre la contrainte macroscopique à l'étape de fissuration (σ_{11_f}) et la porosité des échantillons dans les directions L et T	87
4.5	Evolution des déformations moyennes locales ε_l en fonction des déformations moyennes macroscopiques ε_{11} avant fissuration des échantillons de section respectivement (a) : longitudinale L, (b) : transversale T	89
4.6	Relation entre la déformation moyenne locale ε_f et la déformation seuil ε_{sf} à la fissuration et l'âge des échantillons L et T	92
4.7	Relation entre la déformation moyenne locale ε_f et la déformation seuil ε_{sf} à la fissuration et la porosité des échantillons L et T	93
4.8	Relation entre la déformation seuil ε_{sf} à la fissuration et la valeur minimale locale de la densité minérale BMD_{min} des échantillons L et T	94
5.1	Géométrie des Unités Multicellulaires de Base dans la matrice endommagée à un temps fixé et définition des cellules associées (Ob : osteoblastes, Oc : osteoclastes)	100
5.2	Schematic representation of the bone remodelling modelling	102
5.3	Schematic representation of the bone remodelling modelisation through the time-dependent BMU and scales of the "remodelling process" time θ and the associated remodelling Young modulus Y	105
5.4	Evolution of the BMU geometry in the damageable matrix (in pink) in accordance with the ARF sequence (in the direction \underline{n}). <i>The resorption domain Ω_r appears in blue and the formation domain Ω_a in green</i>	106
5.5	Definition of the remodelling domain Ω_{BMU}	107
5.6	Geometry of a BMU during the activation phase.	110
5.7	Geometry of a BMU during the resorption phase in the direction \underline{n} . .	112
5.8	Geometry of a BMU during the formation phase along the direction \underline{n} , <i>a/apposition of non mineral materials, b/mineralization.</i>	113
5.9	Geometry of the final osteon (lamellae in green, Haversian canal in blue) in a damageable matrix (in pink).	115
5.10	(a) 3D view of an osteon, (b) Final microstructure with two osteons generated; (c) Scale of the Young modulus value [Pa]	116

5.11	(a) Localisation of the site of interest in the initial holed microstructure (pointed by the arrow); (b) Scale of the Young modulus value [Pa]	118
5.12	Case 1 : homogeneous matrix Ω_m : (a) Young modulus E_D evolution (in Pa) with Frondrk law, (c) strain evolution; Case 2 : holed matrix, influence of a small porosity in Ω_m (b) Young modulus E_D evolution (in Pa) with Frondrk law; (d) strain evolution	119
5.13	Holed matrix before and after remodelling (first row : at t_0 ; second row : at t_f) : (a, g) Young modulus distribution (b, h) color scale of the Young modulus value (Pa); (c, i) von Mises stress distribution; (d, j) color scale of the stress value (Pa); (e, k) equivalent strain distribution; (f, l) color scale of the strain value	120
5.14	Holed matrix during remodelling; first row : Young modulus (Pa) (color scale in d), second row : von Mises stress (Pa) (color scale in h), third row : equivalent strain (color scale in l); (a, e, i) resorption, t_r ; (b, f, j) apposition (collagen), t_a , (c, g, k) mineralization, t_m	121
5.15	Localisation of the sites of interest in the holed microstructure	122
5.16	Representative evolution of the Young modulus Y (in Pa) of each bone remodelling phases in different sites in Ω_o . (a) osteonitic lamella; (b) cement line; (c) Osteocytic lacuna/ Haversian canal	123
5.17	An earlier resorption in the osteonitic lamellae (a) compared to in the cement line (b) showed by the evolution of the remodelling Young modulus Y (in Pa) in Ω_o	124
5.18	Characteristic evolution in the osteonitic lamella of the von Mises stress σ (in Pa) (a) and of the equivalent strain ε (b)	125
5.19	Evolution of the Young modulus E (in Pa) : (a) in Ω_m (center of the damageable matrix); (b) in Ω_m , near the osteocytic porosity	126
6.1	Damage evolution far from the elliptic hole	139
6.2	Damage evolution in the lateral side of the elliptic hole	140
6.3	Longitudinal normal strain ε_y evolution far from the elliptic hole . . .	141
6.4	Longitudinal normal strain ε_y evolution in the lateral side of the elliptic hole	141
7.1	Microstructure 1 : (a) SEM imaging (gray levels), (b) Young modulus distribution before remodelling ($t=0$), (c) scale of the Young modulus value (Pa)	149
7.2	Microstructure 2 : (a) SEM imaging (gray levels), (b) Young modulus distribution before remodelling ($t=0$), (c) scale of the Young modulus value (Pa)	149
7.3	Young modulus distribution ($t = 0$). Activation sites : (a) Microstructure 1, (c) Microstructure 2; (b, d) associated scale of the initial Young modulus value (Pa).	150
7.4	Microstructure 1 before remodelling ($t=0$) : (a) Young modulus distribution; (b) scale of the Young modulus value (Pa); (c) normal longitudinal stress distribution; (d) scale of the stress value (Pa); (e) equivalent strain distribution; (f) scale of the strain value	151

7.5	Microstructure 2 before remodelling (t=0) : (a) Young modulus distribution; (b) scale of the Young modulus value (Pa); (c) normal longitudinal stress distribution; (d) scale of the stress value (Pa); (e) equivalent strain distribution; (f) scale of the strain value	151
7.6	Accelerated damage and remodelling Young modulus evolutions. (a) : in osteonitic lamellae, (b) : in cement line	155
7.7	Quasi <i>in vivo</i> damage and remodelling Young modulus evolutions. (a) : in osteonitic lamellae, (b) : in cement line	155
7.8	Quasi <i>in vivo</i> damage and remodelling Young modulus evolutions with further mineralization . (a) : in osteonitic lamellae, (b) : in cement line	155
7.9	Microstructure 2 ($\varepsilon_{eq0} = 4 \cdot 10^{-3}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Evolution of the Young modulus (first row), normal longitudinal stress (second row) and equivalent strain (third row) in the microstructure of human cortical bone : (a, e, i) Resorption phase, t_r ; (b, f, j) Apposition (of collagene) phase, t_a ; (c, g, k) : Mineralization phase, t_m ; scale : (d) Young modulus value (Pa), (h) normal stress value (Pa), (l) equivalent strain value.	158
7.10	Microstructure 2 ($\varepsilon_{eq0} = 4 \cdot 10^{-3}$, $\sigma \sim 100$ MPa) after remodelling with the "quasi <i>in vivo</i> " laws (t= 250 days) : (a) Young modulus distribution (b) scale of the Young modulus value (Pa); (c) normal longitudinal stress distribution; (d) scale of the stress value (Pa); (e) equivalent strain distribution; (f) scale of the strain value	159
7.11	Microstructure 2 : line of interest through the osteon 1 (in black, pointed by the arrow)	160
7.12	Microstructure 2 : along the line through the activation site "Ost 1" (Cf. figure 7.11) at the activation time ($\pm \delta t$) ($\varepsilon_{eq0} = 4 \cdot 10^{-3}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : (a) strain jump, "quasi <i>in vivo</i> " laws; (b) distribution of the initial Young modulus value E_0 (Pa)	160
7.13	Strain evolution on a line through the osteon 1 of the microstructure 2 (Cf. Figure 7.11). (a) : resorption; (b) : apposition (of collagen); (c, d) : mineralization (t=128 days and t=212 days respectively) . . .	161
7.14	Microstructure 6 ($\varepsilon_{eq0} = 1.41 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Young modulus distribution : (a) initial microstructure; (b) final microstructure after remodelling (t=100 days); (c) scale of the Young modulus value (Pa)	162
7.15	Microstructure 7 ($\varepsilon_{eq0} = 1.03 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Young modulus distribution : (a) initial microstructure; (b) final microstructure after remodelling (t=150 days); (c) scale of the Young modulus value (Pa)	163
7.16	Microstructure 1, 2, 6 et 7 (t=65 days)	164
A.1	Géométrie du faisceau du Microscanner Skyscan 1172	172
A.2	Vue schématisée de trois points d'un objet et de la reconstruction correspondante	173

C.1	Microstructure 6 ($\varepsilon_{eq0} = 1.41 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Distribution du module de Young : (a) microstructure initiale; (b) microstructure finale après remodelage ($t = 100$ cycles lents); (c) échelle de valeurs du module de Young (Pa)	182
C.2	Microstructure 6 ($\varepsilon_{eq0} = 1.41 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Evolution du module de Young : (a) phase de résorption, t_r ; (b) phase d'apposition (de collagène), t_a ; (c) : phase de minéralisation, t_m ; (e) échelle de valeurs du module de Young (Pa)	182
C.3	Microstructure 7 ($\varepsilon_{eq0} = 1.03 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Distribution du module de Young : (a) microstructure initiale; (b) microstructure finale après remodelage ($t = 150$ cycles lents); (c) échelle de valeurs du module de Young (Pa)	183
C.4	Microstructure 7 ($\varepsilon_{eq0} = 1.03 \cdot 10^{-2}$, $\sigma \sim 100$ MPa) : Evolution du module de Young : (a) phase de résorption, t_r ; (b) phase d'apposition (de collagène), t_a ; (c) : phase de minéralisation, t_m ; (e) échelle de valeurs du module de Young (Pa)	183

Liste des tableaux

1.1	Caractéristiques mécaniques macroscopiques (module de Young E et contrainte maximale σ_m) de l'os cortical humain [moyenne \pm écart type], (L) : direction longitudinale, (T) : direction transversale, N : nombre d'échantillons, (D) : diaphyse, NC : non communiqué.	14
1.2	Densité minérale et taux de porosité de l'os cortical humain [moyenne \pm écart type], (L) : direction longitudinale, (T) : direction transversale, N : nombre d'échantillons, (D) : diaphyse, NC : non communiqué.	17
1.3	Coefficients de détermination (r^2) entre la densité minérale apparente (BMD) et les caractéristiques mécaniques macroscopiques (module de Young E et contrainte maximale σ_m) de l'os cortical humain [moyenne \pm écart type], (L) : direction longitudinale, (T) : direction transversale, N : nombre d'échantillons, (D) : diaphyse, NC : non communiqué.	18
1.4	Coefficients de détermination (r^2) entre la porosité et les caractéristiques mécaniques macroscopiques (module de Young E , contrainte maximale σ_m et déformation associée ε_m) de l'os cortical humain [moyenne \pm écart type], (L) : direction longitudinale, (T) : direction transversale, N : nombre d'échantillons, (D) : diaphyse, NC : non communiqué.	19
1.5	Propriétés mécaniques en compression (module de Young (E), contrainte σ_m , déformation ε_m à la rupture) selon le type d'ostéons (n échantillons) et le degré de minéralisation (dg min) élevé (+) ou faible(-). Les valeurs correspondent à la moyenne \pm l'écart type.	22
1.6	Propriétés mécaniques du collagène et de l'hydroxyapatite d'un fémur bovin.	23
1.7	Module de Young obtenu par nanoindentation de lamelles ostéonitiques dans diverses directions (1 et 2 : direction transversales, 3 : longitudinale, ex : C_{12} et $\theta=30^\circ$: indentation dans le plan (1-2), à 30° par rapport à l'axe radial 1.	26
1.8	Module de Young obtenu par nanoindentation de lamelles interstitielles (matrice) dans diverses directions (1 et 2 : direction transversales, 3 : longitudinale, ex : C_{12} et $\theta=30^\circ$: indentation dans le plan (1-2), à 30° par rapport à l'axe radial 1.	26
1.9	Déformations et taux de déformations obtenus sur tibia humain lors de différents exercices d'après [84].	34
2.1	Age des patients et géométrie des échantillons correspondant aux huit fémurs étudiés.	49

2.2	Porosité macroscopique obtenue après analyse des images micro CT pour les différents échantillons étudiés (L et T)	55
2.3	Densité minérale macroscopique (BMD) et écart type associé (\pm) obtenue par micro CT pour les différents échantillons étudiés (L et T) (* : non représentatif, spécimen scanné en différé relativement aux autres)	56
2.4	Valeurs du module sécant données par les essais de compression des microstructures d'os cortical humain étudiées. (L : direction longitudinale, T : direction transversale)	59
2.5	Valeur de la contrainte maximale et de la déformation correspondante pour les huit échantillons dans les directions L et T.	59
2.6	Coefficient de corrélation r^2 et tendance entre les paramètres mécaniques E , σ_m , ε_m et l'âge	60
2.7	Coefficient de corrélation r^2 et tendance entre les paramètres mécaniques E , σ_m , ε_m et la porosité	61
2.8	Corrélation des paramètres mécaniques E , σ_m , ε_m en fonction de la densité minérale.	63
3.1	Module de Young moyen E_n et écart type mesurés par nanoindentation pour les différents échantillons étudiés (L et T)	75
3.2	Valeurs moyennes microscopiques (nanoindentation) et macroscopiques (essais mécaniques) obtenues sur l'ensemble des échantillons.	77
3.3	Dureté moyenne H_n et écart type mesurés par nanoindentation pour les différents échantillons étudiés (L et T)	77
4.1	Valeur de la déformation macroscopique à l'étape de fissuration ε_{11_f} et de la contrainte correspondante σ_{11_f} pour les huit échantillons dans les directions L et T.	84
4.2	Valeur de la pente obtenue par regression linéaire reliant la déformation du tissu ε_l à la déformation macroscopique ε_{11} pour les huit échantillons dans les directions L et T.	88
4.3	Valeur de la déformation moyenne locale et de la valeur seuil à l'étape de fissuration ε_f pour les huit échantillons dans les directions L et T.	90
5.1	Domain parameters	105
5.2	Variables of the bone remodelling model	108
5.3	Variables of the bone remodelling model	109
6.1	Range of values for quantities associated with homogenized, full and low frequency computations (σ_y , the stress, ε_y , the strain in the loading direction and D , the damage variable).	142
6.2	Values of the maximal relative error (e) between quantities associated with homogenized, full and low frequency simulations, far from the hole.	142
6.3	Range of values for quantities associated with homogenized, full and low frequency computations, on the lateral side of the hole (σ_y , the stress, ε_y , the strain in the loading direction and D , the damage variable).	142

6.4	Values of the maximal relative error (e) between quantities associated with homogenized, full and low frequency simulations, on the lateral side of the hole.	142
7.1	Activation sites and times with (low and high frequency cycles) or without (low frequency cycles only) the use of the time homogenization method for the microstructure 1	152
7.2	Activation sites and times according to the equivalent strain threshold ε_{eq0} value for the microstructure 1	153
7.3	Activation sites and times according to the loading amplitude value for the microstructure 1	154
7.4	Activation sites and times with the accelerated or the quasi <i>in vivo</i> damage law for the microstructure 1 ($\varepsilon_{eq0} = 4 \cdot 10^{-3}$, $\sigma \sim 100$ MPa) . .	156
7.5	Activation sites and times with the accelerated or the quasi <i>in vivo</i> damage law for the microstructure 2 ($\varepsilon_{eq0} = 4 \cdot 10^{-3}$, $\sigma \sim 100$ MPa) . .	156
7.6	Mean Young modulus get by nanoindentation (E_{ni}) (en GPa) for the microstructure i and the associated experimental strain threshold value ε_{eq0} get by DIC)	164