



**HAL**  
open science

# Identification d'espèce par micro-CT et reconstruction tridimensionnelle : méthodologie et applications aux sciences archéologiques, historiques et forensiques

Charlotte Ritemard

## ► To cite this version:

Charlotte Ritemard. Identification d'espèce par micro-CT et reconstruction tridimensionnelle : méthodologie et applications aux sciences archéologiques, historiques et forensiques. Anthropologie biologique. Université Paris sciences et lettres, 2019. Français. NNT : 2019PSLEP046 . tel-02934175

**HAL Id: tel-02934175**

**<https://theses.hal.science/tel-02934175>**

Submitted on 9 Sep 2020

**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.



**THÈSE DE DOCTORAT**  
**DE L'UNIVERSITÉ PSL**

Préparée à l'École Pratique des Hautes Études

**Identification d'espèce par micro-CT et reconstruction tridimensionnelle : méthodologie et applications aux sciences archéologiques, historiques et forensiques.**

Soutenue par

**Charlotte RITTEMARD**

Le 22 novembre 2019

École doctorale n° 472

**École doctorale de l'École  
Pratique des Hautes Études**

Spécialité

**Anthropologie**

Composition du jury :

Mme Cristina, CATTANEO Professeur, Université de Milan	<i>Rapporteur</i>
Mme Christine, CHAPPARD CR, INSERM	<i>Rapporteur</i>
M. Serge, COHEN CR, IPANEMA - CNRS	<i>Examineur</i>
Mme Hélène, COQUEUGNIOT DR, CNRS - EPHE	<i>Directrice de thèse</i>
M. Pascal, DESBARATS Professeur, Université de Bordeaux	<i>Président du jury</i>
M. Sébastien, COUETTE Maître de conférences, CNRS - EPHE	<i>Examineur</i>
M. Olivier, DUTOUR DE, EPHE	<i>Directeur de thèse</i>





## REMERCIEMENTS

---

En premier lieu, je souhaite remercier mesdames Cristina Cattaneo et Christine Chappard qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'être les rapporteurs de cette thèse ainsi qu'à messieurs Serge Cohen et Sébastien Couette pour avoir bien voulu participer à mon jury de thèse et pour leur intérêt pour mon travail.

Par ailleurs, cette thèse n'aurait bien entendu pas été possible sans deux personnes qui m'ont soutenue tout au long de mon parcours et ont bien voulu reconduire leur confiance en mes capacités suite à un master recherche. Vous n'avez jamais cessés de persévérer pour que cette thèse puisse avoir lieu, malgré les obstacles et les échecs. Madame Hélène Coqueugniot et monsieur Olivier Dutour, merci à vous deux de m'avoir soutenue et encouragée tout au long de ces cinq années. Merci pour votre confiance, votre compréhension, votre disponibilité et votre patience tout du long du chemin et ce malgré la distance. Merci aussi pour l'opportunité que vous m'avez offerte de participer à votre campagne synchrotron et également les chances de pouvoir présenter mon travail en France et à l'étranger. Je garde particulièrement un bon souvenir de notre voyage outre atlantique qui n'aurait, encore une fois, pas eu lieu sans vous.

Merci à l'ensemble du laboratoire PACEA pour son accueil.

Merci à Sébastien Couette et à Christopher Knüsel qui ont bien voulu suivre les avancements de cette thèse en tant que membres de mon comité de thèse et pour les discussions que nous avons pu avoir et leurs conseils avisés.

Tous mes remerciements à Christophe Saint-Pierre et Patrice Courtaud pour m'avoir donné l'accès à la collection humaine de la Granède ainsi qu'aux bouchers qui, malgré la requête étrange, m'ont fourni de quoi constituer mon échantillon de spécimens animaux. Merci également à l'ensemble des archéozoologues de l'UMR PACEA pour leur aide dans le traitement de ces ossements frais.

Je veux également exprimer toute ma reconnaissance envers Erwan Plougonven qui a assuré toute la partie squelettisation de ce travail et s'est investi afin d'obtenir les meilleures mesures et informations du réseau canalaire cortical. Merci également à Frédéric Santos pour son expertise et ses conseils dans le domaine si pointilleux des statistiques. La grande majorité de ce travail a reposé sur vous deux et vos talents respectifs.

Merci à Edward Ando pour ses conseils avisés en traitement d'images et pour m'avoir fait découvrir les avantages de *Python*, *Jupiter* et *Spam* ainsi que les perspectives de traitement et d'analyse d'images que ces outils offrent.

Je souhaite également chaudement remercier Pierre et Dominique pour leur contribution à mon échantillon faunique et leur accueil, plus que précieux, dans la phase, peu ragoutante de nettoyage des ossements.

Merci à la team BUST et associés pour leur joies de vivre pleine de « Bangs » ainsi que la team HFB 7/8 Grenoble pour leur accueil et leur bonne humeur de tous les jours.

Je remercie également les doctorants et post-doctorants de PACEA qui ont partager une partie de mon quotidien pendant ces dernières années ainsi que les doctorants du 3SR, en particulier, Maggie et Mohammad pour leur si bon accueil, les discussions, les échanges et les cours d'espagnol.

Un grand merci à Nicolas Lenoir pour ces conseils et formations aux outils et techniques d'imagerie. Merci de m'avoir présenté à ton réseau d'experts et ton aide dans le montage, la préparation et la réalisation de notre campagne Synchrotron. Au-delà de ça, merci pour tout tes conseils, ton aide et ton soutien. Merci pour les discussions, les rencontres et les découvertes. Merci pour tout.

Merci à mes amis d'être toujours là pour moi. Antony, mon « grand frère » de thèse qui me fait profiter de toute sa sagesse, son humour, son expérience et son intellect. Dany, mon acolyte de galère, merci pour les nuits blanches musicales. Marie, ma colloc' de coeur, et son intérêt douteux pour les terreurs cinématographiques. Insaf, ma coach de vie personnelle, qui a toujours su écouter, même quand le sujet lui semblait en chinois, et supporter nos conversations sans fin.

Je veux exprimer toute ma reconnaissance envers ma famille qui m'a toujours soutenue, quelques soient mes choix, et a toujours été présente pour moi, même et surtout, dans les moments les plus difficiles.

Enfin, je voudrais, encore une fois, remercier toutes les personnes, citées précédemment ou non, qui m'ont soutenue, accompagné, aidé et épaulé pendant tout ce temps. J'espère que vous vous reconnaitrez, que vous savez à quel point il était important que vous soyez à mes côtés et que vous comprenez l'ampleur de ma gratitude. Cette thèse n'aurait pu commencer et encore moins se terminer sans vous tous.

# TABLE DES MATIÈRES

---

<b>Table des matières</b>	<b>5</b>
<b>Liste des abréviations</b>	<b>9</b>
<b>Table des illustrations</b>	<b>10</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>14</b>
<b>Introduction</b>	<b>15</b>
<b>État de l'art</b>	<b>20</b>
<b>1. Tissu osseux</b>	<b>21</b>
1.1. l'os	21
1.1.1. Anatomie	21
1.1.2. Composition chimique	23
1.1.3. Cellules osseuses	23
1.1.4. Fonctions	25
1.2. Ossification	26
1.2.1. Ossification intra-membraneuse	26
1.2.2. Ossification enchondrale	26
1.2.3. Modelage	28
1.2.4. Remodelage	29
1.3. Microstructure osseuse corticale	31
1.3.1. Os primaire	31
1.3.2. Os secondaire	34
1.3.3. Classifications des différents tissus osseux	36
<b>2. Revue des méthodes de distinction Homme/animal</b>	<b>41</b>
2.1. Observation macroscopique	41
2.2. Méthodes biomoléculaires	43
2.2.1. ADN	43
2.2.2. Immunologie	45
2.3. Imagerie	46
2.3.1. Histologie	46
2.3.2. Radiologie	48
2.3.3. Microtomographie	49

<b>3. Analyse de la microstructure corticale</b>	<b>52</b>
3.1. Variabilité microstructurale de l'os cortical	52
3.1.1. Dimorphisme sexuel	52
3.1.2. Âge	53
3.1.3. Contraintes biomécaniques	54
3.1.4. Population	55
3.1.5. Pathologies	56
3.2. Modifications taphonomiques microscopiques	57
3.2.1. Bioérosion	57
3.2.2. Atteintes non-biologiques	59
3.2.3. Température	59
3.3. Distinction Homme/ animal	60
3.3.1. L'Homme au sein des Vertébrés	60
3.3.2. L'Homme et les autres mammifères	60
3.3.3. L'Homme parmi les primates	67
<b>Matériel</b>	<b>70</b>
<b>1. Choix de la zone d'étude</b>	<b>71</b>
1.1. Os	71
1.2. Régions d'intérêt	72
<b>2. Échantillon humain</b>	<b>73</b>
2.1. Le site de La Granède	73
2.1.1. Population	73
2.1.2. Sélection des individus	75
<b>3. Échantillon Faunique</b>	<b>76</b>
3.1. Sélection de la méthode de décharnement et de dégraissage	77
3.2. Protocole de nettoyage	79
3.3. Préparation des carottes osseuses	79
<b>Méthode</b>	<b>80</b>
<b>1. Acquisitions</b>	<b>81</b>
1.1. Tomographie à rayon X	81
1.1.1. Principe	81
1.1.2. Qualité de l'image	83

1.1.3.	Apports du rayonnement Synchrotron par rapport à la $\mu$ CT classique _____	85
1.2.	Protocole d'acquisition des images _____	86
<b>2.</b>	<b>Traitement des images _____</b>	<b>88</b>
2.1.	Sélection des Volumes d'intérêt _____	89
2.2.	Segmentation _____	89
2.3.	Squelettisation _____	93
<b>3.</b>	<b>Variables _____</b>	<b>95</b>
3.1.	Variables qualitatives _____	95
3.2.	Variables quantitatives _____	97
<b>4.</b>	<b>Évaluation de la variabilité corticale _____</b>	<b>100</b>
4.1.	Variabilité intra-espèce _____	100
4.1.1.	Variabilité individuelle _____	100
4.1.2.	Variabilité inter-osseuse _____	100
4.1.3.	Variabilité intra-osseuse _____	101
4.2.	Variabilité inter-espèce _____	101
<b>Résultats _____</b>		<b>103</b>
<b>1.</b>	<b>Analyse qualitative _____</b>	<b>104</b>
<b>2.</b>	<b>Analyse quantitative _____</b>	<b>107</b>
2.1.	Variabilité intra-espèce _____	107
2.1.1.	Variabilité individuelle _____	107
2.1.2.	Variabilité inter-osseuse _____	108
2.1.3.	Variabilité intra-osseuse _____	113
2.2.	Variabilité entre espèces _____	118
2.2.1.	Statistiques descriptives _____	118
2.2.2.	Analyse en composante principale _____	122
2.2.3.	Arbre de décision et Forêt aléatoire _____	123
2.2.4.	Cartes d'orientation _____	125
<b>Discussion _____</b>		<b>127</b>
<b>1.</b>	<b>Variabilité intra-spécifique _____</b>	<b>128</b>
1.1.	Variabilité individuelle _____	128
1.2.	Variabilité inter-osseuse _____	129
1.2.1.	Différences entre os longs (humérus et fémurs) _____	129

1.2.2.	Latéralisation _____	130
1.3.	Variabilité intra-osseuse _____	132
<b>2.</b>	<b>Identification d'espèces _____</b>	<b>137</b>
2.1.	Observations qualitatives _____	137
2.2.	Analyse quantitative _____	139
2.3.	Erreurs d'identification _____	143
2.4.	Critères distinctifs _____	145
<b>Conclusions et perspectives _____</b>		<b>149</b>
<b>1.</b>	<b>Conclusions _____</b>	<b>150</b>
1.1.	Microstructure corticale et identification d'espèce _____	150
1.2.	Complexité du tissu osseux cortical _____	152
1.3.	Limitations méthodologiques _____	153
<b>2.</b>	<b>Perspectives _____</b>	<b>155</b>
2.1.	Perspectives d'identification d'espèces _____	155
2.1.1.	Échantillon _____	155
2.1.2.	Individus immatures _____	159
2.1.3.	Restes fossiles et dégradés _____	160
2.2.	Perspectives méthodologiques _____	161
2.3.	Autres Perspectives _____	162
<b>Bibliographie _____</b>		<b>166</b>

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

---

**2D** : Deux dimensions

**3D** : Trois dimensions

**ACP** : Analyse en composantes principales

**ADN** : Acide Désoxyribo Nucléique

**ANDmt** : ADN mitochondrial

**BMU/UFR** : *Basic Multicellular Unit*/ Unité de formation de remodelage

**BOLD** : *Barcode of life Database*

**BT/TV** : *Bone volume / Total volume* (ratio du volume d'os cortical)

**Ca/TV** : *Canal Volume / Total Volume* (ration du volume de vide)

**Ca.ConnD** : Densité de connexion entre les canaux

**Ca.D (min,med max)** : Diamètres des canaux (minimum, médian et maximum)

**Ca.Le** : Longueur moyenne des canaux

**Ca.N** : Nombre de canaux

**Ca.orX** : Orientation des canaux par rapport à l'axe X (médo-latéral)

**Ca.orY** : Orientation des canaux par rapport à l'axe Y (antéro-postérieur)

**Ca.orZ** : Orientation des canaux par rapport à l'axe Z (axe longitudinal)

**ELISA** : *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*

**FGF23** : Facteur 23 de croissance du fibroblaste

**i.e.**: *id est*, c'est à dire

**IQ** : Interquartile, zone entre les 1<sup>er</sup> et 3<sup>eme</sup> quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif.

**1,5Q** : 1 fois et demi la valeur de l'interquartile

**MFD** : destructions focales microscopiques

**OPD** : *Osteon population density* (densité d'ostéons entiers et fragmentaires)

**Pb** : Paires de base d'ADN

**PCR** : *Polymerase Chain Reaction*

**pRIA** : Test radioimmunologique en phase solide

**μCT**: Microtomographie

**SR** : Synchrotron

**STRs** : *Short Tadem Repeats*

**RPE** : Résonance paramagnétique électronique

**ROI** : Région d'intérêt

**VOI** : Volume d'intérêt

**ZOOMS** : *Zooarcheology by Mass Spectrometry*

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

---

Figure 1 : Anatomie de l'os, coupe parasagittale d'un tibia gauche immature montrant les éléments importants de l'anatomie macroscopique d'un os long humain (tiré de White et al., 2016, p. 33).....	22
Figure 2 : Cellules osseuses (d'après Marieb et Hoehn, 2014). .....	24
Figure 3 : Étapes de la croissance enchondrale (d'après Allen et Burr, 2014). .....	28
Figure 4 : Cycle de remodelage, 5 étapes d'action de la BMU.....	30
Figure 5 : Os tissé (d'après Burr et Akkus, 2014).....	32
Figure 6 : Os lamellaire (d'après Burr et Akkus, 2014). .....	32
Figure 7 : Os plexiforme chez la vache (d'après Martin et al., 2015). .....	33
Figure 8 : Schéma de l'organisation microstructurale de l'os cortical secondaire (d'après Stevens et Lowe, 2006).....	35
Figure 9 : Illustration des différents types d'ostéons secondaires : 1) ostéon de type I, 2) ostéon à double zone, 3) ostéon de type II (d'après Robling et Stout, 1999).....	36
Figure 10 : Différents types de répartition des canaux vasculaires de l'os cortical. ....	39
Figure 11 : Comparaison entre des fémurs de bœuf, d'humain et de porc (d'après France, 2008).....	42
Figure 12 : Exemple de bandes d'ostéons chez le porc (D'après Mulhern et Ubelaker, 2011). ....	47
Figure 13 : Schémas de diaphyse d'os longs animaux. A) os spongieux homogène, B) ligne délimitant la bordure entre l'os spongieux et l'os cortical, C) invaginations de l'os cortical dans l'os spongieux sous forme de spicules, D) présence du foramen nourricier dans la zone de la mi-diaphyse. (d'après Chilvarquer et al., 1987).....	48
Figure 14 : Os cortical présentant une organisation irrégulière pouvant correspondre à une maladie de Paget.....	57
Figure 15 : Représentations des 4 types de tunnels définis par Hackett (1981) : 1) tunnel de Wedl, 2) tunnel linéaire longitudinal, 3) tunnel en bourgeon, 4) tunnel lamellés (d'après Jans et al., 2004).....	58
Figure 16 : Os primaire longitudinal de lapin (à gauche) et os avasculaire de rat (à droite) (Martiniaková et al., 2006). .....	61
Figure 17 : Combinaison d'os avasculaire (AV) et d'os haversien irrégulier (IH) chez un fémur de chien. La flèche indique le périoste. (d'après Brits et al., 2014). ....	62

Figure 18 : Exemples d'os radial (à droite) et d'os réticulaire (à gauche) chez Bos taurus (D'après Cuijpers, 2006).....	63
Figure 19 : Sections à mi-cortex de fémurs d'un macaque femelle de 5.32 ans (droite) et d'un macaque mâle de 16 ans (gauche) (d'après Havill, 2004). ....	69
Figure 20 : Positionnement des régions d'intérêt étudiées à 30 %, 50 % et 70 % de la longueur maximal de l'os. ....	72
Figure 21 : Sépulture 64 en coffre de dalles de calcaire contenant le sujet 50 (à gauche) et sépulture 65 naviforme contenant l'individu 46 à droite (d'après Saint-Pierre, 2013). ....	74
Figure 22 : Fémur gauche de l'individu GRA_Su_50 du site de la Granède. ....	75
Figure 23 : Fémur droit du sujet BT10 et humérus droit du sujet BT6.....	77
Figure 24 : Carottes osseuses de l'individu BT10 placé dans un support cylindrique en PMMA.....	79
Figure 25 : Schéma du dispositif d'une acquisition tomographique : l'objet est place sur un support rotatif entre la source de rayons X et le détecteur. ....	82
Figure 26 : Matrice de reconstruction : $N_0$ correspond à l'intensité du faisceau à l'entrée de l'objet et $N_i$ la somme des coefficients d'atténuation ( $\mu_0, \mu_1, \dots, \mu_n$ ) rencontrées par les rayons X (d'après Goldman, 2007). ....	82
Figure 27 : Exemple d'un fémur humain en place dans la platine de rotation de la ligne PSICHE. ....	87
Figure 28 : Étapes du protocole de traitement et d'analyse des images. ....	88
Figure 29 : Non-local Means Denoising (exemple du sujet humain Su-121_Car1) : A) image originale, B) lissage à 75, C) lissage à 100.....	90
Figure 30 : Étapes de segmentation des canaux (exemple de la coupe 250 du scan du sujet BT10_Car1) : A) coupe originale, B) sélection de l'os, C) utilisation de l'outil d'inversion de sélection et sélection des canaux corticaux. ....	91
Figure 31 : Outils du menu Selection Manipuation du logiciel TIVMI® utilisés pour le nettoyage des segmentations et étapes du traitement des images.....	92
Figure 32 : Reconstruction 3D du réseau canalaire de BT10_Car1, vue médiale. ....	93
Figure 33 : Exemple de squelettisation pour une zone de 250 slices en 3 dimensions de BT 10_car1 : les points rouges représentent les nœuds et les traits bleus les segments du squelette (image obtenue sur AVIZO®). ....	94
Figure 34 : A) organisation hétérogène de SS7_Car3, B) organisation homogène de SS8_Car1. ....	96
Figure 35 : Exemple de cartes de répartition et de densité d'orientation des canaux pour l'échantillon Su_84_VOI_3, les canaux sont ici majoritairement longitudinaux comme le montre la forte	

densité au centre du cercle 2. On peut cependant noter la présence de quelques canaux obliques s'éloignant du centre du cercle 1, dont le faible nombre se traduit par la faible densité en périphérie. ....	99
Figure 36 : Exemple d'un arbre de décision. À chaque nouvelle variable incluse dans le test, les individus sont séparés jusqu'à obtenir des groupes ne contenant qu'une espèce.....	102
Figure 37 : Vues supérieures des différents types d'os observés au sein de l'échantillon : A) os haversien de Su_84_ VOI1 ; B) os plexiforme de SS9_ VOI1; C) os réticulaire de SS11_ VOI3 ; D) os radial de SS24_ VOI3 ; E) canaux longitudinaux de SS25_ VOI2. ....	105
Figure 38 : exemple de bande d'ostéons de SS3_ VOI3. ....	106
Figure 39 : Résultat de l'ACP comparant les individus de l'échantillon humain en fonction de leur sexe. L'axe 1 est influencé par le diamètre des canaux et par la porosité corticale dans une moindre mesure, l'axe 2 représente le nombre des canaux, leur connectivité et la longueur des branches. ....	108
Figure 40 : Résultat de l'ACP comparant les individus au sein de l'échantillons humain en fonction de la latéralisation de l'os. ....	109
Figure 41 : Résultat de l'ACP comparant les individus au sein de l'échantillons de Bos taurus en fonction de la latéralisation. ....	109
Figure 42 : Résultat de l'ACP comparant les individus au sein de l'échantillons de Sus scrofa en fonction de la latéralisation.....	110
Figure 43 : Boîtes de dispersion comparant les ossements droits et gauche de l'échantillon humain pour Ca.D.min, Ca.D.med, Ca.D.max et Ca.orY. (m = médiane divisant l'échantillon en deux parties de même effectif, IQ = Interquartile, zone entre les 1er et 3eme quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif, 1.5IQ = 1 fois et demi la valeur de l'interquartile, ● = valeurs extrêmes).....	111
Figure 44 : Résultats des ACP comparant les individus au sein des échantillons de vache et de porc en fonction de l'os (Fémur ou humérus. ....	112
Figure 45 : Boîtes de dispersion comparant les 3 VOI au sein de l'échantillon humain pour Ca.D.min, Ca.D.med, Ca.D.max, Ca.orX, CaV/TV et Ca.Le. (m = médiane divisant l'échantillon en deux parties de même effectif, IQ = Interquartile, zone entre les 1er et 3eme quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif, 1.5IQ = 1 fois et demi la valeur de l'interquartile, ● = valeurs extrêmes).....	115
Figure 46 : Boîtes de dispersion comparant les 3 VOI de l'échantillon de Bos taurus pour CaV/TV, Ca.ConnD, Ca.N, Ca.D.min, Ca.D.med, Ca.D.max et Ca.Le. (m = médiane divisant l'échantillon	

en deux parties de même effectif, IQ = Interquartile, zone entre les 1er et 3eme quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif, 1.5IQ = 1 fois et demi la valeur de l'interquartile, ● = valeurs extrêmes).....	116
Figure 47 : Boîtes de dispersion comparant les 3 VOI de l'échantillon de <i>Sus scrofa</i> pour Ca.D.min, Ca.D.med, Ca.D.max, CaV/TV et Ca.orX. (m = médiane divisant l'échantillon en deux parties de même effectif, IQ = Interquartile, zone entre les 1er et 3eme quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif, 1.5IQ = 1 fois et demi la valeur de l'interquartile, ● = valeurs extrêmes).....	117
Figure 48 : Boîtes de dispersion comparant les 3 espèces pour Ca.orX, Ca.orY, Ca.orZ, Ca.D.min, Ca.D.med et Ca.D.max. ....	120
Figure 49 : Boîtes de dispersion comparant les 3 espèces pour Ca.ConnD, Ca.N, Ca.Le et CaV/TV. ....	121
Figure 50 : Résultat de l'ACP comparant les échantillons des 3 espèces et cercle de corrélation des variables. ....	122
Figure 51 : Exemple d'arbre de décision répartissant progressivement les spécimens dans les groupes d'espèces estimées (ovales) et tableau récapitulatif des résultats de la forêt aléatoire. Le nombre d'individus des espèces réelles repartis à chaque bifurcation de l'arbre est indiqué dans les carrés. ....	124
Figure 52 : Cartes de répartition et de densité des différents types d'orientation rencontrés dans notre échantillon : A) orientation préférentielle longitudinale de Su_84_VOI1, B) orientation préférentielle antéro-postérieure de SS18_VOI1, C) orientation préférentielle médio-latérale de SS11_VOI3, D) absence d'orientation préférentielle de SS1_VOI3.....	126
Figure 53 : Schéma récapitulatifs des forces agissant sur le fémur et leur potentiel effet sur les paramètres de la microstructure corticale. ....	133
Figure 54 : Récapitulatif des types d'os et orientations préférentielles par VOI pour <i>Bos taurus</i> et <i>Sus scrofa</i> . ....	135
Figure 55 : Reconstruction 3D de SS24_VOI2, vue supérieure. ....	144
Figure 56 : Reconstruction 3D de BT7_VOI1, vue antéro-médiale. ....	144
Figure 57 : Radiographies de main humaine (a) et de patte avant d'ours (b) (d'après Mulhern, 2016). ...	157
Figure 58 : Reconstructions du réseau canalaire cortical d'un nourrisson (gauche) et d'un lapin (droite), images préliminaires. ....	160
Figure 59 : Fabrication de dés à jouer à partir des métapodes de bœuf (Goret et Robet-Belarbi, 2018, © dessin J.-F. Goret). ....	164

## LISTE DES TABLEAUX

---

Tableau 1 : Classification des types de vascularisations osseuses. ....	38
Tableau 2 : Paramètres couramment utilisés dans la littérature pour l'analyse microstructurale 3D de l'os cortical. ....	50
Tableau 3 : Tableau récapitulatif des structures osseuses observées et mesurées pour Bos taurus dans la littérature. ....	64
Tableau 4 : Tableau récapitulatif des structures osseuses observées et mesurées pour Sus scrofa dans la littérature. ....	66
Tableau 5 : Tableau récapitulatif de l'effectif de l'échantillon faunique. ....	76
Tableau 6 : Paramètres d'acquisition des scans. ....	87
Tableau 7 : Classification des types d'os en fonction de l'organisation des canaux utilisée dans notre étude (adaptée d'après de Riqules 1975 ; Francillon-Vieillot et al., 1990 et Brits et al., 2014). ....	96
Tableau 8 : Récapitulatif de l'organisation osseuse et des types d'os observés pour chaque espèce. ....	104
Tableau 9 : Divergences liées au sexe : résultats des tests de Wilcoxon bivarié réalisé sur l'échantillon humain. ....	107
Tableau 10 : Variations liées à la latéralisation : résultats du test de Wilcoxon bivarié réalisé au sein des trois échantillons. ....	111
Tableau 11 : Variations liées à la localisation du VOI : résultats des analyses Linéaires mixtes par espèce. ....	113
Tableau 12 : Moyennes obtenues par espèce pour chaque paramètre métrique par espèce. ....	118
Tableau 13 : Résultats du test de Wilcoxon bivarié évaluant les différences entre espèces 2 à 2. ....	119
Tableau 14 : Récapitulatif des différentes orientations des canaux observées pour chaque espèce. ....	125
Tableau 15: Données métriques 2D et 3D des canaux corticaux présentés dans la littérature. ....	141
Tableau 16 : Tableau récapitulatif classant les paramètres en fonction de leur pouvoir discriminant pour l'identification d'espèce. Le classement est effectué en fonction des résultats du test de Wilcoxon par variable (Tableau 13), du poids de décision obtenue pour la forêt aléatoire et prend en compte les potentiels biais liés aux variables. ....	148

# **INTRODUCTION**

---

L'anthropologie biologique peut se définir comme l'histoire naturelle du genre humain. Elle s'intéresse depuis sa création comme discipline scientifique par Broca aux interactions entre l'Homme et son milieu. Elle cherche à comprendre comment l'être humain s'adapte aux changements de son environnement et de ses modes de vie. Les anthropologues, travaillant dans une dimension diachronique, se sont particulièrement intéressés aux structures minéralisées de l'organisme humain, qui se conservent le mieux dans le temps et permettent de retracer les grandes étapes de cette histoire naturelle.

Le caractère particulier de l'os, mécaniquement actif et en renouvellement continu au cours de la vie, de la vie intra-utérine au décès, rend possible le décryptage d'une partie de l'histoire d'un individu, en accédant à certaines de ses caractéristiques « ostéobiographiques » (âge, sexe, activités, maladies).

La première étape essentielle de l'identification de restes osseux est leur détermination et leur attribution à une espèce d'appartenance, résumée en humain / non humain. Cette information permet de confirmer à l'anthropologue forensique le caractère judiciaire d'une scène de crime et contribue, pour l'ostéoarchéologue, à la compréhension des sites archéologiques en attestant, sur un site donné, de la présence de l'Homme et de son environnement animal. L'identification de ces restes osseux offre également un aperçu des moyens de subsistance des populations du passé en identifiant des pratiques de chasse ou de domestication. Elle aide à appréhender l'environnement de ces populations ainsi que certains aspects de leurs cultures, de leurs productions matérielles et parfois de leurs croyances.

Malheureusement, que l'on soit en contexte archéologique ou forensique, les ossements retrouvés sont bien souvent fragmentés ou dégradés. Les restes osseux, issus de scènes de crime, de charniers ou de sites de catastrophe ont le plus souvent subi une importante destruction ou fragmentation et les os humains se trouvent mélangés à d'autres types d'ossements et de débris (Blau et Briggs, 2011). Il semble qu'environ 20 % des éléments « osseux » soumis à une expertise médico-légale ne correspondent pas à des restes humains ou même osseux (Quatrehomme *et al.*, 2015).

La comparaison taxonomique est depuis longtemps au centre des questionnements des archéo-anthropologues, zooarchéologues et anthropologues forensiques, confrontés au problème de fragmentation osseuse. Face à la perte d'éléments anatomiques spécifiques, les méthodes classiques d'identification macromorphologique atteignent leur limite et d'autres méthodes d'analyse plus précises sont alors nécessaires. Les analyses génétiques et biomoléculaires ont prouvé leur efficacité (Bellis *et al.*, 2003 ; Ubelaker et Lowenstein, 2004 ; Verzeletti *et al.*, 2015). Cependant, ces techniques ne sont pas toujours applicables en fonction du degré de dégradation des molécules biologiques et de l'ancienneté des ossements (Brandt *et al.*, 2002 ; Cattaneo *et al.*, 2009). Au contraire, les paramètres microstructuraux de l'os cortical résistent mieux au temps et peuvent conserver leur organisation même lorsqu'ils sont soumis à de fortes températures. Les travaux réalisés en histologie ont prouvé l'intérêt de l'observation des structures internes de l'os cortical pour distinguer différentes espèces de Vertébrés. Ils mettent en évidence des divergences spécifiques dans l'agencement du tissu osseux cortical ainsi que les paramètres qualitatifs et métriques des ostéons et canaux de Havers permettant de distinguer l'homme de l'animal (Hillier et Bell, 2007 ; Crescimanno et Stout, 2012 ; Dominguez et Crowder, 2012 ; Brits *et al.*, 2014) ou différentes espèces animales entre elles (Martiniaková *et al.*, 2006 et 2007 ; Cuijpers et Lauwerier, 2008 ; Zedda *et al.*, 2008). Néanmoins, l'histologie est une technique destructive, mal adaptée pour l'analyse de restes rares et fragiles. Par ailleurs, il est désormais connu que l'approche en deux dimensions de la microstructure corticale peut être biaisée et insuffisante (Cooper *et al.*, 2007a ; Hennig *et al.*, 2015 ; Pratt *et al.*, 2018). L'examen de l'organisation de l'os dans l'espace est donc à privilégier.

Les techniques d'imagerie à rayons X, en particulier la microtomographie ( $\mu$ CT), permettent la visualisation et la quantification directe et en volume des structures internes de l'os à l'échelle microscopique. Elles sont largement utilisées et développées dans le domaine médical. L'étude de l'os cortical participe à la compréhension et la prévention de phénomènes pathologiques tels que l'ostéoporose et le risque de fracture (Burr, 2010). L'analyse microscopique permet, par exemple, de mettre en évidence les zones de fragilité (Gauthier *et al.*, 2019), d'identifier les processus en jeu et de proposer un traitement adapté en retour. Dans le domaine de l'anthropologie, la  $\mu$ CT apporte de nouveaux éléments d'identification des caractéristiques biologiques individuelles pour

l'estimation de l'âge au décès (Streeter, 2011) ou l'identification de certaines pathologies osseuses (Villa *et al.*, 2019). De même, les résolutions de plus en plus précises permises par la  $\mu$ CT et le rayonnement synchrotron, associées à l'approche 3D, ouvrent de nouvelles perspectives de recherche et l'accès à de nouveaux paramètres du réseau canalaire cortical utiles à l'identification taxonomique.

L'os est un matériau dynamique, en constante adaptation face aux stimuli extérieurs et intérieurs : facteurs environnementaux, sociaux et culturels, conditions de vie et de nutrition. L'os cortical et son réseau canalaire représentent une localisation particulièrement complexe, régit par différents aspects de la vie de l'individu. L'organisation du tissu cortical est liée aux modes de croissance et aux constants remaniements provoqués par le processus de remodelage en réponse à des besoins d'adaptation fonctionnelle de l'os et du maintien des fonctions métaboliques au cours de la vie. Cette relation entre la structure de l'os cortical et ses fonctions au sein de l'organisme ainsi que la multiplicité des facteurs intervenant sur sa structure entraînent une variabilité des caractéristiques squelettiques des différents ossements du corps et régions osseuses d'un même ossement. C'est pourquoi, il est également crucial d'évaluer les variations existantes au sein d'une même espèce, à l'échelle du groupe et de l'individu, afin de déterminer les critères réellement discriminants pour la distinction taxonomique.

Dans cette perspective, notre recherche doctorale s'articule autour de trois objectifs :

- confirmer l'apport des techniques d'imagerie à rayons X, non destructives, et de l'analyse 3D pour l'observation et la quantification du réseau canalaire cortical.
- évaluer la variabilité osseuse corticale intra-spécifique, entre deux os longs (humérus et fémur) ainsi qu'entre différentes régions d'un même ossement, dans le but de déterminer l'impact de cette variabilité sur l'identification d'espèce.
- évaluer l'apport de l'analyse du réseau canalaire cortical pour la distinction de fragments de diaphyse osseuse d'origine humaine ou animale et entre différentes espèces animales et déterminer les paramètres les plus discriminants de ce réseau. Cette analyse sera conduite sur trois espèces : *Homo sapiens*, *Bos taurus* et *Sus scrofa*.

Ce manuscrit suit un cheminement classique. Il se compose d'une première partie de synthèse portant sur la structure, le développement et le remaniement de l'os cortical. Ce premier chapitre inclut également un bilan des techniques et des critères disponibles pour l'identification d'espèce à partir de restes osseux. Nous présenterons ensuite notre corpus d'étude et la méthodologie mise en place pour le traitement de nos images 3D du réseau canalaire cortical. Puis, nous présenterons les résultats obtenus, suivis de leur discussion, pour conclure sur l'intérêt de notre approche pour l'identification taxonomique et les perspectives de ce travail de recherche.

## ÉTAT DE L'ART

---

# 1. TISSU OSSEUX

---

## 1.1. L'os

### 1.1.1. Anatomie

Le corps des Vertébrés est composé de nombreux os, de formes et de tailles variées. On compte, par exemple, 206 ossements différents (en moyenne) dans le squelette humain. Ces os sont répartis en grandes catégories : les os courts (os du carpe), les os longs (fémur, humérus), les os plats (crâne) et les os irréguliers (coxa). L'ensemble de ces ossements se compose des deux mêmes structures de base : l'os trabéculaire (ou spongieux) et l'os cortical (ou compact) (White *et al.*, 2016).

L'os spongieux constitue la partie interne de l'os. Il est composé de travées osseuses appelées trabécules interconnectées, mesurant 200 µm d'épaisseur en moyenne. Ces travées entourent de larges porosités contenant la moelle osseuse. Son organisation confère à l'os spongieux un aspect poreux et léger. Il est le composant majoritaire des os plats et courts ainsi que des extrémités des os longs (épiphyes) et borde la cavité médullaire centrale (Figure 1). L'os cortical représente, quant à lui, la partie externe de l'os, plus dense et plus résistante. Son épaisseur varie en fonction des os et des régions osseuses. Elle est la plus importante au niveau des diaphyses des os longs et des os courts.

Par ailleurs, l'os est entouré de deux membranes. La première, localisée sur la surface externe, est appelée périoste. Elle se compose d'une couche externe de tissu conjonctif ainsi que d'une couche interne dite *ostéogénitrice* contenant des cellules-souches ostéogènes. La deuxième membrane, l'endoste, constitue une fine couche de tissu conjonctif recouvrant la surface interne de l'os.

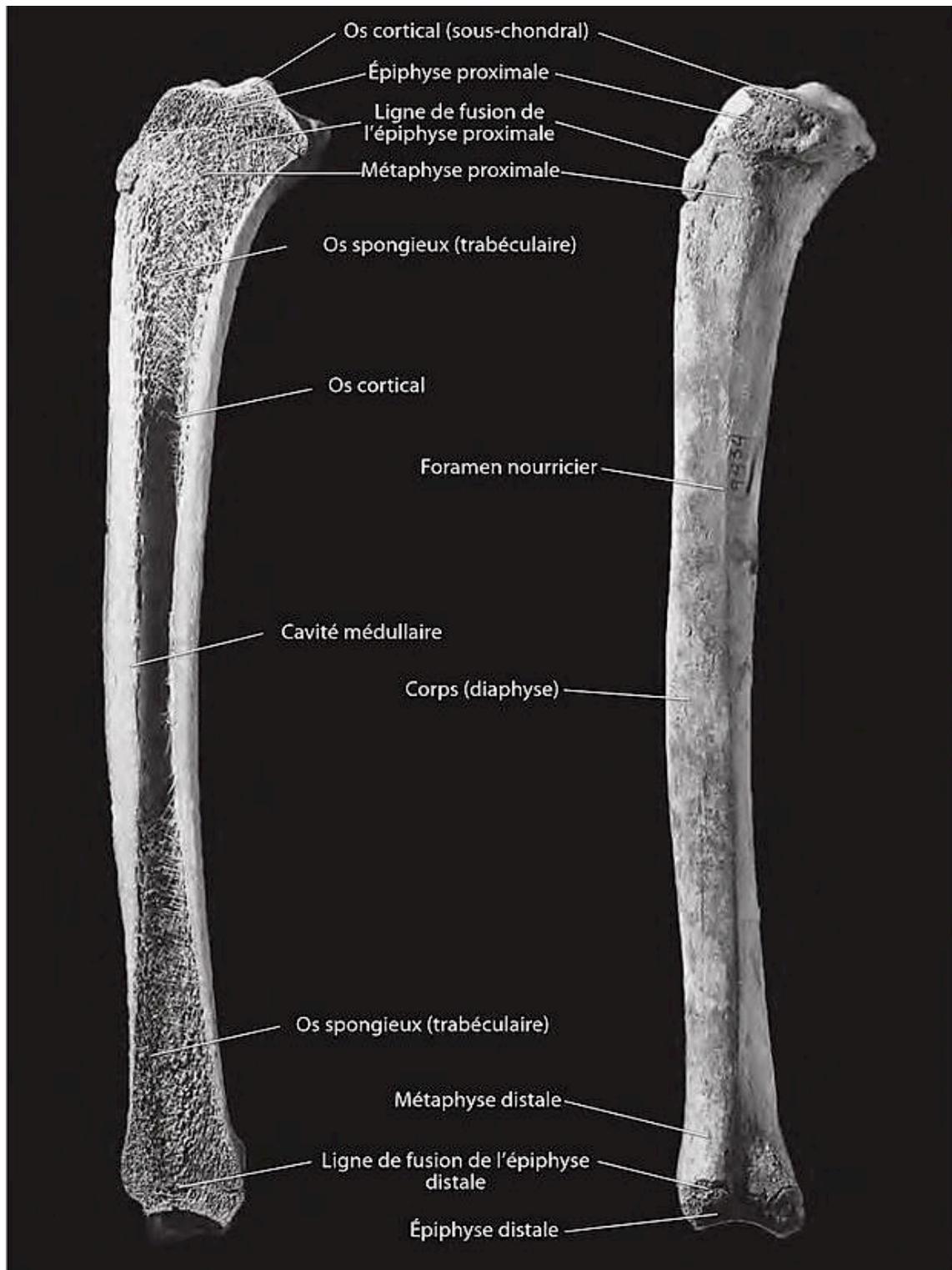


Figure 1 : Anatomie de l'os, coupe parasagittale d'un tibia gauche immature montrant les éléments importants de l'anatomie macroscopique d'un os long humain (tiré de White et al., 2016, p. 33).

### 1.1.2. Composition chimique

L'os est un tissu conjonctif comprenant une part minérale (65 %), une composante organique (25 %) et de l'eau (10 %) (Burr et Akkus, 2014). La partie organique correspond aux cellules osseuses (ostéoblastes, ostéoclastes, ostéocytes) et à la matrice extra-cellulaire de l'os, l'ostéoïde. Cette dernière se compose à 90 % de collagène. Il s'agit majoritairement de collagène de type I bien que l'on y retrouve également du collagène de type III et IV en faible quantité. Les 10 % restants correspondent à des protéines non-collagéniques qui forment un « gel » de protéoglycanes entourant les fibres de collagène. Cette substance fondamentale contient également des glycoprotéines telles que l'ostéocalcine qui contribuent à la minéralisation du tissu osseux et à la fixation du calcium. La portion minérale de l'os représente environ 65 % de la matrice osseuse et se compose en grande partie de cristaux d'hydroxyapatite ( $\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$ ) qui se fixent à l'ostéoïde. La matrice osseuse peut également contenir quelques éléments de magnésium, sodium ou potassium.

### 1.1.3. Cellules osseuses

Il existe trois grands types de cellules osseuses :

Les ostéoblastes (Figure 2a) sont les cellules ostéogéniques en charge de la formation osseuse. Elles sont issues de l'activation de précurseurs mésenchymateux aussi appelées cellules ostéogènes. Elles sécrètent la matrice osseuse protéique (ostéoïde) et gèrent la minéralisation du tissu osseux. Une fois leur tâche effectuée, une grande partie des ostéoblastes meurent d'apoptose. Cependant, certains d'entre eux entrent en quiescence pour devenir des cellules bordantes de l'os ou demeurent piégés au sein de la matrice osseuse sous forme d'ostéocytes (5-20 %, Bellido *et al.*, 2014).

Les ostéocytes (Figure 2b) sont répartis sur l'ensemble de la matrice osseuse et sont les cellules osseuses les plus nombreuses (90 %). Elles sont situées au sein de lacunes et comprennent des dendrites cytoplasmiques qui s'en éloignent par des canaliculii. De plus en plus de données tendent à montrer que les ostéocytes ont un rôle de régulation sur l'activité des ostéoblastes et ostéoclastes ainsi que sur la minéralisation osseuse (Bonewald et Johnson, 2008 ; Dong *et al.*, 2014). En effet, les ostéocytes jouent un rôle dans l'adaptation aux stress (Bonucci, 2009 ;

Bonewald, 2011) en détectant les micro-dommages de l'os ainsi que les modifications de contraintes mécaniques ou des changements hormonaux. Les ostéocytes transmettent ensuite un signal aux autres cellules osseuses (Bonewald et Johnson, 2008 ; Dong *et al.*, 2014) afin d'adapter leur activité de formation et de résorption selon les besoins.

Les ostéoclastes (Figure 2c) sont des cellules multinucléées et très mobiles provenant de cellules hématopoïétiques. Elles sont responsables de la résorption osseuse par hydrolyse enzymatique du collagène contenu dans l'ostéoïde et libération des sels minéraux de l'os. Ces cellules jouent un grand rôle dans le modelage osseux pendant la croissance, lors de la modification progressive de conformation des os. Elles participent également au remodelage osseux tout au long de la vie de l'individu (Steven et Lowe, 2006 ; Bellido *et al.*, 2014 ; Marieb et Hoehn, 2014).

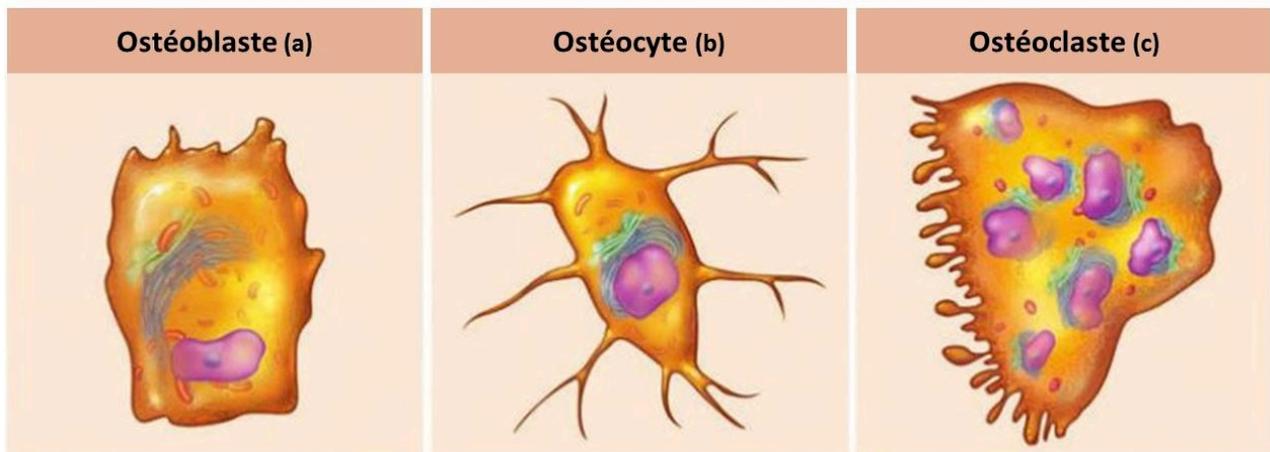


Figure 2 : Cellules osseuses (d'après Marieb et Hoehn, 2014).

#### **1.1.4. Fonctions**

L'os est un tissu multifonctionnel et intervient à plusieurs niveaux du fonctionnement de l'organisme.

Ses fonctions les plus évidentes sont celles de soutien mécanique et de protection. Les os représentent, en effet, la structure rigide du corps, lui permettant de supporter les charges mécaniques. L'os trabéculaire lui confère également une certaine souplesse grâce à une orientation privilégiée des trabécules permettant la diffusion des stress mécaniques. Par ailleurs, certains os entourent les organes vitaux dans le but de les préserver des chocs, ainsi la cage thoracique et le crâne servent à protéger les organes du thorax et l'encéphale (Marieb et Hoehn, 2014).

L'os possède, en outre, un important rôle d'hématopoïèse. Les cellules sanguines (globules rouges, globules blancs et plaquettes) sont produites dans la moelle rouge située dans le diploé des os plats et, de façon moins importante, au niveau des épiphyses des os longs. De plus, l'os a une fonction endocrinienne et sécrète des hormones, comme l'ostéocalcine participant notamment à la régulation de la formation osseuse ou le facteur 23 de croissance du fibroblaste, FGF 23 (Burr et Akkus, 2014).

Enfin, les os ont une fonction de stockage. Ils servent de réservoir aux minéraux tels que le calcium et le phosphore, certains facteurs de croissance ainsi que des triglycérides (moelle jaune de la cavité médullaire, Marieb et Hoehn, 2014).

## **1.2. OSSIFICATION**

La formation osseuse débute au cours du premier trimestre de gestation et se déroule selon deux types de développement : l'ossification intra-membraneuse et l'ossification enchondrale.

### **1.2.1. Ossification intra-membraneuse**

Les os plats tels que la scapula et une grande partie des os du crâne, sont issus de formation intra-membraneuse. Ce type d'ossification correspond au remplacement direct du mésenchyme par de l'os. Il débute avec la consolidation de cellules mésenchymateuses, appelées blastema, au sein du tissu conjonctif fibreux qui forme un centre d'ossification (Allen et Burr, 2014). Ces cellules du blastema se différencient alors en ostéoblastes afin de produire la matrice osseuse non-minéralisée, l'ostéoïde. Celle-ci est ensuite calcifiée. Au fur et à mesure de la production osseuse, les différents centres d'ossification fusionnent sous la forme de travées de tissu fibreux. En parallèle, sur la surface externe de l'os, le mésenchyme se condense et se différencie pour devenir le périoste. Les travées osseuses des couches externes deviennent alors plus compactes pour former l'os cortical tandis que les travées centrales restent en place et deviennent les trabécules de l'os spongieux. Des vaisseaux sanguins apparaissent dans les espaces inter-trabéculaires et les cellules mésenchymateuses restantes se différencient en moelle osseuse rouge. Dans certains cas, comme pour la mandibule, une cavité médullaire est formée au centre de l'os (Steven et Lowe, 2006 ; Marieb et Hoehn, 2014).

### **1.2.2. Ossification enchondrale**

L'ossification enchondrale concerne la plupart des os du corps humain et notamment les os longs. Cette ossification, passe par la différenciation des cellules mésenchymateuses en chondroblastes qui sécrètent un modèle de cartilage hyalin. Simultanément, une membrane vient recouvrir le modèle cartilagineux, il s'agit du périchondre. Le cartilage central se calcifie ensuite et se creuse de cavités. Une artère nourricière pénètre dans le cartilage et les vaisseaux sanguins commencent à se développer au sein du cartilage calcifié. Un centre d'ossification primaire se forme alors, à partir duquel le tissu cartilagineux est progressivement remplacé par du tissu osseux (Figure 3). Au centre du modèle cartilagineux, certaines cellules mésenchymateuses se différencient en cellules

hématopoïétiques de la moelle osseuse, tandis que d'autres deviennent des ostéoblastes et produisent les travées de l'os trabéculaire.

Dans le même temps, le périchondre se transforme en périoste suite à la différenciation des cellules ostéogénitrices en ostéoblastes qui lui confèrent un « potentiel ostéogène ». Il produit alors une fine couche osseuse autour de la diaphyse, le « *collet osseux* » (Tortora et Derrickson, 2017).

Au cours de la croissance longitudinale de l'os, les ostéoclastes entrent en action pour détruire les trabécules centrales. La cavité médullaire est ainsi formée et la paroi osseuse est remplacée par de l'os cortical.

Parallèlement, apparaissent des centres d'ossification secondaires, lorsque les vaisseaux sanguins atteignent les épiphyses. Ces centres secondaires s'ossifient sur le même principe que le centre d'ossification primaire mais sans formation de cavité médullaire et en conservant l'os spongieux. Il ne reste alors qu'une fine couche de cartilage séparant la diaphyse et les épiphyses, la *plaque épiphysaire* (Tortora et Derrickson, 2017). Au cours de la croissance de l'individu, ce cartilage est progressivement remplacé par du tissu osseux afin de permettre la croissance en longueur de l'os (Steven et Lowe, 2006 ; Allen et Burr, 2014 ; Marieb et Hoehn, 2014).

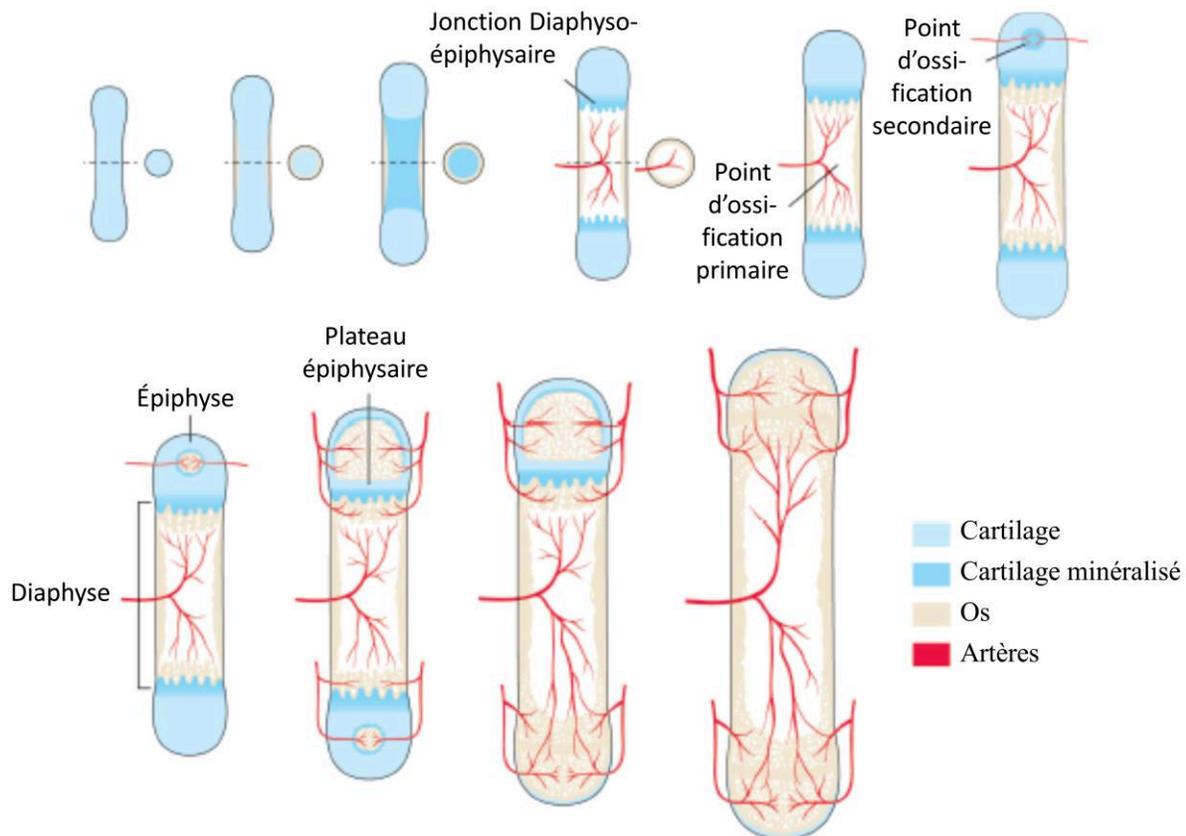


Figure 3 : Étapes de la croissance enchondrale (d'après Allen et Burr, 2014).

### 1.2.3. Modelage

Le modelage osseux vise à modifier la conformation et la courbure des os tout au long du développement de l'individu. Il a un rôle essentiel pour le maintien de la forme de l'os au cours de la croissance (Allen et Burr, 2014). Lors de la croissance des os longs notamment, le modelage agit en associant formation et résorption osseuse. Au niveau des métaphyses, il provoque un affinement de l'épaisseur de l'os grâce à l'action des ostéoclastes du côté du périoste et la production des ostéoblastes du côté de l'endoste. L'inverse se produit en parallèle, afin d'assurer la croissance en épaisseur de l'os dans la région de la diaphyse. Cette fois, de nouvelles lamelles osseuses sont déposées sur la surface externe de l'os et l'ostéolyse a lieu au niveau de la surface interne (Martin *et al.*, 2015).

### 1.2.4. Remodelage

Le remodelage se différencie du modelage par l'action associée des ostéoblastes et ostéoclastes. Lors du remodelage osseux les cellules agissent de manière conjointe au sein d'un groupe de cellules composé d'une dizaine d'ostéoblastes et de plusieurs centaines d'ostéoclastes. C'est ce que l'on appelle la *BMU (Basic Multicellular Unit)*, décrite et nommée par Frost en 1969, ou UFR (unité de formation de remodelage). En outre, contrairement au modelage, le processus de remodelage intervient tout au long de la vie de l'individu et ne modifie pas la taille ni la forme des os mais remanie plutôt leur organisation interne.

Le rôle de ce processus est d'assurer la conservation des structures existantes par la destruction d'anciennes structures et la production de nouvelles. Il assure le maintien de la résistance mécanique de l'os, en évitant notamment les accumulations de microtraumatismes, ainsi que l'homéostasie du calcium et du phosphore (Burr, 2002 ; Clarke, 2008).

Le remodelage n'est cependant pas un phénomène continu, il se produit de manière stochastique ou peut être activé lors d'événements ponctuels locaux, afin de permettre à l'os de s'adapter. Il est notamment sensible au changement du taux de calcium et de phosphore dans le sang (Raisz, 1999). En outre, d'autres facteurs, tels que certaines hormones, régulent l'activité du remodelage. Les hormones liées à la régulation du calcium agissent, par exemple, sur l'action des ostéoblastes et ostéoclastes (Carter and Schipani, 2006). La calcitonine, notamment, diminue la résorption osseuse. Au contraire, les hormones thyroïdiennes augmentent cette résorption (Kini et Nandeesh, 2012). Les œstrogènes sont également connus pour favoriser la formation de l'os et réduire sa résorption. C'est pourquoi une fois la ménopause atteinte, l'arrêt de production d'œstrogène se traduit par une augmentation de l'activité des ostéoclastes et une diminution de la masse osseuse (Parfitt, 1996).

Le cycle de remodelage se divise en 5 étapes (Figure 4). La première étape correspond à l'activation du complexe multicellulaire (BMU). Elle peut survenir suite à un événement particulier dans la vie de l'individu, majoritairement en réparation de la matrice osseuse lors de micro-dommages osseux. Cette étape correspond à l'activation des pré-ostéoclastes qui se transforment alors en ostéoclastes matures (1) et résorbent le tissu existant (2). Vient ensuite l'étape de réversion du

complexe (3) au cours de laquelle la résorption osseuse prend fin et la formation osseuse est activée. Les ostéoblastes apposent alors de la matrice osseuse (4) qui sera ensuite minéralisée. Enfin, le complexe cellulaire entre en quiescence (5). Un cycle de remodelage dure environ 4 à 6 mois, suivis par plusieurs mois de minéralisation de l'os (Allen and Burr, 2014), et le taux de remodelage cortical est estimé à 2-3 % du volume squelettique par an chez l'Homme (Clarke, 2008).

Par ailleurs, le niveau de remodelage varie en fonction de l'espèce. Ce renouvellement est régulier pour certaines espèces telles que l'Homme (on compte environ 10 ans pour renouveler l'ensemble du volume squelettique), les porcins, ovins, canidés ou félins tandis que pour les bovins et les équidés la proportion d'os remodelé est beaucoup moins importante et se fait de façon irrégulière (Gourrier et Reiche, 2015).

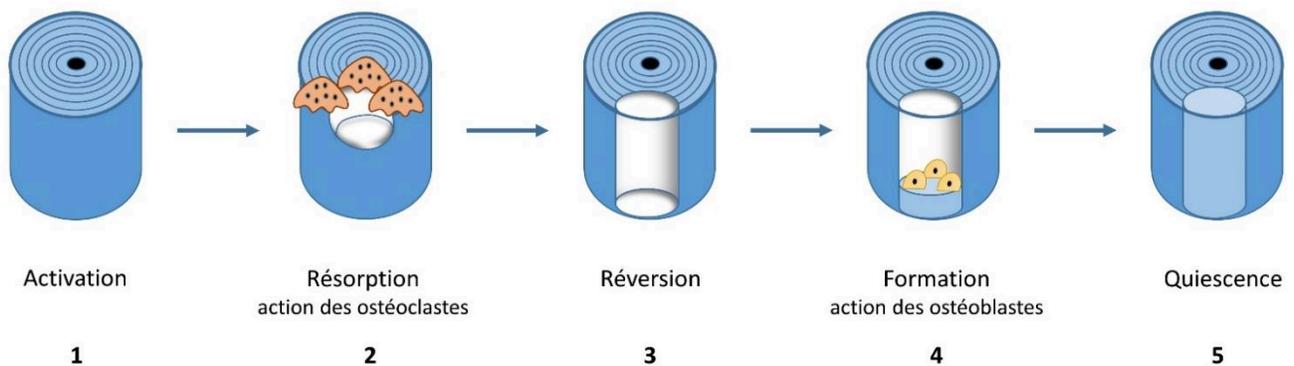


Figure 4 : Cycle de remodelage, 5 étapes d'action de la BMU.

## 1.3. MICROSTRUCTURE OSSEUSE CORTICALE

À l'échelle microscopique, l'os cortical peut se présenter sous des formes variées, en fonction de son stade de croissance, son mode de dépôt ou encore de l'espèce étudiée. Nous avons choisi ici de présenter les principaux types d'os selon la division entre os primaire et os secondaire fréquemment utilisée dans les manuels et la littérature. Nous reviendrons ensuite sur la notion de classification des différents types de tissu osseux.

### 1.3.1. Os primaire

L'os primaire se définit comme un os produit *de novo*, là où aucun os n'est présent auparavant. Plusieurs types d'os primaire existent, qui se différencient notamment par leur vitesse de dépôt. Celle-ci influence l'organisation générale de la trame osseuse et la densité du réseau vasculaire (Amprino, 1947 ; Francillon-vieillot *et al.*, 1990).

#### 1.3.1.1. L'os tissé ou fibreux

L'os immature ou « os tissé », encore appelé os à fibres enchevêtrées par Armand de Ricqlès (1975), est le premier type d'os produit. Il s'agit d'un tissu temporaire, déposé et minéralisé très rapidement. Les fibres de collagène sont déposées en tous sens et s'entrecroisent, ce qui explique son apparence désorganisée (Figure 5). Il est fragile mécaniquement et apparaît en premier lieu chez le fœtus pour être ensuite remplacé par du tissu lamellaire, plus résistant. Il se retrouve dans les zones de croissance rapide lors du développement osseux (*i.e.* plateau épiphysaire des os longs, Burr et Akkus, 2014).

Chez l'adulte, il s'agit d'un tissu de réparation formé en cas de fracture ou sous l'action de contraintes mécaniques intenses nécessitant une adaptation rapide de l'os (Stevens et Lowe, 2006 ; Martin *et al.*, 2015).

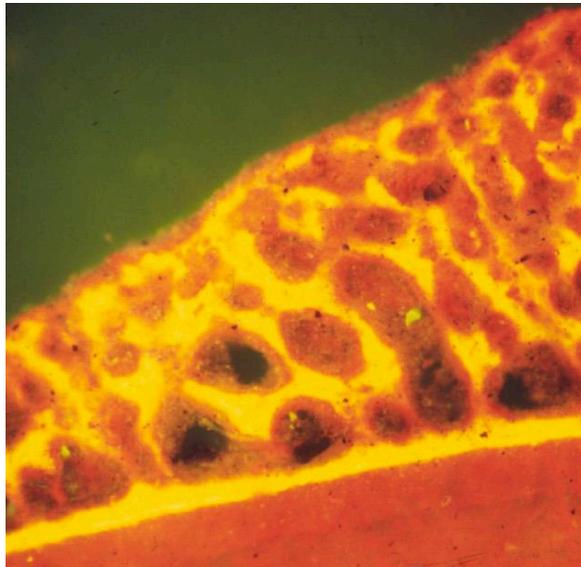


Figure 5 : Os tissé (d'après Burr et Akkus, 2014).

#### 1.3.1.2. L'os primaire lamellaire

Contrairement à l'os fibreux, l'os lamellaire se forme lentement, environ 1  $\mu\text{m}$  par jour (Mulhern et Ubelaker, 2011), et de façon très organisée. Il apparaît sous la forme de couches osseuses parallèles d'environ 3 à 7  $\mu\text{m}$  d'épaisseur (Martin *et al.*, 2015, Figure 6). Ces lamelles successives se composent de fibres de collagène compactes, orientées parallèlement les unes aux autres et dont l'orientation est alternée d'une lamelle à l'autre (Weiner *et al.*, 1999).

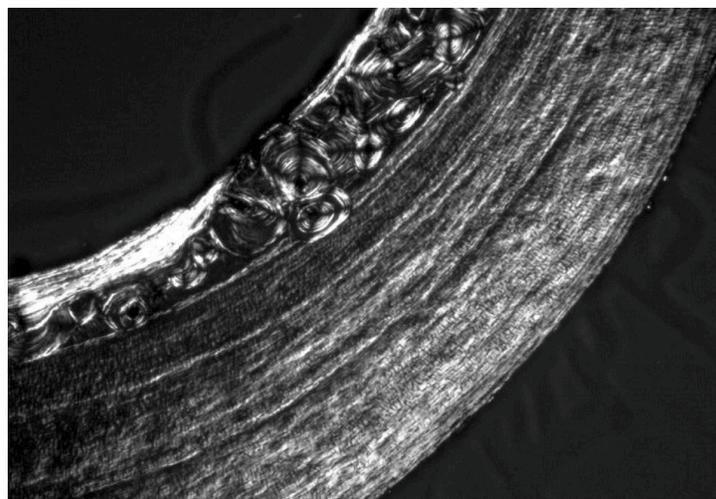


Figure 6 : Os lamellaire (d'après Burr et Akkus, 2014).

Cet os se situe au niveau des surfaces périostées et endostéales de l'os cortical. Il y forme une structure compacte ne comprenant que peu de vaisseaux (Burr et Akkus, 2014). Par ailleurs, on le retrouve également sous forme de lamelles concentriques autour des canaux vasculaires longitudinaux de l'os cortical. En effet, des lamelles osseuses ferment progressivement l'espace autour des vaisseaux primaires jusqu'à ne laisser qu'un fin canal vasculaire. L'ensemble forme un ostéon primaire, mesurant jusqu'à 50 à 100 µm de diamètre (Burr et Akkus, 2014). Ces ostéons se distinguent des canaux primaires simples inclus dans l'os primaire sans arrangement particulier de la matrice osseuse les entourant (Enlow et Brown, 1958).

#### 1.3.1.3. Os plexiforme

L'os plexiforme est un tissu fibrolamellaire correspondant à une combinaison de tissus fibreux et lamellaire. Sa formation commence par la production rapide de travées d' « os tissé » qui créent des « ponts » formant une base. De l'os lamellaire est ensuite déposé plus lentement sur cette base et vient combler l'espace entre les travées. Le nom de cet os vient du réseau de plexus vasculaire interconnecté qui le compose. Il forme des espaces vasculaires rectilignes donnant à l'os une apparence de briques d'os empilées (Martin *et al.*, 2015, Figure 7).

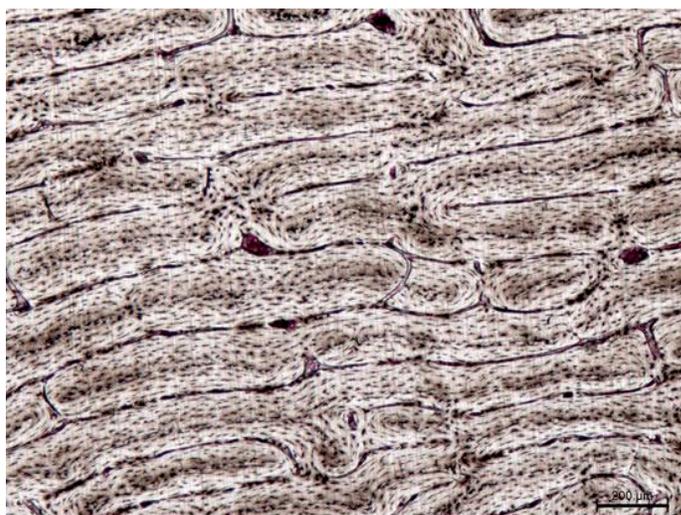


Figure 7 : Os plexiforme chez la vache (d'après Martin *et al.*, 2015).

### 1.3.2. Os secondaire

L'os secondaire est formé par la résorption de l'os primaire et la réapposition d'os par le processus de remodelage. Il est produit en continu tout au long de la vie et également lors de processus de réparation. Cet os correspond à l'organisation corticale classiquement décrite dans les manuels d'anatomie. L'os primaire est remplacé par des structures cylindriques : les ostéons secondaires, ou système de Havers (Figure 8). Un ostéon secondaire est formé d'un canal central longitudinal (Canal de Havers), servant au passage des nerfs et des vaisseaux sanguins irriguant l'os, autour duquel sont déposées des lamelles osseuses concentriques. Entre chaque lamelle sont situées des lacunes ostéocytaires, reliées par des canalicules qui permettent la liaison entre les lamelles et la circulation centrale du canal de Havers. Les ostéons secondaires se distinguent des ostéons primaires par la présence d'une ligne de résorption en bordure externe de l'ostéon qui le sépare de la matrice interstitielle : il s'agit de la ligne cémentaire (ou ligne de réversion, Figure 8). Cette ligne correspond à la phase d'inversion résorption-formation de l'os. Les ostéons secondaires sont également plus larges (100 à 250  $\mu\text{m}$  de diamètre, Burr et Akkus, 2014) car ils comprennent un nombre plus important de lamelles. Les canaux de Havers sont reliés entre eux horizontalement par les canaux de Volkmann. Ceux-ci assurent la circulation sanguine et nerveuse au sein de l'os cortical, du périoste jusqu'à la cavité médullaire. En outre, d'autres types de lamelles osseuses sont présents au sein de l'os cortical : les lamelles interstitielles, situées entre les ostéons, représentant des restes d'anciens ostéons (primaires ou secondaires) et les lamelles circonférentielles internes et externes déposées au niveau de l'endoste et du périoste (Figure 8).

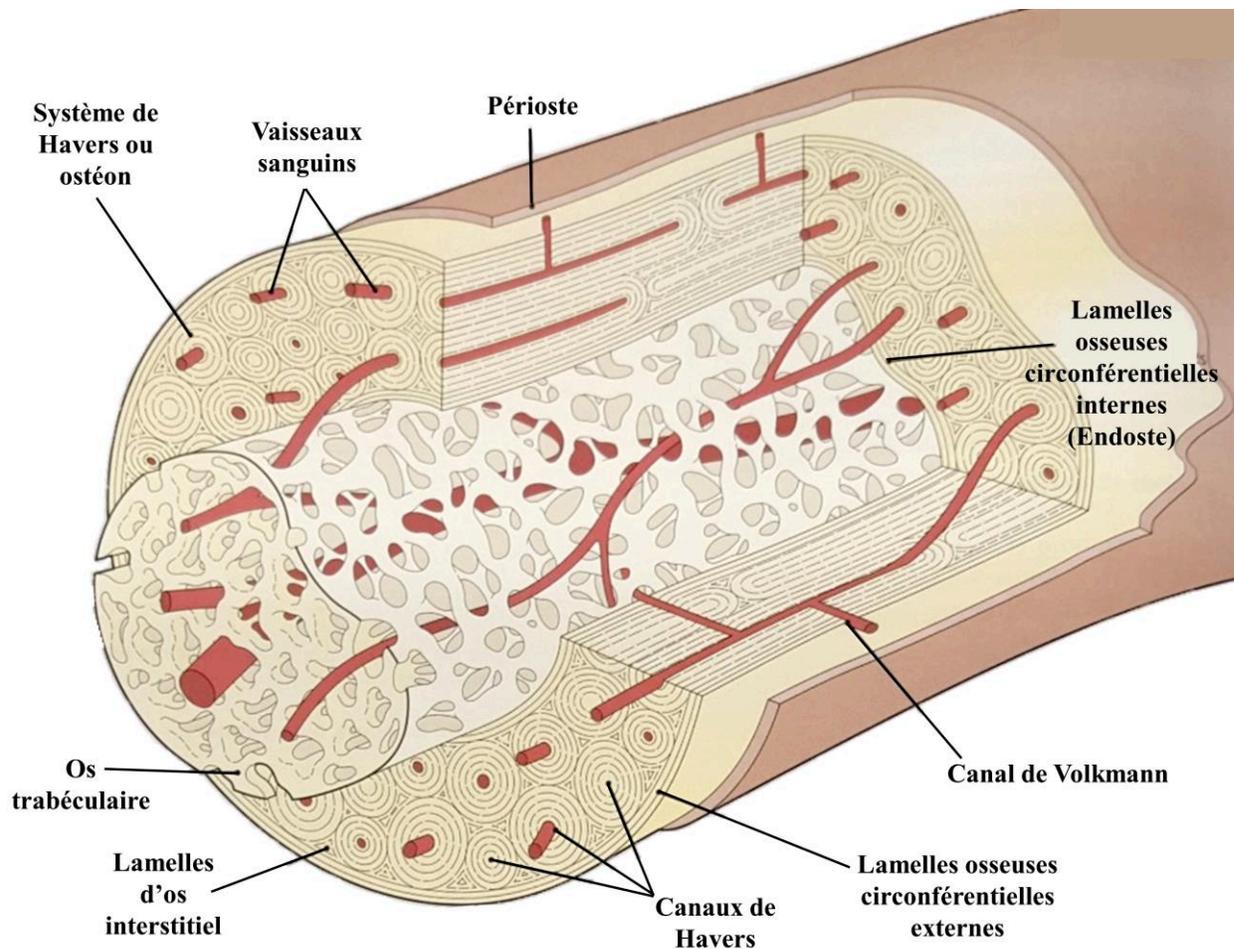


Figure 8 : Schéma de l'organisation microstructurale de l'os cortical secondaire (d'après Stevens et Lowe, 2006).

Plusieurs types d'ostéons secondaires ont été identifiés :

Les ostéons de type I représentent les ostéons secondaires communs (Robling et Stout, 1999 et 2007, Figure 9). Formés par la BMU de façon classique lors du remodelage osseux, ils sont composés de lamelles concentriques non interrompues entourant un canal central (Cohen et Harris, 1958).

Les ostéons de type II sont souvent plus petits que les ostéons de type I. Ils se caractérisent par la présence de deux lignes cémentaires distinctes (Robling et Stout, 1999, Figure 9). Ils apparaissent au moment de la formation d'un nouvel ostéon au sein d'un système de Havers déjà présent (Ortner, 1975 ; Cohen et Harris, 1958).

Les ostéons à double zone possèdent le même processus de formation que les ostéons de type I mais se caractérisent par un arrêt de la production de la matrice osseuse par la BMU au cours de l'étape de formation. Cet arrêt se traduit par un cercle hypercalcifié visible au sein des lamelles de l'ostéon (Robling et Stout, 1999 et 2007 ; Figure 9).

Les ostéons dérivants (*drifting osteons*) ont été décrits par Frost (1964) comme résultant d'un remodelage particulier pour lequel il y a toujours simultanément une résorption d'un côté et une formation de l'autre, en même temps que la BMU continue d'avancer. Cela a pour effet de faire « dériver » l'ostéon ainsi formé au sein du tissu osseux (Currey, 2002 ; Robling et Stout, 1999).

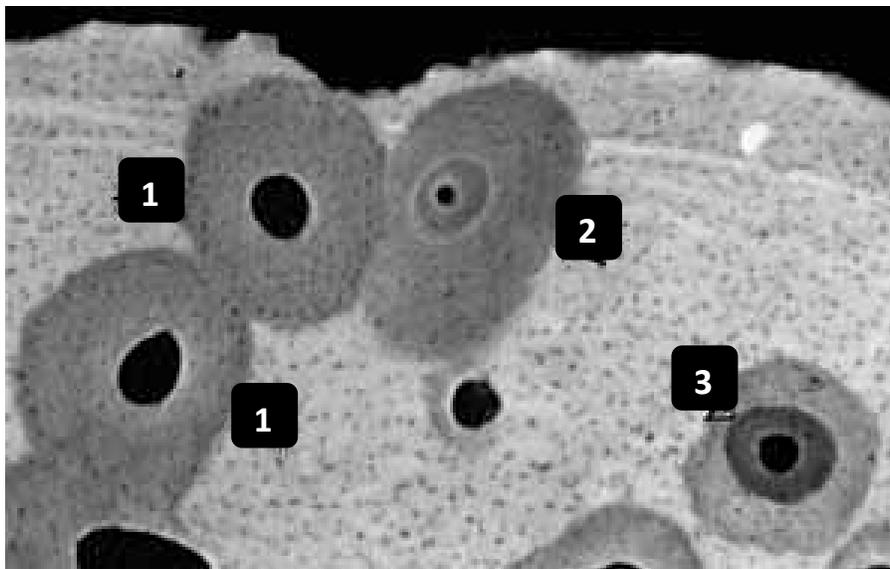


Figure 9 : Illustration des différents types d'ostéons secondaires : 1) ostéon de type I, 2) ostéon à double zone, 3) ostéon de type II (d'après Robling et Stout, 1999).

### 1.3.3. Classifications des différents tissus osseux

Les publications relatives aux classifications des différents types de tissu osseux débutent à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle et se placent dans la lignée des travaux d'anatomie comparée et de paléontologie contemporains de cette époque (Cuvier *et al.*, 1817 et 1835 ; Quekett, 1849). Le but des premiers travaux sur le sujet est de comparer des traits morphologiques afin de distinguer des taxons (de Ricqlès 1975, 2007 et 2011). Cette approche revient plutôt à créer une liste de critères morphologiques (Foote, 1916 ; Matyas, 1929 ; Gross, 1934 ; Enlow et Brow, 1956-1958) sans interprétation des différences observées. C'est ce qu'Armand de Ricqlès appelle la classification

« typologique » (de Ricqlès, 1975). Cependant, l'utilisation des variations de tissus osseux seules pour définir des liens ou divergences phylogénétiques apparaît insuffisante. Cela pousse certains auteurs comme Ampiro (1947) ou Enlow (1963 et 1966) à changer d'approche. Ces travaux marquent un changement dans l'approche de la diversité des tissus osseux (de Ricqlès, 2007). Désormais, le but n'est plus seulement de déterminer des liens phylogéniques mais de comprendre les facteurs fonctionnels locaux responsables des variations observées. Enlow insiste notamment sur l'importance des facteurs ontogéniques, déterminants la croissance générale et locale, ainsi que le modelage de la forme de l'os (Enlow, 1966). Cette approche ajoute à la description simple, une dimension interprétative et sera adoptée par plusieurs chercheurs dans la seconde moitié du 20<sup>ème</sup> siècle (de Ricqlès, 1976-1977 ; Reid, 1996). L'objectif est de prendre en compte les modalités de variation du développement et de l'organisation osseuse, dépendantes du mode de croissance, de la région observée ou encore des contraintes biomécaniques. Selon cette nouvelle approche, pour décrire et interpréter l'os il faut prendre en compte la dimension spatiale et temporelle des variations. Cela donne lieu, cette fois, à l'élaboration de classifications « fonctionnelles » du tissu osseux, tenant compte de trois aspects principaux du développement osseux : les aspects anatomique, ontogénique et physiologique (Enlow 1966 ; de Ricqlès, 1968-1981 ; Francillon-Vieillot *et al.*, 1990). Ces différentes classifications reposent sur trois critères principaux : l'organisation de la matrice osseuse extracellulaire, la vascularisation du tissu osseux et les modalités de formation osseuse (de Ricqlès, 1975 ; Francillon-Vieillot *et al.*, 1990).

#### 1.3.3.1. Matrice extra-cellulaire

Les études de la matrice extra-cellulaire s'intéressent en particulier à l'organisation des fibres de collagène. On distingue « l'os fibreux », composé de fibres dont l'orientation est irrégulière (Enlow, 1966 ; Smith, 1960 ; de Ricqlès 1975 ; Francillon-Vieillot *et al.*, 1990), de « l'os lamellaire », composé de fibres réunies en faisceaux ordonnés et dont l'orientation alterne d'une lamelle à l'autre (de Ricqlès, 1975 ; Francillon-Vieillot *et al.*, 1990 ; Currey, 1960), et « l'os à fibre parallèle » (pseudo-lamellaire pour Enlow, 1966), comprenant des faisceaux de fibres plus ou moins épais orientés longitudinalement ou circulairement (de Ricqlès 1975 ; Francillon-Vieillot *et al.*, 1990).

### 1.3.3.2. Vascularisation corticale

Un des éléments essentiels de la distinction des différents tissus osseux est leur organisation vasculaire. Celle-ci varie en fonction du type de canaux présents, de leur orientation et de leur répartition (Currey, 1960 ; Amprino et Godina, 1947 ; Gross, 1934). Les travaux de Foote ainsi que ceux d'Enlow et Brown s'intéressent particulièrement à la vascularisation (Foote, 1911, 1916 et 1921 ; Enlow et Brown, 1956-1958). Ces auteurs répartissent les tissus en trois groupes : l'os lamellaire, l'os laminaire et l'os haversien pour Foote ou, le tissu haversien, le tissu primaire avasculaire et le tissu primaire vasculaire pour Enlow et Brown. Ces derniers subdivisent, en outre, ces trois catégories selon l'orientation des canaux vasculaires et leur nombre. Ces études ont, par la suite, servi de base aux travaux de Ricqlès (1975) ou Francillon-Vieillot et collaborateurs (1990) en particulier ceux de Enlow et Brown qu'ils synthétisent et reprennent pour leur propre classification (Tableau 1), avec l'ajout de certains critères comme la distinction entre une orientation unique ou multiple des canaux (Figure 10).

*Tableau 1 : Classification des types de vascularisations osseuses.*

*(D'après de Ricqlès, 1975 et Francillon-Vieillot et al., 1990)*

---

#### I. Tissus osseux avasculaires

#### II. Tissus osseux vasculaires à canaux primaires et orientation unique

1. *Canaux longitudinaux*
  - a. *Orientation oblique*
  - b. *Orientation circulaire*
  - c. *Orientation radiaire*
2. *Canaux circulaires*
3. *Canaux radiaires*
4. *Canaux obliques*

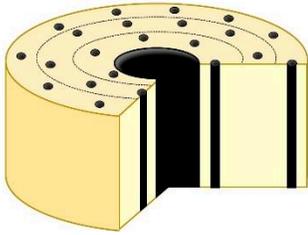
#### III. Tissus osseux vasculaires à canaux primaires et orientations multiples

1. *Tissu osseux laminaire*
2. *Tissu osseux plexiforme*
3. *Tissu osseux réticulaire*

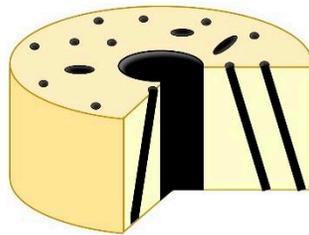
#### IV. Tissus osseux vasculaires à canaux secondaires (ostéons secondaires)

---

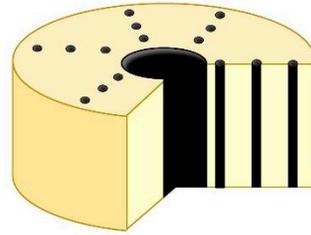
### Canaux unidirectionnels



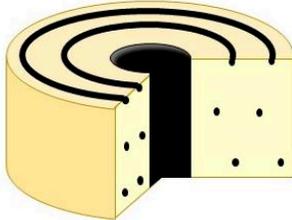
Canaux longitudinaux  
organisation circulaire



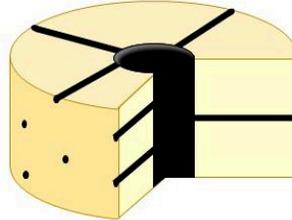
Canaux longitudinaux  
obliques



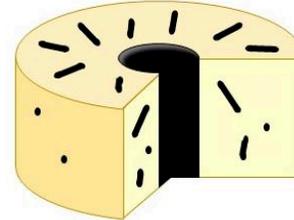
Canaux longitudinaux  
organisation radiale



Canaux circulaires



Canaux radiaux

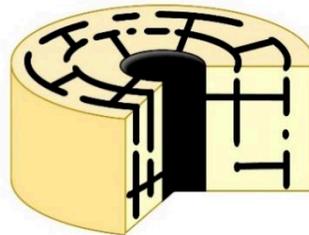


Canaux obliques

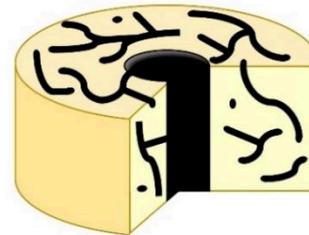
### Canaux multidirectionnels



Os laminaire



Os plexiforme



Os réticulaire

*Figure 10 : Différents types de répartition des canaux vasculaires de l'os cortical.*

Cette classification est encore utilisée de nos jours pour caractériser les différents types de tissus osseux. Elle divise les tissus corticaux en quatre groupes. La première catégorie concerne les tissus avasculaires qui ne contiennent aucune vascularisation comme l'indique son nom. La deuxième catégorie rassemble les tissus osseux primaires dont les canaux ne présentent qu'une seule orientation (Figure 10) et la troisième catégorie, les tissus vasculaires primaires, plus complexes dont les canaux présentent de multiples orientations (Figure 10). Ce groupe comprend l'os laminaire composé de canaux circonférentiels et longitudinaux interconnectés, le tissu plexiforme présentant une organisation similaire avec l'ajout de canaux radiaux et l'os réticulaire présentant

un réseau vasculaire irrégulier et anarchique. Pour finir, la quatrième catégorie de tissu osseux correspond à une vascularisation secondaire.

#### 1.3.3.3. Mode de développement

D'autres auteurs se sont plutôt intéressés à distinguer les tissus osseux selon leur mode de développement. Ils prennent en compte, par exemple, l'origine des cellules ou de la substance extracellulaire qui différencie un os néoplasique, formé *de novo*, d'un os métaplasique, issu de la transformation et le remaniement de structures préexistantes (Pritchard, 1956). Certains se réfèrent également au mode de formation du tissu osseux, le divisant entre os primaire et os secondaire (Gross, 1934 ; Amprino et Godina, 1947 ; Smith, 1960) ou encore au mode de dépôt, centripète ou centrifuge, des nouvelles lamelles osseuses (Gross, 1934 ; Smith, 1960 ; de Ricqlès, 1975).

Malgré l'intérêt de chacun de ces critères, il est désormais admis qu'il est préférable d'utiliser une combinaison de ces paramètres en raison de l'importance des variations et des catégories intermédiaires existant pour un seul critère. De Ricqlès (1975) propose, par exemple, de classer les tissus osseux en grands groupes selon leur mode de formation (primaire ou secondaire) et la substance osseuse qui les compose (fibreuse ou lamellaire, d'origine interne ou périostique). Ces groupes sont ensuite divisés en fonction de leurs modes de vascularisation. Le choix des paramètres de classification est également dépendant des outils d'observation utilisés.

## 2. REVUE DES MÉTHODES DE DISTINCTION HOMME/ANIMAL

---

### 2.1. OBSERVATION MACROSCOPIQUE

L'identification d'espèce à partir de restes osseux se fait traditionnellement à partir de l'observation macroscopique. Les atlas et manuels d'ostéologie comparative (Barone, 1986 ; Gilbert, 1980 ; Pales, 1971 et 1981 ; Adams et Crabtree, 2008 ; France, 2008) recensent les différences morphologiques, reconnaissables à l'œil nu, permettant de distinguer l'espèce d'origine des éléments osseux. Les variations les plus évidentes concernent les différences de taille et de forme observées pour un même ossement chez différentes espèces. Par ailleurs, les os longs, lorsqu'ils sont intacts, sont particulièrement discriminants car ils possèdent un certain nombre d'éléments anatomiques permettant leur identification. À propos de la tête fémorale, par exemple, l'emplacement des insertions musculaires ou l'angle de la tête par rapport à la diaphyse varient selon l'espèce (Figure 11). De manière générale, on note des insertions musculaires souvent plus marquées chez l'animal ainsi que des corticales plus épaisses chez les grands mammifères tels que l'ours ou le bœuf. L'aspect et le diamètre des cavités médullaires permettent également la distinction entre espèces (Quatrehomme *et al.*, 2015). De même, l'os spongieux a tendance à être plus dense chez certains animaux tels que le porc, le mouton ou le chien ainsi que chez les grands quadrupèdes comme le bœuf ou le cheval en comparaison avec l'os humain (Méniel, 2009 ; Franklin et Marks, 2012). L'aspect de la corticale apparaît, en outre, majoritairement plus lisse chez l'animal (Méniel, 2009 ; Quatrehomme *et al.*, 2015).



*Figure 11 : Comparaison entre des fémurs de bœuf, d'humain et de porc (d'après France, 2008).*

Il faut toutefois noter que certains éléments, même entiers, peuvent particulièrement porter à confusion. Un exemple connu est celui des ossements de phalanges, métatarse et métacarpe d'ours dont la morphologie se rapproche assez fortement des mêmes éléments chez l'Homme (Stewart, 1959 ; Owsley et Mann, 1990 ; Hiller et Bell, 2007 ; Pickering et Bachman, 2009).

L'approche macro-morphologique de la distinction entre espèces (ou distinction homme-animal) présente donc ses limites car elle nécessite des ossements relativement bien conservés pour rester applicable et fiable. Elle perd son intérêt pour des petits fragments osseux ne pouvant pas être identifiés à l'œil nu ou dans le cas d'ossements trop dégradés. Il est alors nécessaire de recourir à d'autres types de méthodes, plus précises (Franklin et Marks, 2012 ; Dupras *et al.*, 2016).

## 2.2. MÉTHODES BIOMOLÉCULAIRES

### 2.2.1. ADN

L'ADN (acide désoxyribonucléique) est un très bon outil d'identification grâce à la présence au sein du génome de séquences spécifiques à chaque espèce. Ce type d'analyse nécessite l'extraction d'ADN de l'échantillon à tester, son amplification par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) et le séquençage des résultats de l'amplification. Le plus fréquemment, l'amplification se fait à partir de régions discriminantes à l'aide d'amorces (petites séquences d'ADN ou d'ARN) universelles (Lopez-Oceja *et al.*, 2016). Il est possible également d'utiliser des amorces spécifiques à une espèce donnée se fixant sur une région variable existant uniquement chez l'espèce choisie (Tobe et Linacre, 2010)

La région des STRs (*Short Tandem Repeats*) de l'ADN nucléaire fait partie des régions discriminantes du génome. Les STRs correspondent à la répétition d'une séquence de multiples fois au sein de l'ADN nucléaire mesurant entre 2 et 7 paires de bases (pb). Aussi appelés microsatellites, ils sont très variables d'un individu à un autre (Butler, 2012) et sont particulièrement utilisés pour identifier le caractère humain d'un échantillon (Matsuda, 2005). Toutefois, l'utilisation de l'ADN nucléaire est limitée en raison de sa grande fragilité.

L'ADN mitochondrial (ADNmt) apparaît plus adapté à l'étude d'échantillons anciens ou dégradés (Bataille *et al.*, 1999 ; Matsuda, 2005) grâce aux plusieurs centaines de copies présentes au sein de la cellule (Butler, 2012 ; Linacre et Tobe, 2013) et de son taux de dégradation moins important (Franklin et Marks, 2012). Chez l'Homme, le génome mitochondrial mesure 16569 bp (Butler, 2012) et varie entre 15000 et 20000 pb chez l'animal. Au sein de ce génome, plusieurs loci s'avèrent intéressants pour l'identification d'espèces. Bellis *et al.*, (2003) ont notamment pu identifier 10 espèces différentes de mammifères, dont l'Homme, grâce à ces loci de l'ADNmt. Il s'agit de régions non codantes ou moins importantes pour le bon fonctionnement de la mitochondrie qui présentent une variabilité inter-spécifique suffisamment prononcée pour être détectée mais une variabilité intra-spécifique inexistante ou négligeable (Linacre et Tobe, 2013). Parmi elles, la région D-Loop, aussi appelée région de contrôle de répllication de la mitochondrie, a été décrite par Bataille *et al.*, en 1999 et comporte des zones de variation entre individus, en

particulier les régions hypervariables HV1 et HV2. La région du gène du Cytochrome B est également un bon marqueur de polymorphisme (Butler, 2012 ; Črček et Drobnič, 2011). De même, le gène codant pour le cytochrome c oxydase 1 (CO1), protéine de la paroi intérieure de la mitochondrie, apparaît prometteur en matière d'analyse de polymorphisme inter-espèces (Butler, 2012 ; Linacre et Tobe, 2013). En effet, Herbert *et al.* (2003) ont proposé l'utilisation des 658 premières paires de bases du gène codant cette sous-unité comme région d'identification universelle. Cette nouvelle approche est appelée Barcoding et fait actuellement l'objet d'un effort de recherche international : *Barcode of life Database* (BOLD, Hebert *et al.*, 2003 ; Ratnasingham et Hebert, 2007 ; Verzeletti *et al.*, 2015 ; Cai *et al.*, 2015).

Enfin, des zones de polymorphisme existent au niveau des régions codantes de l'ARN (acide ribonucléique) ribosomique des gènes 12S et 28S (Naito, 1992 ; Bellis *et al.*, 2003 ; Melton et Holland, 2007).

Si l'analyse génétique a prouvé son efficacité, elle présente aussi des inconvénients. Il s'agit d'une technique destructive pouvant s'avérer chronophage, selon les méthodes d'amplification et de séquençage utilisées, et nécessite des équipements coûteux (Črček et Drobnič, 2011). En outre, la molécule d'ADN est soumise à des contraintes de traitement dues à des contaminations possibles (Francklin and Marks, 2012) et peut présenter des problèmes de conservation dans le cas de restes anciens ou trop dégradés (Cattaneo 1999, Francklin and Marks, 2012).

## 2.2.2. Immunologie

Les analyses immunologiques se basent sur la reconnaissance de protéines spécifiques, humaines ou animales. Dès 1980, Lowenstein note que certaines protéines telles que l'albumine et le collagène, présentes chez toutes les espèces animales, se conservent au cours du temps et s'avèrent ainsi intéressantes pour l'identification de restes anciens. Il présente dans son étude un test radioimmunologique en phase solide (*pRIA*) lui permettant d'obtenir des informations sur l'espèce d'origine d'un fragment vieux de 1,9 millions d'années (Lowenstein, 1980). La technique qu'il met en place consiste à exposer de l'albumine ou du collagène provenant du spécimen à un sérum de lapin contenant des anticorps spécifiques à l'espèce. Le mélange est ensuite exposé à des anticorps de chèvre, radiomarqués contre la gammaglobuline de lapin. La radioactivité mesurée permet d'évaluer le degré de réaction et d'identifier l'espèce concernée. La technique a depuis été remplacée par la méthode ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) pour laquelle, la réaction anticorps-antigène est mesurée grâce à une échelle colorimétrique (Cattaneo 1992 et 1994 ; Ubelaker *et al.*, 2004 ; Pavelka *et al.*, 2011). Cette méthode ELISA permet de distinguer des restes humains et fauniques et de préciser les espèces animales concernées. Elle apparaît très utile quand l'ADN d'un échantillon est trop dégradé pour être exploitable et est particulièrement intéressante dans l'analyse de petits fragments car elle ne nécessite qu'une très faible quantité de matériel (Ubelaker *et al.*, 2004 ; Francklin and Marks, 2012). En outre, l'albumine résiste au processus de crémation et rend possible l'identification de restes brûlés (Ubelaker *et al.*, 2004). En effet, dans son étude de 1994, Cattaneo retrouve des restes protéiques exploitables dans 26 % des cas de crémations testés. Néanmoins, les limites de la technique ELISA résident dans son coût élevé et l'utilisation d'un matériel de traitement spécifique. En réponse à ce problème, une nouvelle technique d'identification peu coûteuse et rapide a récemment été développée. Il s'agit de la méthode dite ZooMS (*Zooarcheology by Mass Spectrometry*), utilisant la spectrométrie de masse pour distinguer les peptides des molécules de collagène de différentes espèces (Buckley *et al.*, 2009 ; Collins *et al.*, 2010 ; Van Doorn, 2014 ; Desmond *et al.*, 2018).

Bien que très efficaces, les différentes méthodes d'identification d'espèces reposant sur l'analyse protéique restent destructives et dépendantes de l'état de conservation des matériaux testés. En effet, selon l'état de préservation du spécimen et son exposition à divers processus

taphonomiques, l'analyse peut ne donner aucun résultat voire même fournir des résultats erronés (Brandt *et al.*, 2002 ; Ubelaker *et al.*, 2004).

## 2.3. IMAGERIE

### 2.3.1. Histologie

L'histologie est la technique traditionnellement utilisée pour l'analyse de la microstructure osseuse interne (Foote, 1916 ; Enlow et Brown, 1958 ; Jowsey, 1966 ; Hiller et Bell, 2007 ; Mulhern et Ubelaker 2011 ; Crowder *et al.*, 2018a). Elle permet l'accès aux structures internes de l'os via l'observation au microscope de coupes osseuses et apporte de nouveaux éléments d'identification d'espèce en cas d'échec des méthodes macromorphologiques et biomoléculaires (Quatrehomme *et al.*, 2015). Depuis le début du 20<sup>ème</sup> siècle, son potentiel pour l'identification d'espèces est largement reconnu. Balthazard et Labrun (1911), par exemple, estiment pouvoir identifier l'origine humaine d'un fragment osseux en fonction du diamètre des canaux corticaux. De nombreuses études ont pu, depuis, mettre en évidence des critères distinctifs qualitatifs et quantitatifs. Parmi ceux-ci, la première catégorie concerne les schémas d'organisation du tissu cortical (Hillier et Bell, 2007 ; Cuijpers, 2006 ; Brits *et al.*, 2014) spécifique à l'os non-humain. La présence d'os plexiforme est notamment caractéristique des grands mammifères à croissance rapide et ne se retrouve que très rarement chez l'Homme. Il a été observé uniquement chez des sujets immatures (Enlow, 1963 ; Zoetis *et al.*, 2003 ; Mulher et Ubelaker, 2001 ; Martin *et al.*, 2015 ; Crowder *et al.*, 2018a et b). De même, le phénomène de « bandes » d'ostéons (ou *osteon banding*, Mulhern et Ubelaker, 2001, Figure 12), se manifestant par la présence de plusieurs rangées successives d'ostéons (primaires ou secondaires), est caractéristique de l'animal. Toutefois, une étude récente fait état de cas d'*osteon banding* observés chez des hommes adultes (Andronowski *et al.*, 2017), ce type de structure ne constitue donc pas un signe distinctif à lui seul.

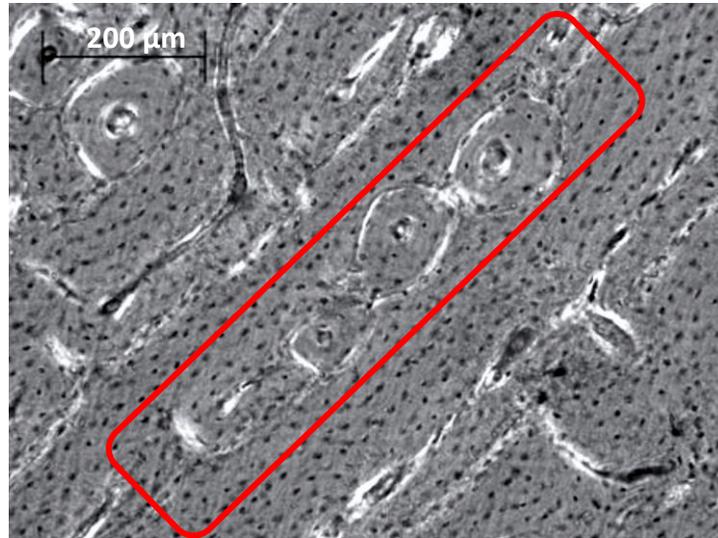


Figure 12 : Exemple de bandes d'ostéons chez le porc (D'après Mulhern et Ubelaker, 2011).

Les paramètres histomorphométriques de la microstructure corticale sont également à prendre en compte. Certains auteurs ont notamment démontré que la taille, la forme des ostéons (Crescimanno et Stout, 2012 ; Dominguez et Crowder, 2012) ou encore le diamètre des canaux de Havers permettaient de distinguer certaines espèces entre elles. Les canaux de Havers et les ostéons apparaissent notamment plus petits chez l'animal et le nombre de connexions plus important (Hillier et Bell, 2007). Sur la base de ces éléments, plusieurs auteurs ont tenté de mettre au point une fonction discriminante permettant d'attribuer des fragments osseux à une espèce donnée (Cattaneo *et al.*, 1999 et 2009 ; Dittman, 2003 ; Urbanová et Novotný, 2005 ; Martiniaková *et al.*, 2006 ; Morales *et al.*, 2012).

Outre l'accès aux structures internes, un avantage certain de l'histologie pour l'étude de la microstructure corticale est qu'elle s'applique à tous les types d'ossements (modernes, anciens, brûlés..., Quatrehomme *et al.*, 2015). Par exemple la microstructure osseuse reste observable pour des os brûlés jusqu'à 800°C (Hummel et Schutkowski ; 1993, Cuijpers et Lauwerier, 2008) contrairement à l'ADN et aux autres protéines (Cattaneo, 2001 ; Brandt *et al.*, 2002).

Cependant l'histologie présente également un désavantage majeur qui est son caractère destructif. De plus, elle peut également présenter des biais dus à son approche en deux dimensions de la structure osseuse. En effet, l'os s'organise en trois dimensions dans l'espace et certains artefacts peuvent apparaître en fonction du plan de section de la coupe histologique (Cooper *et*

*al.*, 2007a ; Harrison et Cooper, 2015 ; Hennig *et al.*, 2015). Par exemple, Hennig et collaborateur (2015) ont cherché à savoir si les différentes formes d'ostéons observées en histologie ne seraient pas en fait uniquement dues aux multiples orientations des canaux.

### 2.3.2. Radiologie

Contrairement aux méthodes d'analyse présentées précédemment, les rayons X offrent l'accès aux structures internes de l'os cortical sans destruction des pièces osseuses. En 1987, Chilvarquer *et al.*, cherchent à mettre en place des critères permettant de distinguer des os longs humains et animaux à partir d'observations radiographiques. Ils rapportent plusieurs paramètres qualitatifs caractéristiques des ossements animaux :

- les travées osseuses sont plus homogènes chez l'animal (Figure 13A) et parfois présentent un aspect plus dense et granulaire,
- une ligne marquée délimite l'os spongieux et le bord interne de l'os cortical (Figure 13B),
- des petits spicules d'os cortical peuvent s'étendre à l'os spongieux dans la zone de la mi-diaphyse (Figure 13C),
- le foramen nourricier peut se situer au milieu de la diaphyse (Figure 13D).

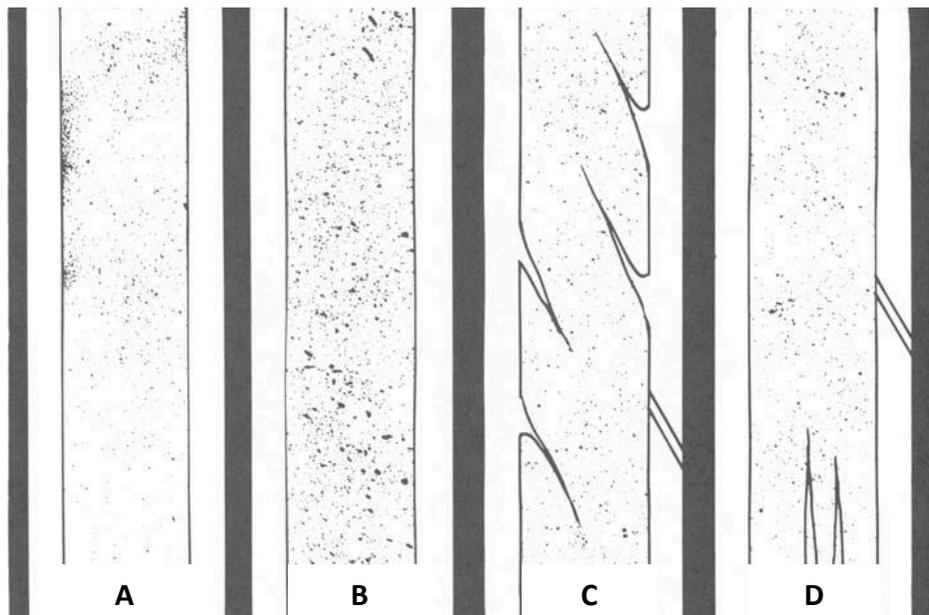


Figure 13 : Schémas de diaphyse d'os longs animaux. A) os spongieux homogène, B) ligne délimitant la bordure entre l'os spongieux et l'os cortical, C) invaginations de l'os cortical dans l'os spongieux sous forme de spicules, D) présence du foramen nourricier dans la zone de la mi-diaphyse (d'après Chilvarquer *et al.*, 1987).

Cette étude marque un nouvel élan dans la recherche d'une méthode de distinction entre espèces. Mais la radiographie ne permet pas d'atteindre des résolutions suffisamment fines pour observer les éléments de la microstructure osseuse. De plus, elle conserve le biais de la 2D lié à la superposition des structures.

### **2.3.3. Microtomographie**

La microtomographie ( $\mu$ CT) est une technique d'imagerie à rayon-X mise au point par Jim Elliott au début des années 1980, basée sur l'obtention de séries de coupes radiographiques permettant l'accès aux structures internes d'objets solides en recréant un modèle virtuel 3D. Elle suit le principe de la *computerized tomography* (CT scan) mis au point au début des années 1970 par G.N. Hounsfield et A.M. Cormack à des fins médicales, mais la taille du pixel des coupes est ici de l'ordre du micromètre. Son utilisation pour l'analyse osseuse a été introduite par Feldkamp et collaborateur en 1989, dans le cadre de l'analyse d'une biopsie d'os iliaque effectuée à 60  $\mu$ m de résolution. Cette étude marque le début des analyses osseuses volumiques de l'os trabéculaire, lesquelles se multiplient très rapidement par la suite (Lespessailles *et al.*, 2006). Les analyses osseuses par  $\mu$ CT se sont tout d'abord focalisées sur l'os trabéculaire dont les structures sont plus larges et plus facilement visualisables. Toutefois, depuis quelques années, avec l'amélioration constante des outils et l'accès à des résolutions de plus en plus précises, la  $\mu$ CT est utilisée également dans l'étude de la microstructure corticale et notamment le réseau canalaire qui le compose. Cette technique est notamment utile dans le cadre des recherches sur l'ostéoporose (Bousson *et al.*, 2004 ; Chappard *et al.*, 2013) ou le remodelage osseux (Cooper *et al.*, 2006 ; Maggiano *et al.*, 2016). De plus, l'accès aux rayonnements synchrotron (SR) permet désormais d'atteindre des résolutions inférieures au micron (Bernadini *et al.*, 2019) et ainsi l'accès à un nombre croissant d'informations concernant la microstructure corticale, comme par exemple l'organisation des ostéocytes au sein des lamelles osseuses (Carter *et al.*, 2013).

La  $\mu$ CT fait désormais partie des outils de référence pour l'analyse de la microstructure osseuse au côté de l'histomorphométrie (Bousson *et al.*, 2004 ; Cooper *et al.*, 2003, 2007a et b et 2011 ; Basillais *et al.*, 2007 ; Britz *et al.*, 2010). En outre, par rapport à cette dernière, la microtomographie offre de nouvelles perspectives grâce à deux avantages majeurs. Premièrement, il s'agit d'une

technique non-destructive, préservant l'intégrité des échantillons osseux (Bouxsein *et al.*, 2010 ; Peter et Peyrin, 2011 ; Bernardini *et al.*, 2019). Cette méthode est donc particulièrement adaptée aux restes fragiles et rares. Deuxièmement, la  $\mu$ CT permet d'effectuer des reconstructions en 3D et des analyses volumétriques du tissu osseux (Cooper *et al.*, 2003 ; Bouxsein *et al.*, 2010 ; Peter et Peyrin, 2011 ; Particelli *et al.*, 2012). L'approche volumique apporte de nouveaux critères d'analyse pour l'observation et la quantification de la microstructure osseuse, notamment corticale (Tableau 2). Il est possible de mesurer la proportion d'os ou de porosité (BV/TV et Ca/TV) d'un volume par exemple. Certains de ces critères sont issus de l'histomorphométrie, comme le diamètre des canaux de Havers (Ca.D), mais sont mesurés sur l'ensemble du canal, permettant de prendre en compte les variations existant le long d'un même canal. En effet, il est recommandé d'effectuer des analyses en 3D pour l'évaluation du réseau canalaire cortical (Cooper *et al.*, 2003 ; Alessio *et al.*, 2015). Cela permet d'éviter les biais de la 2D et les extrapolations réalisées à partir de coupes et ainsi de mieux rendre compte de la complexité de ce réseau.

Tableau 2 : Paramètres couramment utilisés dans la littérature pour l'analyse microstructurale 3D de l'os cortical.

<b>Paramètre</b>	<b>Abréviation</b>	<b>Unité</b>
<b>Volume total</b> Volume total de tissu analysé	TV	mm <sup>3</sup>
<b>Fraction osseuse</b> Proportion de tissu osseux rapporté au volume total	BV/TV	%
<b>Porosité corticale</b> Proportion de vide rapporté au volume total	Ca.V/TV	%
<b>Nombre de canaux</b>	Ca.N	mm <sup>-1</sup>
<b>Diamètre des canaux</b>	Ca.D	μm
<b>Longueur des canaux</b>	Ca.Le	μm
<b>Connectivité</b> Densité de connexions	Ca.ConnD	mm <sup>-3</sup>

Malgré tout, l'irradiation d'un échantillon aux rayons X n'est pas sans conséquence. Il a notamment été montré que les rayons X ont un effet délétère sur l'ADN. Dans une étude de 2016, Immel et collaborateurs observent la destruction des molécules d'ADN à partir d'une dose d'irradiation de 200 Gy et constatent l'augmentation linéaire de la dégradation avec l'augmentation de la dose de radiation reçue. Les doses émises par les microscanners classiques atteignent toutefois rarement ce niveau d'irradiation (Immel *et al.*, 2016 ; Bernardini *et al.*, 2019), cependant, les rayons SR peuvent dégrader l'ADN. Il est également déconseillé de scanner un ossement pour lequel une datation par résonance paramagnétique électronique (RPE) est prévue. Cette technique consiste à mesurer la dose de radiation naturelle absorbée par les ossements au cours du temps, à partir de laquelle l'âge de l'échantillon est estimé. Les radiations du  $\mu$ CT peuvent donc modifier cette mesure et mener à une surestimation de l'âge de l'échantillon (Duval et Martin-Frances, 2017). Des phénomènes d'ionisation, se manifestant par des changements de couleurs des régions scannées, sont également constatés à la suite d'acquisitions  $\mu$ CT (Tafforeau *et al.*, 2008 ; Richards *et al.*, 2012). Néanmoins, ces effets sont le plus souvent réversibles.

## 3. ANALYSE DE LA MICROSTRUCTURE CORTICALE

---

### 3.1. VARIABILITÉ MICROSTRUCTURALE DE L'OS CORTICAL

#### 3.1.1. Dimorphisme sexuel

Plusieurs études se sont intéressées à l'influence du sexe sur la microstructure corticale. Parmi elles, certaines rapportent des différences significatives inter-sexes. Burr *et al.*, 1990 observent, par exemple, des différences dans les diamètres des canaux de Havers et les aires des ostéons dont les valeurs sont plus importantes chez les sujets féminins d'une population d'Indiens Pecos tandis que les hommes présentent une densité d'ostéons plus importante. Des résultats similaires sont présentés par Mulhern et Van Gerven dans leur étude d'une population nubienne (1997). De même Dupras et Pfeiffer (1996) retrouvent des différences significatives entre sexes pour les valeurs des aires des ostéons et des canaux de Havers sur une collection de côtes humaines. Selon Mulhern et Van Gerven (1997), ces différences entre les sexes peuvent avoir plusieurs explications : (1) des différences de réactions de l'os face aux contraintes selon le sexe, (2) la pratique de tâches différentes entre les hommes et les femmes pour une même population. À l'inverse, Britz *et al.* (2009) et Crowder et Dominguez (2013) observent des tailles d'ostéons significativement moins importantes chez les femmes. En outre, dans son étude de 1998, effectuée sur des populations anglaises et canadiennes des 18<sup>ème</sup> et 19<sup>ème</sup> siècles, Pfeiffer ne trouve aucune différence significative liée au sexe, à l'image d'autres études sur le sujet (Pfeiffer *et al.*, 2006 ; Stout et Paine, 1992 ; Stout *et al.*, 1994 et 1996 ; Dominguez et Agnew, 2016). Les discordances existant entre ces différentes études sont sans doute à mettre en lien avec les différentes origines génétiques, géographiques et culturelles des populations étudiées ainsi que les diverses zones anatomiques choisies, différences qui rendent les comparaisons difficiles.

Par ailleurs, les divergences observées entre la microstructure osseuse des hommes et des femmes sont également variables selon l'âge des individus. Burr *et al.*, (1990) mettent notamment en évidence une évolution opposée de la taille des ostéons au cours du temps, augmentant chez les femmes et diminuant chez les hommes. Les variations sont aussi plus importantes entre les sujets

âgés, en particulier une fois passé l'âge de la ménopause (Heaney *et al.*, 1978 a et b), en raison d'une différence de l'activité du remodelage chez les femmes et les hommes du même âge (Robling et Stout, 2007). Il semblerait, en effet, que le remodelage augmente chez les femmes ménopausées (Parfitt, 1996).

Un dimorphisme sexuel est également observé pour des espèces animales comme chez les macaques (Havill, 2004), chez lesquels les ostéons sont plus grands chez les mâles que chez les femelles.

### **3.1.2. Âge**

L'organisation osseuse évolue au cours de la croissance et de la vie d'un individu, permettant son identification biologique par l'observation de ses restes squelettiques. La détermination de l'âge d'un individu à partir de la microstructure osseuse corticale est une problématique ancienne, particulièrement utile en cas de fragmentation, alors que l'estimation de l'âge par les méthodes macroscopiques classiques devient impossible. Depuis le début du 20<sup>ème</sup> siècle (Balthazard et Labrun, 1911), un grand nombre d'études cherchent à corréliser l'âge d'un individu avec l'agencement des diverses structures de la microstructure corticale de différents ossements (Kerley, 1965 ; Thompson, 1979 ; Narasaki, 1990 ; Ericksen 1991 ; Burr *et al.*, 1990 ; Stout et Paine, 1992). Sur les sujets adultes, ces paramètres sont fortement liés à l'activité du remodelage osseux. En effet, la proportion de structures primaires diminue tandis que la proportion d'ostéons secondaires, le pourcentage d'os remodelé ainsi que de structures fragmentées augmentent avec l'âge (Currey, 1964 ; Evans, 1976 ; Martin *et al.*, 1980 ; Ericksen, 1991 ; Gocha *et al.*, 2018). Sur ces bases, Kerley en 1965 est le premier à proposer une méthode histomorphométrique d'estimation de l'âge au décès basée sur la quantification du pourcentage d'os cortical non remodelé (canaux non-haversien et os lamellaire) et remodelé (ostéons entiers et fragmentés). Cette méthode est élaborée à partir d'un échantillon de fémurs, tibias et fibulas appartenant à 126 individus âgés entre 0 et 95 ans. L'âge influence également la taille des ostéons et des canaux de Havers. Certains auteurs observent une diminution de la taille des ostéons au cours du temps (Currey, 1964 ; Britz *et al.*, 2009 ; Crowder et Dominguez, 2013 ; Dominguez et Agnew, 2016 ; Goliath *et al.*, 2016). À l'inverse, Jowsey (1966) met en évidence des valeurs similaires entre des individus âgés de 20 à 90

ans, tout comme Pfeiffer *et al.* (1998 et 2006) qui ne notent pas de différence liée à l'âge pour la taille des ostéons. De la même manière, les données concernant l'évolution de la taille du canal de Havers diffèrent selon les auteurs. Pour la plupart, la largeur du canal augmente (Jowsey, 1966 ; Bocquet-Appel *et al.*, 1980) ou reste stable au cours du temps (Currey, 1964 ; Jowsey, 1966 ; Nor *et al.*, 2014). Cependant, Singh et Gunberg en 1970 observent des valeurs du diamètre des canaux de Havers décroissantes avec l'âge. Ces variations sont probablement liées aux diverses régions osseuses utilisées dans ces études. En effet, la microarchitecture corticale évolue différemment en fonction de l'os et de la région osseuse analysée (Crowder, 2005 ; Chan *et al.*, 2007) notamment en raison des différences de contraintes mécaniques.

### **3.1.3. Contraintes biomécaniques**

L'os, dans son rôle de soutien et de protection, est soumis à différentes forces biomécaniques. Il est admis que ces contraintes physiques influencent le degré de remodelage osseux et l'organisation de la microstructure osseuse (Burger *et al.*, 2003 ; Matsumoto *et al.*, 2006 ; Skedros, 2011 ; Britz *et al.*, 2009 et 2012a et b). On sait notamment que l'inactivité prolongée entraîne des modifications de l'organisation de la microstructure osseuse corticale (Britz *et al.*, 2012 a et b ; Schlecht *et al.*, 2012). Certains paramètres microstructuraux sont utilisés afin de définir l'historique des charges appliquées sur un ossement ou une région osseuse (Skedros *et al.*, 2003 et 2009 ; Skedros, 2011 ; Miskiewicz, 2016), par exemple la densité d'ostéons (ou *osteon population density* : OPD, Miskiewicz, 2016). Celle-ci correspond à la proportion d'ostéons entiers et fragmentaires par zone étudiée et reflète la dynamique du remodelage de l'os. Certaines études montrent, en effet, une augmentation d'OPD dans les régions sujettes à des stimuli mécaniques répétés ou intenses (Skedros *et al.*, 2011 ; Yamada *et al.*, 2011 ; Wojda *et al.*, 2013 ; Miskiewicz, 2016 ; Gocha et Agnew, 2016). Il semble également que les contraintes mécaniques aient un effet sur les dimensions des ostéons et canaux de Havers (Skedros *et al.*, 1997 et 2003 ; Britz *et al.*, 2009 ; Schlecht *et al.*, 2012 ; Miskiewicz, 2016). Dans leur étude de 2008, van Oers et collaborateurs notent un diamètre des ostéons inversement proportionnel aux contraintes appliquées à l'os. Ces résultats concordent avec ceux obtenus auparavant par Skedros et collègues (1994 et 1997) ainsi que ceux de Britz *et al.* (2009) qui observent un diamètre d'ostéon inversement proportionnel au poids. Toutefois, cette tendance n'est pas retrouvée

systématiquement (Skedros *et al.*, 2009). Par exemple, Streeter *et al.* (2010) ne retrouvent pas d'OPD plus importante ni d'ostéons plus fins dans les zones soumises aux plus fortes contraintes mécaniques. Différents morphotypes d'ostéons ont également été définis (Martin *et al.*, 1996) dont la prévalence permet d'interpréter les adaptations de l'os en réaction aux différents types de forces (tension, compression, torsion, Bigley *et al.*, 2006 ; Skedros, 2011 ; Skedros *et al.*, 2009 et 2011).

Concernant le réseau canalaire cortical, Matsumoto *et al.* (2006) notent une raréfaction des canaux chez des rats immobilisés. De plus, Britz *et al.* (2012a et b) mettent en évidence un diamètre des canaux de Havers significativement plus large pour les tibias de rats immobilisés que pour les groupes de comparaison observés. Ces auteurs notent également des différences dans l'orientation des canaux entre les groupes testés. Par ailleurs, la porosité corticale apparaît également comme un bon indicateur des contraintes mécaniques. Elle est notamment corrélée à l'élasticité de l'os, il semble que plus la porosité corticale est importante, moins l'os est élastique (Espinoza Orias *et al.*, 2009, Cai *et al.*, 2019a et b).

### **3.1.4. Population**

Des variations de microstructures osseuses entre populations ont été notées dans la littérature, sans doute associées à des degrés de remodelage osseux différents (Robling et Stout, 2007). Cho *et al.* (2002), par exemple, notent des variations d'OPD entre des populations afro-américaine et euro-américaine, interprétées par les auteurs comme un signe de remodelage plus faible chez les Afro-américains. De même, Thompson et Gunness-Hey (1981) observent une plus grande densité d'ostéons chez les Eskimos, comparés à une population euro-américaine, qu'ils associent à un remodelage plus important. Ces différences entre groupes géographiques posent notamment problème pour l'estimation de l'âge à partir de la microstructure osseuse, certains auteurs recommandent d'ailleurs une approche populationnelle à l'estimation micromorphométrique de l'âge (Pfeiffer *et al.*, 2016).

Toutefois, les relations entre la dynamique osseuse et l'ascendance des populations humaines apparaissent complexes. Dans leur étude de 1990, comparant des populations d'Indiens Pecos et d'Américains modernes, Burr *et al.* notent quelques différences, en particulier la petite taille des

canaux de Havers chez les femmes indiennes, mais qu'ils considèrent trop faibles et peu fiables statistiquement pour refléter une réelle distinction inter-populationnelle. Cho *et al.*, dans une nouvelle étude de 2006, n'observent pas de différence de remodelage entre afro-américains et euro-américains aussi nettes que dans leur étude de 2002. Les distinctions entre les deux groupes ne se retrouvent cette fois pas dans toutes les classes d'âges ni pour les deux sexes. Ces observations mettent en évidence la relation complexe entre les facteurs génétiques et environnementaux pouvant amener à des différences de remodelage osseux entre populations.

Des différences socio-économiques entre populations semblent aussi pouvoir impacter la structure osseuse (Miszkievics et Mahoney, 2016).

### **3.1.5. Pathologies**

Plusieurs pathologies peuvent affecter la microstructure corticale. Parmi les plus courantes, l'ostéoporose est une maladie squelettique systémique causant une perte progressive de la masse osseuse. Au niveau microstructural, cette perte se manifeste par une augmentation de la porosité corticale due un élargissement des canaux de Havers (Harrison et Cooper, 2015 ; Torres-Del-Pliego *et al.*, 2013 ; Rochefort, 2014). Ce phénomène est provoqué par une résorption osseuse excessive par rapport à la production d'os. À l'inverse, dans le cas de la maladie de Paget, le remodelage intervient de façon démesurée et l'ensemble des étapes de ce processus est altéré. Cette pathologie provoque une résorption anormale de l'os, suivie d'une formation tout aussi excessive, rapide et désorganisée. L'os pagétique se reconnaît par son apparence irrégulière formant une mosaïque d'« os tissé » et d'os lamellaire (Hillier et Bell, 2007 ; Siris et Roodman, 2013, Figure 14). D'autres pathologies agissent sur le cycle de remodelage comme le diabète sucré (Patsch *et al.*, 2013), l'hyperparathyroïdie, l'ostéomalacie, l'immobilisation et certains traumatismes. L'hyperparathyroïdie provoque, par exemple, une augmentation du remaniement osseux marqué par l'augmentation du nombre d'ostéons et des structures fragmentées (Hiller et Bell, 2007 ; Robling et Stout, 2007).

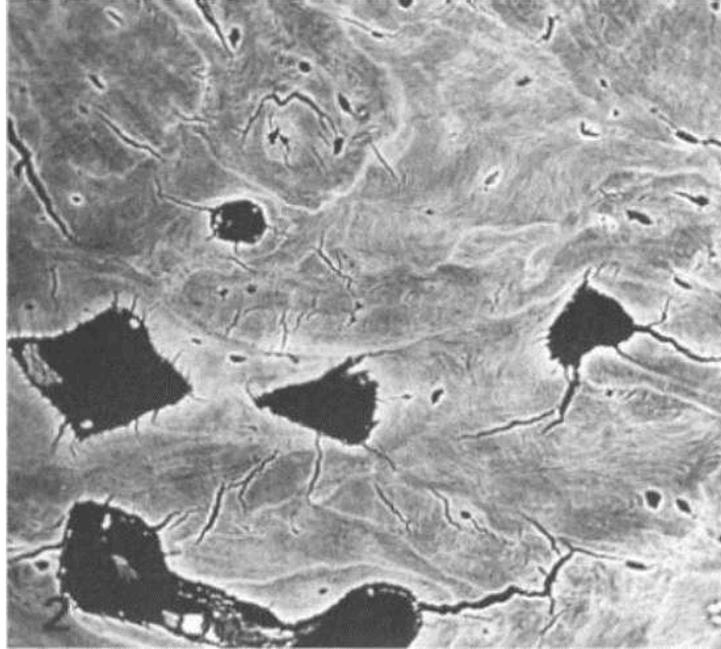


Figure 14 : Os cortical présentant une organisation irrégulière pouvant correspondre à une maladie de Paget (Bell et Jones, 1991).

## 3.2. MODIFICATIONS TAPHONOMIQUES MICROSCOPIQUES

### 3.2.1. Bioérosion

Les attaques microbiennes contribuent fortement à la détérioration du tissu osseux. Ces atteintes correspondent à la colonisation de l'os par des micro-organismes environnementaux (champignons, bactéries ou micro-organismes aquatiques) et se caractérisent par l'érosion locale du collagène et de l'hydroxyapatite de l'os (Hackett, 1981 ; Davis, 1997 ; Turner-Walker *et al.*, 2002 ; Bell et Elkerton, 2008 ; Pesquero *et al.*, 2010). Ces atteintes se présentent sous la forme de tunnels entourés par des zones osseuses hyperminéralisées (Hackett, 1981 ; Jans *et al.*, 2004 ; Jans, 2013 ; Delannoy *et al.*, 2018). Les premières recherches sur l'effet des attaques microbiennes ont été réalisées par Wedl en 1864 qui décrit une forme d'attaque fongique formant un diamètre uniforme de 5 à 10  $\mu\text{m}$ . Il est ensuite repris par Hackett (1981) qui définit 4 types de destructions focales microscopiques (MFD) ou tunnels : les tunnels de Wedl, attribués à l'action de champignons, ainsi que les tunnels linéaires longitudinaux, les tunnels en bourgeons et les tunnels en lamelles associés à l'action des bactéries (Figure 15). Celles-ci semblent intervenir rapidement

après la mort de l'organisme, sans doute dans la première décennie suivant la mort (Jans *et al.*, 2004).

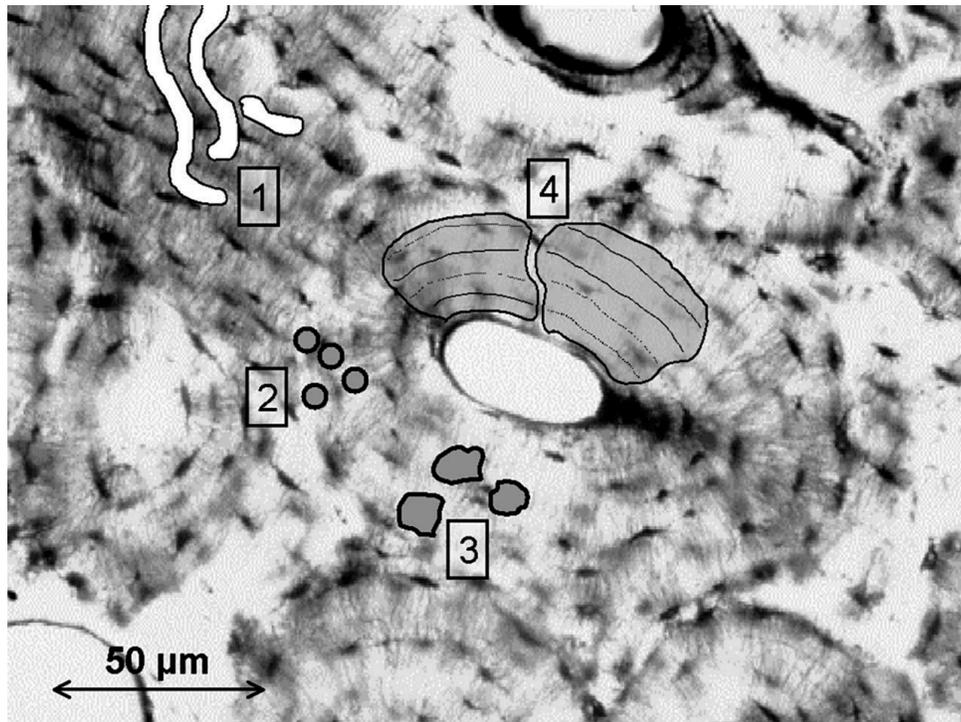


Figure 15 : Représentations des 4 types de tunnels définis par Hackett (1981) : 1) tunnel de Wedl, 2) tunnel linéaire longitudinal, 3) tunnel en bourgeon, 4) tunnel lamellé (d'après Jans *et al.*, 2004).

Par ailleurs, Jans *et al.* (2004) mettent en évidence des différences de bioérosion entre des ossements humains et animaux d'un échantillon comprenant 261 spécimens, issus de localisations géographiques et d'époques différentes. Les auteurs notent un pourcentage bien plus important d'attaques microbiologiques des ossements humains (75 % d'os atteints contre 57 % pour les animaux). Ces attaques sont en particulier causées par des bactéries chez l'homme. Les tunnels linéaires longitudinaux et en bourgeons sont, en effet, fréquents chez l'Homme, contrairement aux tunnels lamellés, plus rares. De même, les attaques fongiques (tunnel de Wedl) sont peu observées chez l'homme mais se retrouvent majoritairement chez les spécimens animaux.

En parallèle de la destruction microstructurale de l'os, les altérations microbiologiques posent problème pour les analyses biomoléculaires. Elles peuvent, par exemple, entraîner des contaminations ou la destruction de l'ADN (Jans *et al.*, 2004).

### 3.2.2. Atteintes non-biologiques

Outre les attaques de micro-organismes, la préservation des restes osseux est dépendante des conditions environnementales qui les entourent et des modifications physico-chimiques qu'elles peuvent entraîner. En raison de l'aspect poreux de l'os, des phénomènes d'infiltration de composants des sols dans la matrice osseuse (*i.e.* métaux) ou d'inclusion de matière exogène (*i.e.* sable) peuvent avoir lieu (Garland, 1989 ; Jans *et al.*, 2002 ; Delannoy *et al.*, 2018). Le pH et l'hydrologie du sol ont aussi une grande influence sur la préservation de la composition interne de l'os. Un sol acide (pH < 6) peut notamment provoquer des pertes de collagène et une destruction généralisée de la microstructure osseuse incluant un délitement des ostéons (Garland, 1989 ; Nielsen-Marsh *et al.*, 2007 ; Jans, 2013). Un environnement alternant des phases sèches et humides s'avère également particulièrement destructeur, et entraîne une desquamation et une rétraction de l'os ainsi que des fissures radiales (Fernández-Jalvo *et al.*, 2010 ; Kendall *et al.*, 2018). Ces fissures s'étendent sur une large partie de l'os et sont à distinguer des micro-fissures, visibles à l'échelle des ostéons. Ces dernières sont plutôt associées au remodelage causé par des altérations chimiques ou des processus de reminéralisation (Jans *et al.*, 2002 ; Delannoy *et al.*, 2017 ; Kendall *et al.*, 2018).

### 3.2.3. Température

L'exposition à de hautes températures peut entraîner des changements de couleur. La coloration de l'os est notamment une indication de la température et de la durée d'exposition à la chaleur (Walker *et al.*, 2008 ; Ubelaker, 2009 ; Symes *et al.*, 2013). La chaleur provoque également une rétraction du tissu osseux ainsi que des fissures provenant des canaux de Havers (Hanson et Cain, 2007 ; Jans, 2013). Les effets de la congélation sont moins connus. Tersigni (2007) ne note pas d'effet significatif de la congélation sur l'os. Cependant, elle remarque la présence de fissures, bien que celles-ci apparaissent moins importantes que celles dues à la chaleur. Dans l'ensemble, la congélation ne semble pas influencer l'observation de la microstructure osseuse (Tersigni, 2007 ; Jans, 2013).

### **3.3. DISTINCTION HOMME/ ANIMAL**

#### **3.3.1. L'Homme au sein des Vertébrés**

Les os d'oiseaux, de reptiles et de mammifères possèdent tous les mêmes structures osseuses de base. Les variations observées entre ces classes concernent plutôt leur organisation et les proportions des différents types d'os rencontrés. Les oiseaux se distinguent, par exemple, par une corticale moins importante et des os tubulaires creux qui facilitent le vol (Currey, 2002) tandis que la majorité des reptiles actuels possèdent un os cortical très peu vascularisé, voire souvent avasculaire (Francillon-Vieillot *et al.*, 1990). Cette caractéristique est à rapprocher, pour certains auteurs, d'un métabolisme plus lent chez les reptiles (Francillon-Vieillot *et al.*, 1990 ; Currey 2002). À l'inverse, chez les mammifères l'os est le plus souvent vascularisé.

#### **3.3.2. L'Homme et les autres mammifères**

##### *3.3.2.1. Petits mammifères*

L'organisation corticale des petits mammifères comme le rat ou le lapin est beaucoup étudiée, en particulier dans la réalisation de modèles expérimentaux médicaux (Boyde, 2003 ; Erben *et al.*, 2004 ; Shimano et Volpon, 2009 ; Pazzaglia *et al.*, 2010 ; Britz *et al.*, 2012 a et b ; Cvetkovic, 2013). Selon Singh (1974) et Foote (1916), l'os cortical de rat (Figure 16) est majoritairement composé d'os primaire à canaux longitudinaux accompagné de quelques zones d'os avasculaire et de quelques systèmes de Havers parfois apparents près de la surface endostéale. Cependant, Martiniaková et collaborateur, au cours de leurs différentes études sur des fémurs de rats adultes d'âges variables (4, 6, 13 mois, Martiniaková *et al.*, 2005, 2006 et 2009), observent plutôt une prédominance d'os compact avasculaire et notent parfois la présence de zones d'os primaire vasculaire composé de canaux très fins (diamètre moyen de  $8,66 \pm 2,41 \mu\text{m}$ , Martiniaková *et al.*, 2005) radiaux, irréguliers ou réticulaires. Ces auteurs décrivent également l'organisation de l'os cortical de fémurs de lapins adultes (Martiniaková et Vondráková, 2003 ; Martiniaková *et al.*, 2006 et 2007). L'os de lapin est majoritairement composé d'os primaire à canaux longitudinaux, comprenant quelques zones d'os irrégulier et d'os haversien (Martiniaková *et al.*, 2007, Figure 16). Les données métriques obtenues pour les canaux primaires et secondaires de cette espèce

donnent un diamètre moyen situé entre 12,49 et 17,49  $\mu\text{m}$  (Martiniaková et Vondráková, 2003). Ces résultats sont concordants avec les valeurs précédemment obtenues par Foote (1916). Enfin, pour le rat et le lapin, on note une absence d'os plexiforme (Martiniaková *et al.*, 2006).

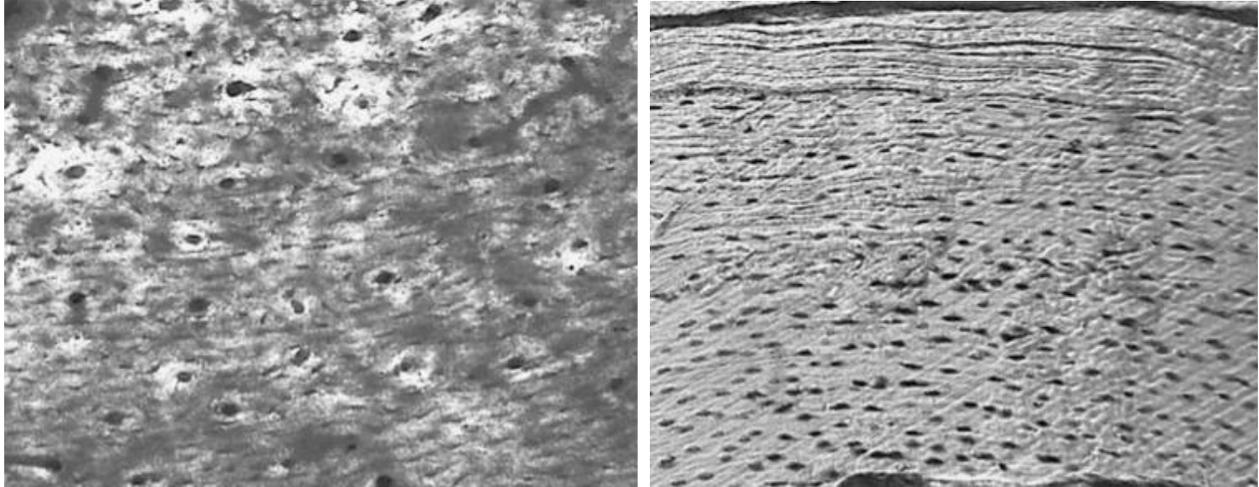


Figure 16 : Os primaire longitudinal de lapin (à gauche) et os avasculaire de rat (à droite) (magnification x 200 ; Martiniaková *et al.*, 2006).

### 3.3.2.2. Carnivores

Les os longs des carnivores présentent en général une association d'os haversien irrégulier et d'os primaire à canaux longitudinaux, souvent situés dans les couches externes de la corticale (Diaz et Rajtova, 1975 ; Georgia et Albu, 1988 ; Mulher et Ubelaker, 2011 ; Brits *et al.*, 2014, Figure 17). Par ailleurs, les os de chien et d'ours présentent parfois une part d'os plexiforme plus ou moins importante. On note également des zones d'os avasculaire chez le chat et le chien (Foote, 1916 ; Enlow et Brown, 1958 ; Morris, 2007 ; Brits *et al.*, 2014). L'os cortical des carnivores peut également être remanié en os secondaire haversien sur l'ensemble de la corticale, ce qui le rend plus difficile à distinguer de l'os humain. Les valeurs métriques obtenues pour les carnivores décrivent des canaux de Havers et des ostéons secondaires plus petits que chez l'homme (Diaz et Ratjova, 1975 ; Urbanová et Novotný, 2005 ; Morris, 2007 ; Hulseley *et al.*, 2009 ; Mulhern et Ubelaker, 2011 ; Morales *et al.*, 2012). Toutefois, pour le chien, Jowsey (1966) mesure un diamètre moyen des ostéons secondaires compris dans la variabilité humaine.

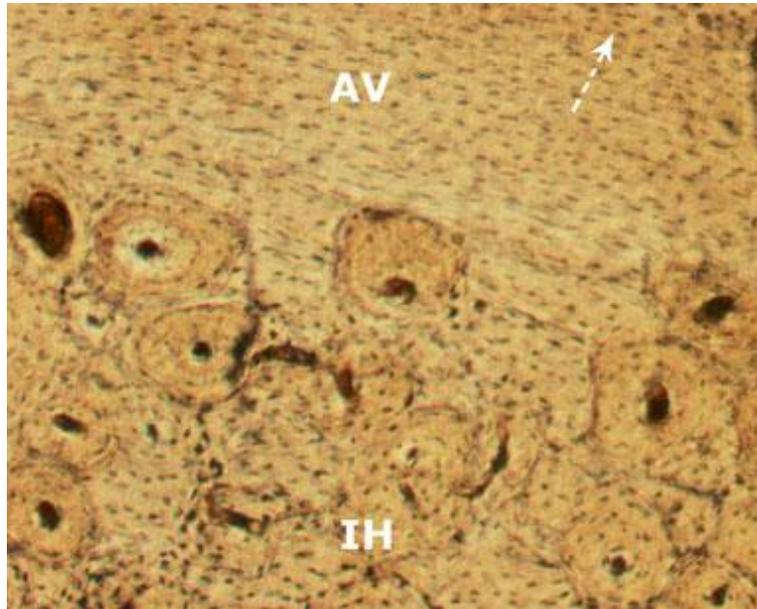
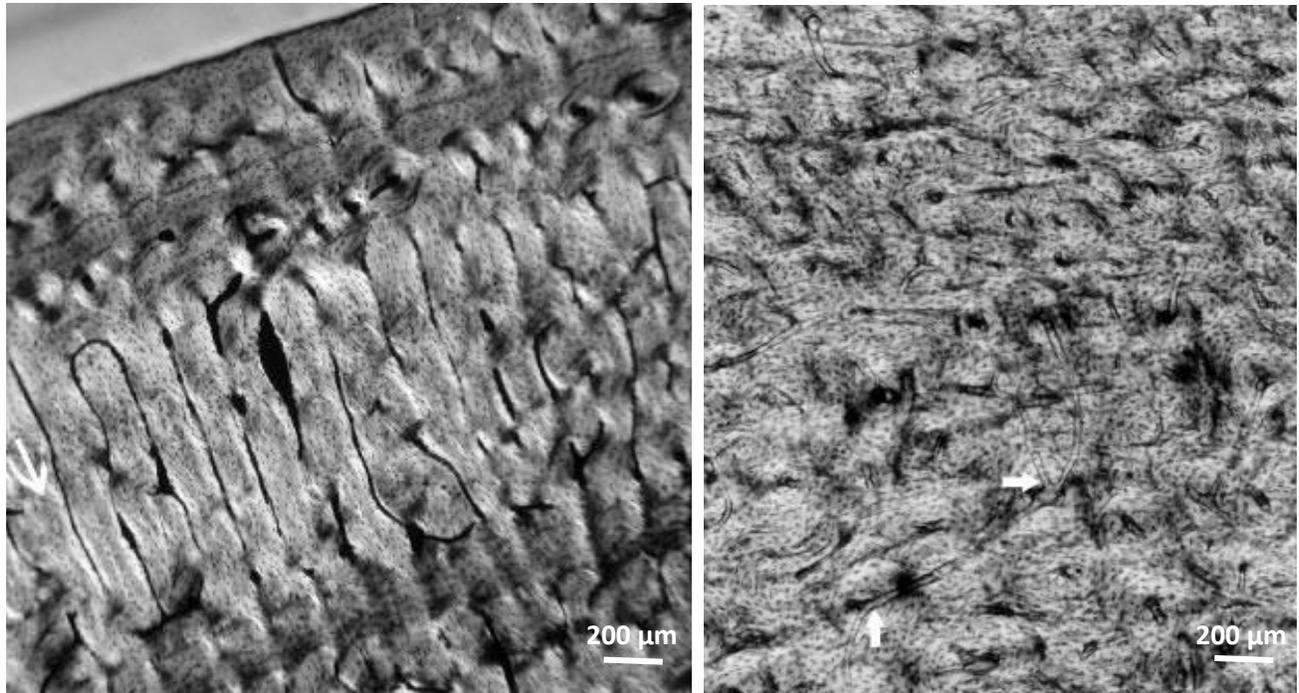


Figure 17 : Combinaison d'os avasculaire (AV) et d'os haversien irrégulier (IH) chez un fémur de chien. La flèche indique le périoste. (magnification x 100 ; d'après Brits et al., 2014).

### 3.3.2.3. Artiodactyles

L'ordre des Artiodactyles regroupe les espèces d'ongulés possédant un nombre pair de doigts à chaque sabot (i.e. Bovides, Camélidés, Cervidés, Suidés). L'os cortical de ces espèces se compose en majorité d'os plexiforme, localisé dans la partie externe de l'os compact, et d'os haversien dense situé au centre et dans la partie endostéale (Enlow et Brown, 1958 ; Martiniaková *et al.*, 2006 ; Hillier et Bell, 2007 ; Morris, 2007 ; Mulhern et Ubelaker, 2011 ; Brits *et al.*, 2014). La présence récurrente de cet os plexiforme chez les artiodactyles est un bon critère de distinction qualitatif par rapport à l'Homme. Cependant, l'os plexiforme n'est pas systématiquement présent dans la composition corticale de ces espèces, certains auteurs mentionnent l'observation d'os haversien chez le porc ainsi que sur l'ensemble de la corticale d'ossements de vache, notamment au niveau des côtes (Enlow et Brown, 1958). Dans le cas de *Bos taurus*, Martiniaková *et al.* (2006) ainsi que Brits *et al.* (2014) observent également des cas d'os avasculaire et Cuijpers (2006) de l'os réticulaire ainsi que radial (Figure 18). Des variations métriques existent également entre les études. Dittman (2003) mesure chez la vache des valeurs de diamètre des ostéons et canaux de Havers bien inférieures à celles de l'Homme tandis que d'autres auteurs notent des valeurs incluses dans la variabilité humaine (Tableau 3).



*Figure 18 : Exemples d'os radial (à droite) et d'os réticulaire (à gauche) chez Bos taurus (D'après Cuijpers, 2006).*

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des structures osseuses observées et mesurées pour *Bos taurus* dans la littérature.

Article	Os	Nombre de spécimens	Types d'os observés	Diamètres canaux de Havers ( $\mu\text{m}$ )	Périmètres canaux de Havers ( $\mu\text{m}$ )	Aires canaux de Havers ( $\mu\text{m}^2$ )	Diamètres des ostéons ( $\mu\text{m}$ )	Périmètres des ostéons ( $\mu\text{m}$ )	Aires des ostéons ( $\mu\text{m}^2$ )
Albu <i>et al.</i> , 1990	Fémur	5	—	39,81 – 70,94	—	—	—	—	—
Brits et L'Abbé, 2014	Fémur	5	Os primaire plexiforme et os avasculaire	—	—	—	—	—	—
Cuijpers, 2006 et 2008	Fémur Radius MTC MTT	13	Os primaire laminaire et plexiforme Os secondaire avec présence de bandes d'ostéons	—	—	—	—	—	—
Dittman, 2003	Radius MTC	4	—	18,41 - 23,55	69,45 ( $\pm 8,02$ )	368,11	121,72 – 157,51	474,25 ( $\pm 27,96$ )	15601,12 ( $\pm 1799,29$ )
Jowsey, 1966	Fémur	4	—	—	213 ( $\pm 47$ )	—	250 ( $\pm 40$ )	—	—
Martiniaková <i>et al.</i> , 2006	Fémurs	15	Os primaire plexiforme, avasculaire (niveau de l'endoste), Os secondaire haversien irrégulier ou dense (centre os compact)	15,58 ( $\pm 4,32$ ) – 48,76 ( $\pm 15,59$ )	99,72 ( $\pm 26,49$ )	1224,71 ( $\pm 653,33$ )	76,22 ( $\pm 14,63$ ) – 269,63 ( $\pm 69,15$ )	533,61 ( $\pm 107,31$ )	32664,97 ( $\pm 11110,13$ )
Martiniaková <i>et al.</i> , 2007	Fémurs	8	Os primaire plexiforme, avasculaire (niveau de l'endoste), Os secondaire haversien irrégulier ou dense (centre os compact)	15,60 ( $\pm 4,38$ ) – 47,47 ( $\pm 14,98$ )	97,84 ( $\pm 25,93$ )	1196,65 ( $\pm 646,33$ )	77,01 ( $\pm 15,95$ ) – 258,45 ( $\pm 66,06$ )	520,35 ( $\pm 107,75$ )	31725,40 ( $\pm 11246,49$ )
Morales <i>et al.</i> , 2012	Tibia	6	—	21,66 – 30,50	—	—	118,34 ( $\pm 16,40$ )	—	—
Urbanová et Novotný, 2005	Fémur Tibia	?	—	30,99 ( $\pm 1,16$ ) – 42,56 ( $\pm 1,38$ )	123,41 ( $\pm 4,01$ )	1176,37 ( $\pm 79,35$ )	181,49 ( $\pm 5,65$ ) – 238,46 ( $\pm 8,07$ )	698,71 ( $\pm 22,86$ )	36067,23 ( $\pm 2951,58$ )
Zedda <i>et al.</i> , 2008	Fémur Humérus	16	Os secondaire irrégulier avec peu d'ostéons	20,7 ( $\pm 6,1$ ) – 39,6 ( $\pm 14,2$ )	109,6 ( $\pm 40,7$ ) – 140,8 ( $\pm 119,8$ )	2049,4 ( $\pm 1568,3$ ) – 1824,8 ( $\pm 1740,3$ )	118,3 ( $\pm 40,7$ ) – 195,3 ( $\pm 73,5$ )	483,3 ( $\pm 151,8$ ) – 579,9 ( $\pm 186,8$ )	16919 ( $\pm 11125,8$ ) – 23576,9 ( $\pm 14326,0$ )

En outre, l'os cortical de porc possède des canaux de Havers plus petits que ceux de l'Homme mais il semble, cependant, que la taille des ostéons recoupe la variabilité humaine (Tableau 4). Par ailleurs, les différentes études montrent des variations dans les dimensions des ostéons en fonction de la zone étudiée. C'est pourquoi, Mulhern et Ubelaker (2011) considèrent que dans le cas de comparaison entre homme et porc il est plus pertinent de se baser sur les proportions des canaux de Havers.

De même, les études sur les ovins, caprins et cervidés présentent des résultats variables. Certains auteurs mesurent des dimensions de canaux de Havers et d'ostéons inférieures à celles de l'Homme (Dittman, 2003 ; Urbanová et Novotný, 2005 ; Martiniaková *et al.*, 2006). Toutefois, d'autres auteurs observent un chevauchement entre les valeurs humaines et animales (Owsley, 1985). Les variations des mesures entre les études mentionnées ici sont peut-être liées à la taille réduite des échantillons analysés et à la comparaison de travaux réalisés sur des ossements différents.

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des structures osseuses observées et mesurées pour *Sus scrofa* dans la littérature.

Article	Os	Nombre de spécimens	Type d'os observé	Diamètres canaux de Havers ( $\mu\text{m}$ )	Périmètres canaux de Havers ( $\mu\text{m}$ )	Aires canaux de Havers ( $\mu\text{m}^2$ )	Diamètres des ostéons ( $\mu\text{m}$ )	Périmètres des ostéons ( $\mu\text{m}$ )	Aires des ostéons ( $\mu\text{m}^2$ )
Albu <i>et al.</i> , 1990	Fémur	5	—	28,73 – 39,85	—	—	—	—	—
Brits <i>et al.</i> , 2014	Fémur	5	Os primaire plexiforme, quelques ostéons primaires	—	—	—	—	—	—
Crescimanno et Stout, 2012	Fémur Humérus Côtes	14	Os primaire plexiforme et bandes d'ostéons	—	—	—	—	—	—
Dittman, 2003	Radius MTC	2	—	17,54 ( $\pm 2,29$ ) – 21,54 ( $\pm 3,09$ )	65,01 ( $\pm 8,75$ )	325,53 ( $\pm 96,56$ )	114,91 ( $\pm 8,88$ ) – 142,51 ( $\pm 4,95$ )	436,90 ( $\pm 19,66$ )	13701,48 ( $\pm 593,29$ )
Martiniaková 2006	Fémur	15	Os primaire plexiforme, os secondaire haversien irrégulier ou dense (centre os compact)	15,61 ( $\pm 5,18$ ) – 40,60 ( $\pm 14,55$ )	87,40 ( $\pm 25,04$ )	1015,21 ( $\pm 539,63$ )	3,15 ( $\pm 17,24$ ) – 211,07 ( $\pm 55,42$ )	459,27 ( $\pm 97,53$ )	28031,80 ( $\pm 10004,39$ )
Martiniaková, 2007	Fémurs	10	Os primaire plexiforme, os secondaire haversien irrégulier ou dense (centre os compact)	15,53 ( $\pm 5,27$ ) – 40,53 ( $\pm 14,16$ )	87,25 ( $\pm 24,76$ )	1009,49 ( $\pm 540,84$ )	84,54 ( $\pm 17,15$ ) – 216,68 ( $\pm 52,11$ )	470,32 ( $\pm 92,96$ )	29194,63 ( $\pm 9896,69$ )
Morales, 2012	Tibia	6	—	29,61 – 61,24	—	—	106,07 – 125,82	—	—
Morris, 2007	Fémur Humérus Côtes	15	Os primaire plexiforme, bandes d'ostéons	—	—	602 ( $\pm 469$ ) – 775 ( $\pm 560$ )	—	—	11300 ( $\pm 5700$ ) – 25100 ( $\pm 16600$ )
Urbanová et Novotný, 2005	Fémur Tibia	?	—	23,36 ( $\pm 0,96$ ) – 32,36 ( $\pm 1,24$ )	95,02 ( $\pm 3,35$ )	672,01 ( $\pm 47,99$ )	162,56 ( $\pm 5,92$ ) – 207,78 ( $\pm 8,23$ )	610,24 ( $\pm 22,76$ )	27168,05 ( $\pm 1907,80$ )

#### 3.3.2.4. Périsodactyles

Comme pour les Artiodactyles, la base du tissu osseux cortical des Périsodactyles (nombre de doigts impair à chaque sabot) est l'os fibrolamellaire. Cependant la proportion observée d'os plexiforme est moins importante que pour les Artiodactyles, remplacée par des zones plus développées d'os primaire réticulé ou d'os secondaire haversien dense (Owsley et al 1992 ; Martin *et al.*, 1996 ; Dittman, 2003 ; Bigley *et al.*, 2006 ; Cuijpers, 2006 ; Hillier et Bell, 2007 ; Cuijpers et Lauwerier, 2008 ; Zedda *et al.*, 2008) parfois associée au phénomène d'*osteon banding* (Cuijpers, 2006).

Il n'existe pas de consensus parmi les études effectuées sur des ossements de cheval concernant la taille des canaux de Havers et des ostéons, comparée à l'Homme. Les valeurs obtenues par les différents auteurs peuvent être bien plus basses que celles observées chez l'Homme (Owsley *et al.*, 1992), ou se situer dans la variabilité basse, voire égaler les valeurs humaines (Martin *et al.*, 1996 ; Dittman, 2003 ; Urbanová et Novotný, 2005).

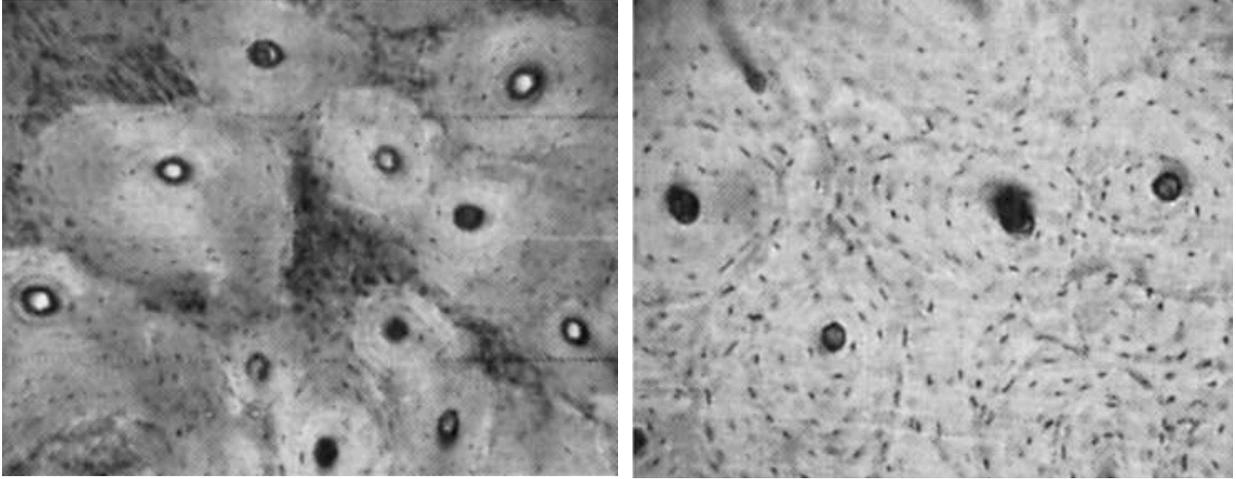
On retrouve des organisations osseuses similaires pour les Périsodactyles et les Artiodactyles en lien avec leur croissance osseuse rapide (Cuijpers et Lauwerier, 2008). Cependant, ils se distinguent dans les proportions des différents tissus osseux observés ainsi que du point de vue des valeurs métriques (Martiniaková *et al.*, 2005 ; Morris, 2007 ; Gudea *et al.*, 2014 ). Zedda *et al.* (2008) trouvent, par exemple, des tailles d'ostéons et des canaux de Havers systématiquement plus faibles chez la vache que chez le cheval.

### **3.3.3. L'Homme parmi les primates**

Les primates non humains possèdent une organisation osseuse plus proche de celle de l'homme. Ils ne présentent pas non plus d'os plexiforme entre autres caractéristiques (Nganvongpanit *et al.*, 2015). Certaines différences demeurent cependant entre l'organisation osseuse de l'homme et celle du singe. Des études montrent, en effet, une organisation particulière chez le singe. Foote (1916) observe notamment chez le lémur catta l'association d'ostéons secondaires dans la partie interne de l'os cortical et d'espaces irréguliers répartis sur l'ensemble de la corticale. Il semble également que l'os cortical de certains primates présente une proportion de remodelage moins importante que chez l'Homme. Chez le galago, Singh *et al.* (1974) notent principalement la

présence d'os primaire longitudinal, et uniquement quelques ostéons secondaires épars, ainsi que des cas d'os réticulaire et avasculaire. De même chez le babouin et le gibbon, on note majoritairement des canaux vasculaires primaires longitudinaux et quelques ostéons secondaires (Foote 1916 ; Singh *et al.*, 1974). Foote (1916) observe une organisation similaire chez certains grands singes, évolutivement plus proches de l'homme. Pour le gorille et le chimpanzé, il note, qu'à minima, la moitié de la corticale se compose d'os lamellaire ou de canaux longitudinaux et il ne retrouve de l'os haversien que dans la partie interne de l'os cortical. Cependant, d'autres espèces semblent présenter une organisation corticale plus proche de l'homme (Foote, 1916). Le fémur des tamarins et des orangs-outans, par exemple, s'organise en lamelles circonférentielles au niveau du périoste et de l'endoste, associées à la présence d'ostéons secondaires au centre de la corticale.

Du point de vue des variables métriques, Nganvongpanit *et al.* (2015) comparent l'organisation microstructurale entre le macaque d'Assam et l'Homme dans la région mi-diaphysaire de plusieurs os longs (humérus, ulna, radius, tibia et fibula). Ces auteurs mettent en évidence des différences significatives entre les deux espèces, en particulier le diamètre des ostéons et des canaux de Havers ainsi que le périmètre des ostéons, significativement plus importants chez l'Homme. Dans son étude sur les macaques, Havill (2004, Figure 19) retrouve également des tailles d'ostéons inférieures chez le singe mais des dimensions des canaux de Havers situées dans la variabilité humaine. De même, Jowsey (1966), Dittman (2003) et Mulhern et Ubelaker (2011) placent les valeurs métriques des ostéons et canaux de Havers du chimpanzé, du gorille et de l'orang-outan dans la variabilité humaine.



*Figure 19 : Sections à mi-cortex de fémurs d'un macaque femelle de 5.32 ans (droite) et d'un macaque mâle de 16 ans (gauche) (d'après Havill, 2004).*

# **MATÉRIEL**

---

# 1. CHOIX DE LA ZONE D'ÉTUDE

---

## 1.1. Os

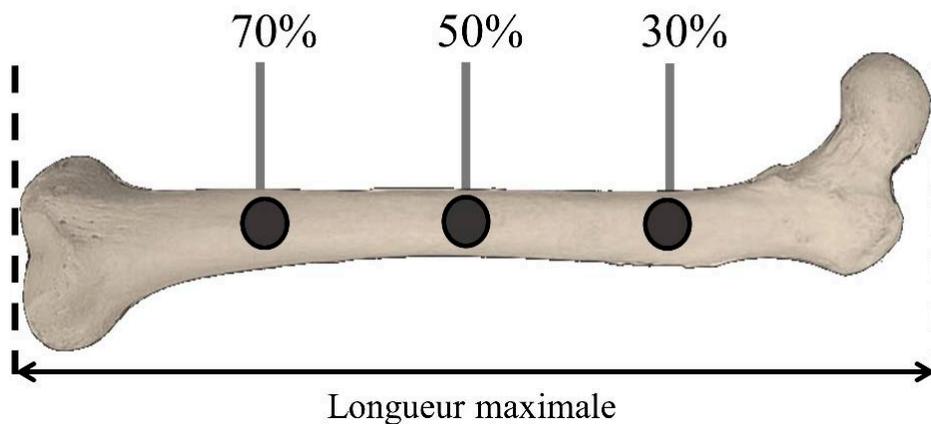
Dans le cadre de l'identification de restes squelettiques humains ou fauniques, les pièces qui apparaissent, de façon récurrente, les plus difficiles à attribuer à une espèce sont les éléments osseux de petite taille. Il s'agit, en particulier, des fragments issus de diaphyses d'os longs qui ne présentent aucun élément anatomique permettant de les identifier (Quatrehomme *et al.*, 2015). C'est pourquoi nous avons choisi de réaliser notre étude préliminaire sur des diaphyses de fémur et d'humérus. Ces os présentent l'avantage de posséder une corticale diaphysaire épaisse, donnant ainsi accès à un nombre satisfaisant de structures (canaux corticaux), nécessaires dans le cadre des analyses métriques.

Notre échantillon se focalise sur le fémur car sa microstructure est largement étudiée dans la littérature, en particulier sa face antérieure. En effet, plusieurs études se sont intéressées à la microstructure corticale du fémur chez l'homme dans le but d'évaluer la variabilité osseuse liée à l'âge, au sexe, ou encore afin de comparer différentes populations (Burr *et al.*, 1990 ; Britz *et al.*, 2009 ; Pfeiffer *et al.*, 2006 ; Robling et Stout, 2007 ; Hennig *et al.*, 2015). En outre, cet os est également bien représenté dans les travaux portant sur la distinction entre restes humains et animaux ainsi que dans les études comparatives de l'organisation osseuse de différentes espèces animales (Urbanová et Novotný, 2005 ; Martiniaková *et al.*, 2006 et 2007 ; Cuijpers, 2006 ; Cuijpers et Lauwerier 2008 ; Zedda *et al.*, 2008 ; Brits *et al.*, 2014 ). Ce large corpus permet de replacer notre étude au sein des recherches internationales menées sur ces sujets et nous apporte une base de comparaison conséquente.

Notre échantillon animal comprend également des humérus, os du membre supérieur homologue du fémur, que nous avons souhaité inclure à des fins de comparaisons de structure entre différents os longs. Il ne nous a malheureusement pas été possible d'inclure des humérus humains en raison de contraintes de temps des acquisitions synchrotron.

## 1.2. RÉGIONS D'INTÉRÊT

Les régions d'intérêts (ROI) de notre étude se situent sur la face antérieure des deux os longs retenus. Elles sont réparties sur la longueur de la diaphyse osseuse à 30 %, 50 % et 70 % de la longueur maximale de l'os. La longueur maximale du fémur est définie comme la distance rectiligne entre le point le plus proximal de la tête fémorale et le point le plus distal du condyle médial (Figure 20) tandis que la longueur maximale de l'humérus correspond à la distance rectiligne entre le point le plus proximal de la tête humérale et le point le plus distal de la trochlée. Les mesures ont été effectuées en utilisant une planche ostéométrique.



*Figure 20 : Positionnement des régions d'intérêt étudiées à 30 %, 50 % et 70 % de la longueur maximal de l'os.*

Ces trois régions ont été définies à distance les unes des autres afin d'évaluer le degré de variation entre des régions éloignées et sa potentielle influence sur l'identification d'espèce.

## 2. ÉCHANTILLON HUMAIN

---

### 2.1. LE SITE DE LA GRANÈDE

Localisé dans le sud du Massif Central, sur la commune de Millau (Aveyron), le site de La Granède est un site de hauteur réunissant les vestiges d'une église, de trois remparts successifs et d'un probable habitat. Connus depuis les années 1920, il a été étudié en 1951 par Louis Balsan (Balsan, 1951, 1958 et 1965) puis par Philippe Gruat dans les années 1990. Une nouvelle série de fouilles récentes a ensuite été entreprise à partir de 2006 sous la direction de Christophe Saint-Pierre (Saint-Pierre, 2010 et 2013). Ces fouilles ont mis en évidence un lieu de culte antique datant du I<sup>er</sup> siècle de notre ère ainsi qu'une église comprenant deux états architecturaux distincts, le premier datant du 5<sup>ème</sup> au 7<sup>ème</sup> siècles ap. J-C et le deuxième perdurant jusqu'au 10<sup>ème</sup> siècle ap. J-C.

#### 2.1.1. Population

L'espace de l'église rassemble un grand nombre d'inhumations dont 13 découvertes par Louis Balsan et 448 fouillées depuis la reprise des excavations en 2006. Ces inhumations sont majoritairement situées au sud et à l'ouest de l'église et se répartissent en plusieurs types de sépultures coexistant au sein de l'espace funéraire. Les fouilles ont mis en évidence des tombes en bâtières de dalles de calcaire, en coffres couverts de dalles ou moellons de calcaire, des coffrages de bois, des coffres mixtes, quelques cas de sarcophages en tuf et couvertures en dalles de calcaire ainsi qu'une sépulture naviforme et des sépultures rupestres (Figure 21). L'orientation principale des tombes suit l'axe est-ouest, la tête du défunt placée à l'ouest, hormis cinq sépultures orientées selon l'axe nord-sud, vraisemblablement en raison du manque d'espace près des murs de l'église. En outre, les sépultures sont majoritairement individuelles à l'exception de deux cas de sépultures multiples. La présence de réductions a également été signalée, la plupart sont situées à proximité d'une sépulture primaire et sans aménagement spécifique.



Figure 21 : Sépulture 64 en coffre de dalles de calcaire contenant le sujet 50 (à gauche) et sépulture 65 naviforme contenant l'individu 46 à droite (d'après Saint-Pierre, 2013).

L'étude anthropologique des squelettes, menée sur le terrain et en laboratoire a permis d'obtenir une estimation de l'âge des individus par cémentochronologie (Naji *et al.*, 2015) et de leur sexe grâce à la méthode de Diagnose Sexuelle Probabiliste (DSP : Bruzek, 2002 ; Murail *et al.*, 2005). Toutes les tranches d'âge, de la naissance à un âge avancé, sont représentées ainsi que les deux sexes. Il semble que la population inhumée sur le site de La Granède corresponde à une population « villageoise » (Saint-Pierre, 2010 et 2013). Un espace, situé à ouest, apparaît cependant attribué à des individus spécifiques, immatures ou présentant des pathologies handicapantes.

### 2.1.2. Sélection des individus



L'autorisation d'accès à la collection de la Granède nous a été donnée par Ch. Saint-Pierre, responsable des dernières fouilles du site ainsi que par Patrice Courtaud, en charge des collections de l'ostéothèque de Pessac (UMR 5199 PACEA - DRAC Aquitaine - Ville de Pessac) où la collection de la Granède est conservée.

Nous avons sélectionné des sujets adultes, âgés entre 19 et 59 ans, en privilégiant, dans la mesure du possible, les individus âgés de plus de 20 ans et de moins de 50 ans, afin de minimiser les effets de l'âge sur l'organisation microstructurale de l'os cortical. Nous avons, cependant, dû inclure certains sujets en dehors de cette variation, dans le but d'augmenter notre échantillon. La latéralisation des ossements ne représentant pas un critère essentiel de la sélection, nous avons retenu pour chaque individu l'os le mieux préservé de la paire (Figure 22).

L'échantillon comprend les fémurs de 8 hommes et de 9 femmes, ne présentant aucun signe de pathologie.

*Figure 22 : Fémur gauche de l'individu GRA\_Su\_50 du site de la Granède.*

### 3. ÉCHANTILLON FAUNIQUE

---

Les espèces animales analysées dans ce travail ont été sélectionnées en fonction de leur présence fréquente en contexte archéologique et forensique (Cuijpers, 2009 ; Pokines, 2015). Les spécimens ont été collectés dans des boucheries de quartier de l'agglomération bordelaise (Bordeaux, Talence et Pessac, en Gironde) avec l'addition de trois spécimens fournis par des consommateurs. L'échantillon se compose de 13 ossements de *Bos taurus* (9 fémurs et 4 humérus, Figure 23) et 24 ossements de *Sus scrofa* domestique (13 fémurs et 11 humérus), issus de sujets adultes ou de taille adulte dont le sexe et l'âge exact n'ont malheureusement pas pu nous être communiqués par les bouchers (Tableau 5). Les ossements animaux récupérés en boucherie ont nécessité un long traitement afin d'être complètement nettoyés et exploitables.

Tableau 5 : Tableau récapitulatif de l'effectif de l'échantillon faunique.

<i>Espèce</i>	<i>Humérus</i>		<i>Fémurs</i>		<i>Total</i>
	<i>D</i>	<i>G</i>	<i>D</i>	<i>G</i>	
<i>Bos taurus</i>	1	3	5	4	13
<i>Sus scrofa</i>	6	5	9	4	24
<i>Total</i>	15		22		37



*Figure 23 : Fémur droit du sujet BT10 et humérus droit du sujet BT6.*

### **3.1. SÉLECTION DE LA MÉTHODE DE DÉCHARNEMENT ET DE DÉGRAISSAGE**

Plusieurs méthodes de nettoyage d'ossements frais existent. Chacune d'elles ne présente pas les mêmes contraintes de temps ou d'équipement, ni les mêmes effets sur la conservation de l'os. Les méthodes les plus écologiques sont les techniques naturelles d'enfouissement, de compostages ou l'utilisation d'insectes (David et Payne, 1992 ; Lemoine, 2012). Cependant, il s'agit de méthodes de longue durée pouvant, en outre, exposer les ossements à des altérations taphonomiques dues, par exemple, à l'action de rongeurs ou le développement de racines (Lemoine, 2012). Certains chercheurs préconisent un traitement par macération dans de l'eau à température ambiante afin de préserver l'os (Hugues, 2012), néanmoins, ce procédé peut également durer plusieurs mois. Afin d'accélérer la dégradation des chairs ou le dégraissage, il est possible d'ajouter des agents chimiques à la macération (Lemoine, 2012 ; Hugues 2012). Parmi eux, certains détergents ménagers tels que l'eau de javel ont été démontrés très efficaces pour

le nettoyage des ossements (Mann et Berryman, 2012). Ces produits s'avèrent, de plus, peu coûteux et faciles à obtenir. L'utilisation d'enzymes ajoutées en macération permet également un nettoyage et un dégraissage rapide (Lemoine, 2012). En effet, certaines enzymes comme des protéases ou des lipases sont utilisées respectivement pour l'élimination des chairs et des graisses (Shelton et Buckley, 1990 ; Simonsen *et al.*, 2011 ; Lemoine, 2012). Toutefois, ces additifs sont souvent agressifs pour l'os et provoquent des dégradations de sa structure (Shelton et Buckley, 1990 ; Fenton *et al.*, 2003 ; Steadman *et al.*, 2006 ; Fernández-Jalvo et Monfort, 2008).

Par ailleurs, la technique de cuisson par bain chaud est traditionnellement la plus souvent utilisée pour se débarrasser des chairs et des graisses en quelques jours (Walsh-Haney *et al.*, 2008 ; Quatrehomme *et al.*, 2015). Ce traitement est plus rapide que la macération en eau à température ambiante et moins problématique que les méthodes ayant recours à des agents chimiques. Il s'agit de la technique que nous avons choisi de mettre en œuvre pour le traitement de nos ossements fauniques frais car elle est très simple, peu coûteuse et surtout, elle représente un bon compromis entre la rapidité de nettoyage et la préservation de l'os (Fenton *et al.*, 2003). Lander *et al.* (2014) se sont intéressés aux effets des bains à hautes températures sur la microstructure osseuse. Leurs analyses ne montrent pas de différences histologiques significatives entre les ossements bouillis et les échantillons tests. Ces auteurs remarquent, toutefois, une érosion de la surface de l'os accompagnée de l'apparition de petites cavités. La cuisson à haute température peut, en effet, avoir ce type de conséquences sur l'aspect de surface des ossements (Fernández-Jalvo et Monfort, 2008). En outre, cette technique a un effet délétère sur l'ADN et doit donc être évitée dans l'éventualité d'analyses biomoléculaires (Arismendi *et al.*, 2004 ; Fernández-Jalvo et Monfort, 2008).

## 3.2. PROTOCOLE DE NETTOYAGE

Les ossements frais d'animaux provenant de boucheries ont été traités en une succession de bains chauds de plusieurs heures. Le premier bain sert à la cuisson et l'élimination des restes de chairs et de cartilages. Comme cela a déjà été mentionné dans la littérature (Fenton, 2003), la cuisson par ébullition est souvent insuffisante pour détacher complètement les cartilages des ossements. Nous les avons alors retirés manuellement à l'aide d'un scalpel à bout rond en prenant soin de ne pas endommager la surface des ossements. La deuxième étape de traitement correspond à l'élimination de la moelle osseuse. Afin de faciliter son évacuation, des incisions ont été effectuées au niveau des métaphyses des ossements (Hugues, 2012). Les os ont ensuite été placés dans des bains successifs d'eau frémissante entre lesquels nous avons retiré la graisse évacuée, renouvelé l'eau et rincé les ossements, jusqu'à leur nettoyage complet.

## 3.3. PRÉPARATION DES CAROTTES OSSEUSES

Afin de faciliter les acquisitions aux rayons X des échantillons fauniques, nous avons carotté les ossements à l'aide d'une perceuse à colonne en utilisant un trépan diamanté cylindrique de 10 mm de diamètre. Ces échantillons de petite taille nous ont permis d'optimiser leur transport et leur acquisition scanner. En effet, leur format permet de les placer dans le même support et ainsi de réaliser des scans de plusieurs zones éloignées d'un même os à la suite et sans intervention manuelle (Figure 24).

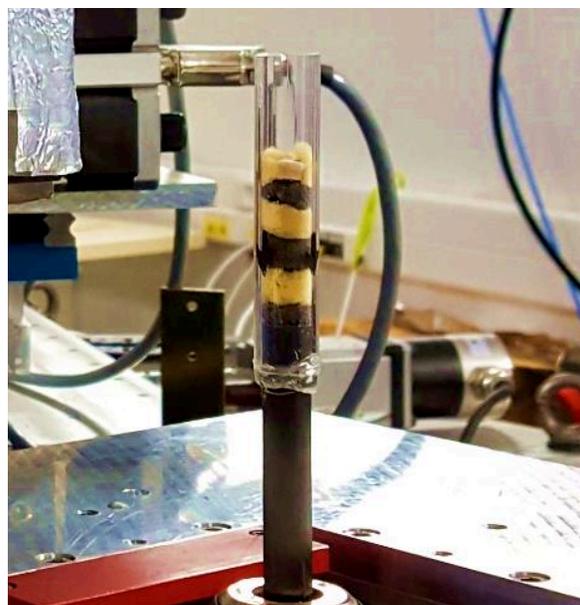


Figure 24 : Carottes osseuses de l'individu BT10 placé dans un support cylindrique en PMMA.

# MÉTHODE

---

# 1. ACQUISITIONS

---

## 1.1. TOMOGRAPHIE À RAYON X

### 1.1.1. Principe

La tomographie est une technique d'imagerie non-invasive permettant l'accès aux structures internes d'objets solides en 3D. Elle a été mise au point au début des années 1970 par G.N. Hounsfield et A.M. Cormack à des fins médicales. Son principe a été utilisé par Jim Elliott pour la mise au point de la microtomographie ( $\mu$ CT) dans les années 1980, appareillage dont la taille du pixel est à l'échelle micrométrique. Depuis une vingtaine d'années la  $\mu$ CT fait partie des outils de référence pour l'analyse de la microstructure osseuse trabéculaire et, plus récemment, corticale (Bousson *et al.*, 2004 ; Cooper *et al.*, 2003, 2007 et 2011 ; Basillais *et al.*, 2007 ; Britz *et al.*, 2010).

Le principe physique de la tomographie repose sur la mesure du degré d'absorption de rayons X par la matière. En effet, les rayons X sont des ondes électromagnétiques de haute fréquence, atténués lorsqu'ils traversent différents matériaux (Doyon, 2000 ; Seret et Hoebeke, 2008 ; Dillenseger et Moerschel, 2009 ; Guinebretière et Goudeau, 2015). Cette atténuation varie, suivant la loi d'atténuation de Beer-Lambert (représentée par l'équation ci-dessous) en fonction de plusieurs paramètres : la densité du matériau traversé (coefficient d'atténuation,  $\mu$ ), l'épaisseur du matériau ( $x$ ) et l'intensité du faisceau de rayons X à l'entrée du matériau ( $I_0$ ) :

$$I_1 = I_0 e^{-\mu x}$$

Lors d'une acquisition tomographique, l'objet à analyser est placé entre une source de rayons X et un détecteur mesurant l'intensité du faisceau de rayons X à la sortie de l'objet ( $I_1$ ). Le détecteur enregistre l'ensemble des projections (ou radiographies) de l'absorption des rayons par l'échantillon en coupes transversales et selon un angle de rotation défini (Figure 25).

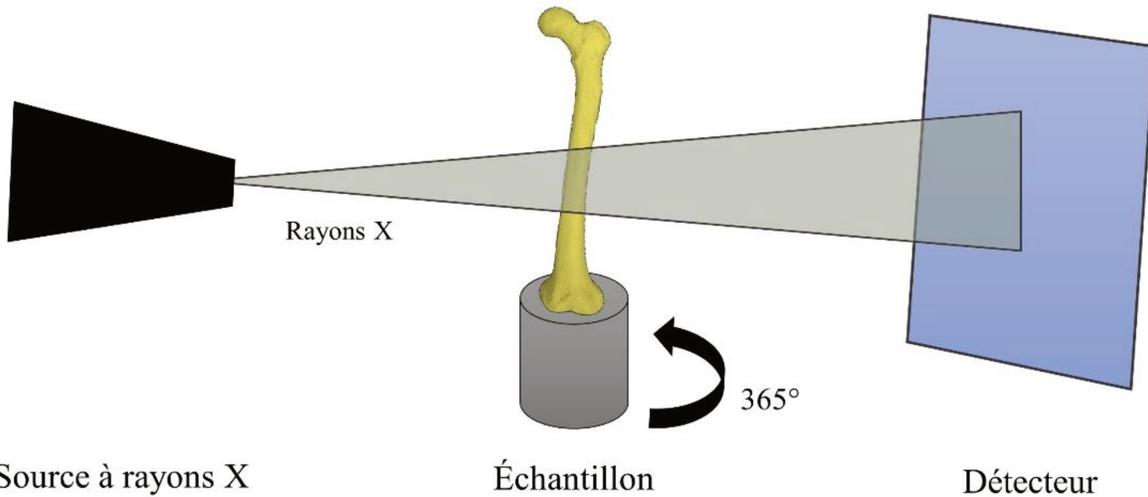


Figure 25 : Schéma du dispositif d'une acquisition tomographique : l'objet est placé sur un support rotatif entre la source de rayons X et le détecteur.

Les coupes reconstruites représentent des matrices divisées en voxels (unité discrète de volume), chaque voxel étant associé à un coefficient d'atténuation. L'intensité de rayon mesurée par le détecteur à la sortie de l'objet ( $N_i$ ) correspond à la somme des coefficients d'atténuation ( $\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_n$ ) des voxels traversés par le rayon (Figure 26).

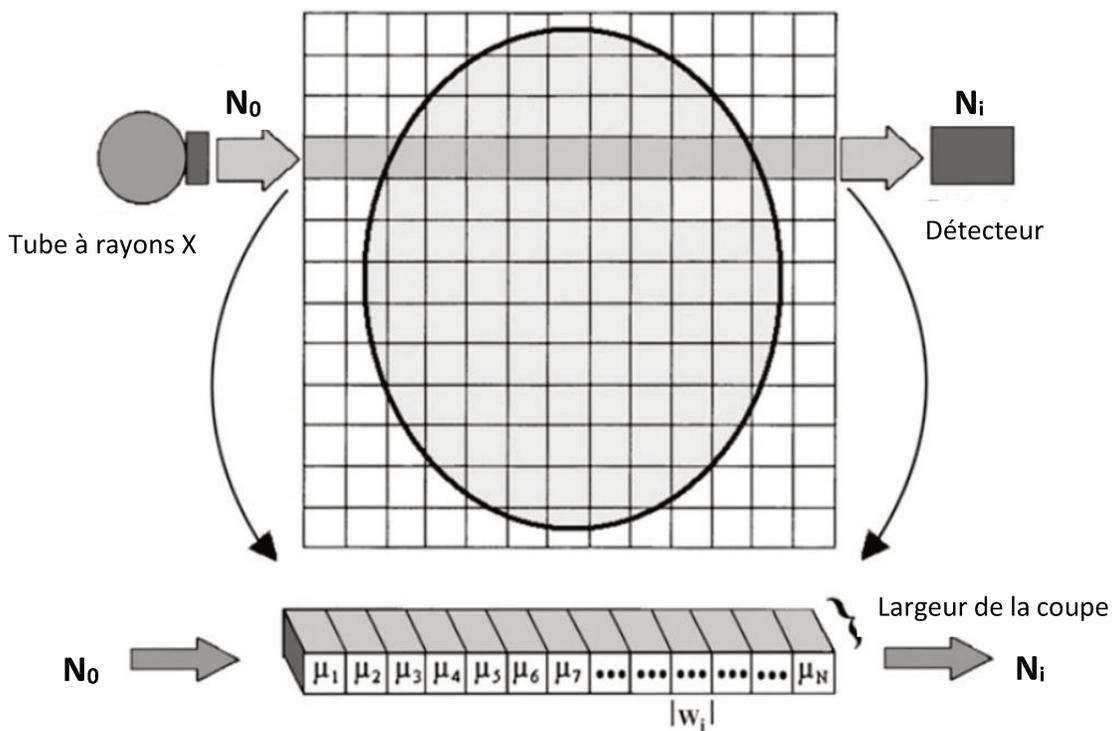


Figure 26 : Matrice de reconstruction :  $N_0$  correspond à l'intensité du faisceau à l'entrée de l'objet et  $N_i$  la somme des coefficients d'atténuation ( $\mu_0, \mu_1, \dots, \mu_n$ ) rencontrés par les rayons X (d'après Goldman, 2007).

Des algorithmes mathématiques, itératifs ou de rétroprojection filtrée, permettent ensuite de traduire les degrés d'absorption locaux en niveaux de gris afin de reconstruire l'image volumique de l'objet (Goldman, 2007 ; Peter et Peyrin, 2011 ; Hsieh, 2015).

### 1.1.2. Qualité de l'image

#### 1.1.2.1. Rapport signal sur bruit

La qualité d'une image reconstruite se mesure selon le « rapport signal sur bruit » (ou *Signal to Noise Ratio*, SNR). Celui-ci représente la force du signal utile par rapport aux bruits ou artefacts enregistrés lors d'un scan. Il rend compte de la netteté et de la lisibilité des images acquises. Le SNR dépend à la fois des caractéristiques de l'appareillage utilisé (capacité de la source à rayons X, tension...) et des paramètres d'acquisition. Il est par exemple possible d'accroître l'intensité du signal de départ, mais cela a également pour effet d'augmenter la dose de radiations émises. L'amélioration de la résolution spatiale (la taille du voxel, l'unité volumique d'une image 3D), du nombre de projections enregistrées (nombre de points de vue utilisés pour la reconstruction de l'objet) ou encore du temps d'exposition de chaque projection permettent également d'optimiser la qualité de l'image mais prolongent proportionnellement le temps d'acquisition (Bousxein *et al.*, 2010 ; Peter et Peyrin, 2011).

#### 1.1.2.2. Artefacts de reconstruction

Parmi les artefacts courants pouvant altérer la qualité de reconstruction d'une image tomographique, on peut noter les exemples suivants :

- Les **artefacts en anneau** (*Ring Artefacts*) sont les plus courants. Ils correspondent à des pixels morts du détecteur numérique qui renvoient une information erronée sur toutes les coupes enregistrées. Cela se traduit sur l'image reconstruite par des cercles clairs ou sombres centrés sur l'axe de rotation de la pièce (Guinebretière et Goudeau, 2015 ; Doyon, 2000).
- Le **beam hardening** correspond à un durcissement du faisceau de rayons X en raison de différences d'épaisseur de l'objet. Le faisceau est atténué progressivement en traversant un matériau épais et interagit de moins en moins avec la matière au fur et à mesure de sa

progression. Ce phénomène est lié à la nature polychromatique du faisceau X qui comprend des photons X d'énergies différentes. La fraction du faisceau de faible énergie est rapidement absorbée contrairement aux photons de haute énergie qui traversent l'objet. On observe alors des variations artificielles de niveaux de gris. Ce type d'artéfact peut être évité en plaçant un filtre métallique entre la source et l'objet (Plougonven, 2009 ; Bouxsein *et al.*, 2010 ; Guinebretière et Goudeau, 2015).

- **L'effet de volume partiel** survient lorsque deux matériaux de densité différente sont contenus dans un même voxel. La valeur d'atténuation du voxel est influencée par les deux matériaux et la délimitation entre ces deux éléments apparaît alors floue, en dégradé de gris (Pyka *et al.*, 2014). Cela peut poser problème pour la segmentation des structures et la justesse des mesures effectuées à partir de cette segmentation. Afin de réduire au maximum l'effet de volume partiel on peut diminuer la taille du voxel.

#### 1.1.2.3. Résolution

L'un des points déterminant de l'analyse d'images est le choix de la résolution spatiale utilisée (Pyka *et al.*, 2014). Nous avons vu qu'elle influence la qualité des images obtenues : plus la résolution spatiale est élevée, meilleur sera le SNR. Toutefois, il est également important de noter que l'augmentation de la résolution spatiale induit un temps d'acquisition plus long et une fenêtre de vision plus restreinte car le nombre de pixels du détecteur reste fixe (Peter et Peyrin, 2011). Il est donc important de trouver un compromis entre une taille de voxel la plus basse possible et une région d'intérêt représentative.

La taille du voxel doit également être adaptée aux structures analysées afin de garantir la qualité des mesures effectuées à partir des images. Le ratio taille de l'objet / taille du voxel doit idéalement être supérieur à 2 (Bouxsein *et al.*, 2010). Cooper *et al.* (2007a) ont notamment évalué l'effet de la résolution spatiale sur l'analyse quantitative du réseau canalaire cortical d'un échantillon d'os humain. Selon leur étude, les paramètres métriques de l'organisation des canaux corticaux varient de façon non négligeable avec la taille du voxel. Ces résultats confirment ceux obtenus auparavant pour l'os trabéculaire (Peyrin *et al.*, 1998 ; Kim *et al.*, 2004 ; Christiansen, 2016). En ce qui concerne les canaux corticaux, Cooper et collaborateurs préconisent une taille de voxel inférieure à 5  $\mu\text{m}$  afin de prendre en compte tous les canaux de l'os cortical humain, y

compris les plus fins. Bien entendu, pour l'analyse de l'os cortical d'espèces animales possédant des canaux moins épais que l'Homme, il est nécessaire d'utiliser une taille de voxel encore plus réduite (Cooper *et al.*, 2007a ; Martiniaková *et al.*, 2006 ; Britz *et al.*, 2012b).

La résolution influence également la qualité de la segmentation d'image, plus la résolution est précise et plus les interfaces entre les différents matériaux sont discernables. Une taille de voxel basse, permet notamment d'éviter les effets de volume partiel.

### **1.1.3. Apports du rayonnement Synchrotron par rapport à la $\mu$ CT classique**

Le synchrotron est un accélérateur de particules à haute énergie visant à produire un rayonnement. Il émet de la lumière allant de l'infra-rouge aux rayons X. L'utilisation de la microtomographie ( $\mu$ CT) par rayonnement synchrotron présente un certain nombre d'avantages comparée à la  $\mu$ CT classique de laboratoire. En effet, la lumière synchrotron possède une très grande intensité permettant de réaliser des acquisitions à très haute résolution tout en conservant un SNR élevé et des temps de scan très courts. Par ailleurs, les images obtenues grâce à cet appareillage sont moins soumises aux artéfacts, en particulier car le faisceau synchrotron est monochromatique, c'est-à-dire que les photons X qui le composent possèdent la même énergie. Cela permet notamment d'éviter les effets de durcissement du faisceau (*beam hardening*). Enfin, il s'agit d'un faisceau parallèle permettant d'éviter les artéfacts de reconstruction liés à la forme conique de faisceau utilisé dans la plupart des  $\mu$ CT de laboratoire (Peyrin , 2009 ; Cooper *et al.*, 2011 ; Peter et Peyrin , 2011).

Les caractéristiques de la  $\mu$ CT par rayonnement synchrotron ouvrent en particulier de nouvelles perspectives de recherche sur l'os cortical. Les résolutions élevées permettent l'accès aux très petites structures telles que les canaux vasculaires de certaines espèces animales comme le rat ou la souris (Matsumoto *et al.*, 2006 ; Britz *et al.*, 2012b) ou encore les lacunes ostéocytaires de l'os cortical (Carter *et al.*, 2013 ; Schneider *et al.*, 2010). En outre grâce à l'imagerie par contraste de phase (Gureyev *et al.*, 2008 ; Zhou et Brahme, 2008 ; Zehbe *et al.*, 2010) il est maintenant possible de visualiser des tissus possédants des atténuations identiques ou très proches et par conséquent non visibles par les méthodes classiques d'imagerie basées sur l'atténuation des rayons X (Gureyev *et al.*, 2008 ; Zhou et Brahme, 2008 ; Zehbe *et al.*, 2010). Les études de Copper

*et al.*, (2011) ainsi que celles de Maggiano *et al.*, (2016) ont notamment montré l'intérêt de cette technique pour la visualisation et l'analyse des ostéons. Le contraste de phase rend visible la démarcation (ligne cémentaire) entre les lamelles osseuses de l'ostéon entourant le canal de Havers et le reste de l'os et permet de reconstruire l'ostéon en 3D afin d'étudier son cheminement et ses embranchements.

## **1.2. PROTOCOLE D'ACQUISITION DES IMAGES**

Dans le cadre d'un projet de recherche porté par Hélène Coqueugniot, nous avons pu bénéficier de plusieurs jours d'acquisition sur la ligne PSICHE (Pression Structure Imagerie par Contraste à Haute Énergie) du synchrotron SOLEIL (Saclay, France), dirigée par Jean-Paul Itié. Cette ligne est dédiée à l'utilisation de rayons X lors d'expériences sous conditions extrêmes (températures ou pression) ainsi qu'à la tomographie par contraste d'absorption en haute énergie.

La taille de nos prélèvements d'os de porc et de vache nous a permis d'effectuer des scans globaux de ces échantillons. En revanche, nous avons dû réaliser des tomographies locales des échantillons humains placés en entier dans le support (Figure 27). La tomographie locale est utilisée lorsque l'objet à scanner est plus grand que le champ de vue, il est alors possible de scanner un sous-volume de l'objet. Cela permet de réduire la zone d'acquisition à une région choisie et de conserver la même résolution spatiale pour tous nos spécimens. Le nombre de projections et le temps d'exposition par projection ont été augmentés pour ces spécimens afin de garantir une qualité de scan équivalente aux spécimens animaux.



Figure 27 : Exemple d'un fémur humain en place dans la platine de rotation de la ligne PSICHE.

L'ensemble des paramètres d'acquisition est présenté dans le Tableau 6 suivant. La résolution spatiale définie lors de la mise en place des acquisitions est de  $2.45 \mu\text{m}$ . Elle correspond à la taille du voxel et influence la résolution de mesure<sup>1</sup>, définie pour la ligne PSICHE à deux fois la résolution spatiale, soit  $4,9 \mu\text{m}$  (King *et al.*, 2016).

Tableau 6 : Paramètres d'acquisition des scans.

<b>Échantillons</b>	<b>Humains</b>	<b>Animaux</b>
<b>Nombre de projections</b>	1500	4000
<b>Scan Range</b>	180	360
<b>Temps d'exposition par projection (ms)</b>	30	70
<b>Nombre d'images de référence</b>	31	31
<b>Nombre d'images de référence noires</b>	31	31
<b>Résolution spatiale (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	2,45	2,45
<b>Énergie (KeV)</b>	37	37

<sup>1</sup> Résolution minimale à laquelle il est possible de différencier deux points distincts

## 2. TRAITEMENT DES IMAGES

---

Les images de notre étude ont été acquises en 32 bits et converties ensuite en 16 bits afin de faciliter leur traitement tout en conservant les mêmes paramètres de niveaux de gris. Nous avons choisi de ne pas diminuer artificiellement la résolution de nos images afin d'assurer une bonne visualisation et segmentation des petits canaux corticaux, en particulier chez les espèces animales. En effet, les canaux corticaux de la vache et du porc présentent des diamètres de l'ordre d'une dizaine de microns, il était donc important de garder notre résolution de mesure de départ de  $4,9\ \mu\text{m}$ , comme recommandé par Cooper *et al.* (2007a). La Figure 28 résume les grandes étapes de notre protocole d'analyse.

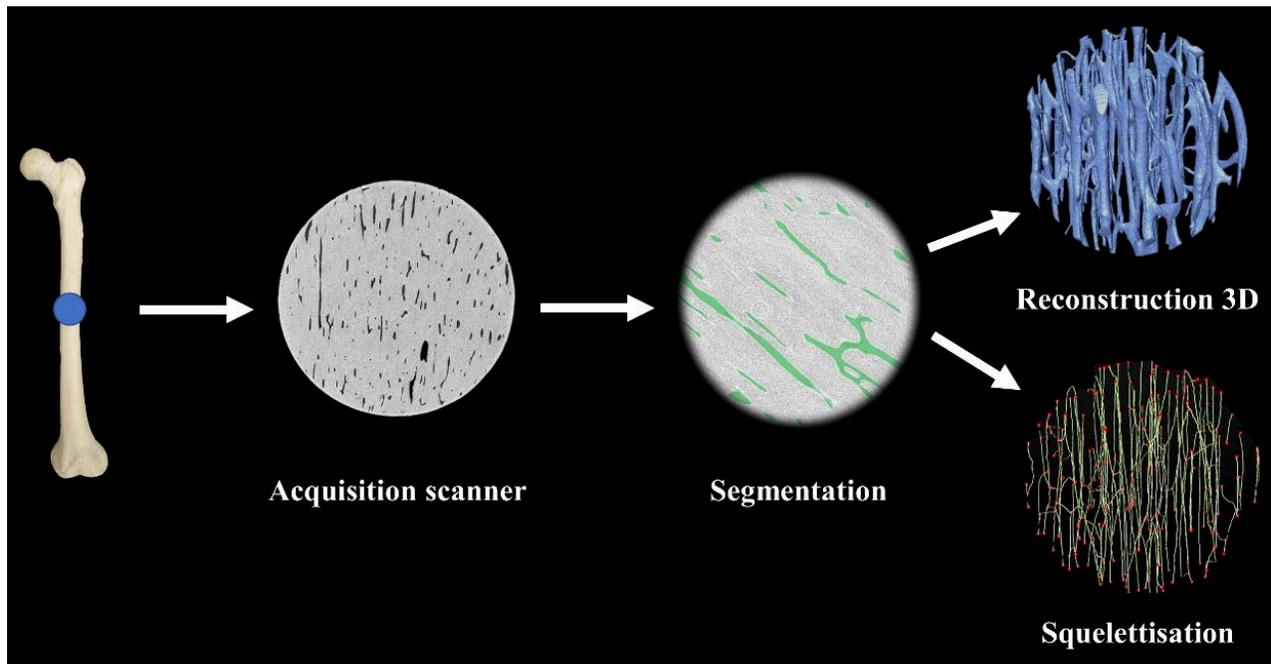


Figure 28 : Étapes du protocole de traitement et d'analyse des images.

## 2.1. SÉLECTION DES VOLUMES D'INTÉRÊT

En raison de la taille importante des fichiers acquis il n'a pas été possible de reconstruire le volume entier des scans. Dans cette optique, nous avons dû composer avec la taille importante des fichiers à traiter et la capacité de nos logiciels d'analyse d'images en réduisant les volumes d'intérêts (VOI) analysés. Les VOI sont centrés sur la région scannée (ROI), elle-même déjà définie selon un repère anatomique déterminé (le pourcentage de la longueur totale de l'os). Le VOI 1 correspond à la partie médiane de la diaphyse (50 % de la longueur totale), le VOI 2 à la partie proximale (30 %) et le VOI 3 la partie distale (70 %). Les zones reconstruites mesurent 500 slices (coupes) de hauteur soit 1,225 mm et 1000 slices (coupes) de largeur et profondeur c'est-à-dire 2,45 mm. Nous avons privilégié l'axe de l'épaisseur de la corticale afin d'enregistrer les changements d'organisation osseuse possibles entre la surface externe de l'os et l'endoste.

## 2.2. SEGMENTATION

Le traitement des images a été effectué sur le logiciel TIVMI® (*Treatment and Increased Vision for Medical Imaging*) développé par Bruno Dutailly (UMR 5199 PACEA) ainsi que le logiciel *ImageJ*® (FIJI). La première étape de ce traitement correspond à la segmentation des images. Il s'agit de séparer les différents éléments représentés en dissociant, dans notre cas, la portion osseuse d'une part et le vide des canaux corticaux d'autre part. La segmentation des canaux corticaux a été réalisée dans le logiciel TIVMI® grâce à l'algorithme HMH (*Half-Maximum Height*, (Spoor, 1993 ; Dutailly, 2009) qui distingue les matériaux en fonction de leur niveau de gris. Cette technique définit un seuillage correspondant au niveau de gris moyen entre deux matériaux et permettant de différencier ces matériaux selon des valeurs prédéfinies par l'utilisateur (Dutailly, 2016).

Les images obtenues pour nos spécimens animaux présentaient un très bon contraste entre le vide des canaux et l'os. Il nous a donc été facile de définir un seuillage sur le logiciel. Cependant, malgré la qualité d'image améliorée par le rayonnement synchrotron, nous avons rencontré des problèmes de bruit sur les images des échantillons humains (Figure 29A). Nous avons, en effet, observé des variations de niveau de gris sur les images acquises. Afin de remédier à ce problème,

nous avons appliqué sur ces images un filtre numérique permettant de renforcer la distinction entre les niveaux de gris et faciliter la distinction entre l'os et le vide (Figure 29). Il s'agit du filtre *Non-local Means Denoising* implémenté dans le logiciel *ImageJ*® par Pascal Behnel et Thorsten Wagner ([https://imagej.net/Non\\_Local\\_Means\\_Denoise](https://imagej.net/Non_Local_Means_Denoise)). Ce filtre repose sur l'algorithme du même nom proposé par Buades *et al.* (2011) incluant également des éléments présentés par Darbon *et al.*, en 2008.

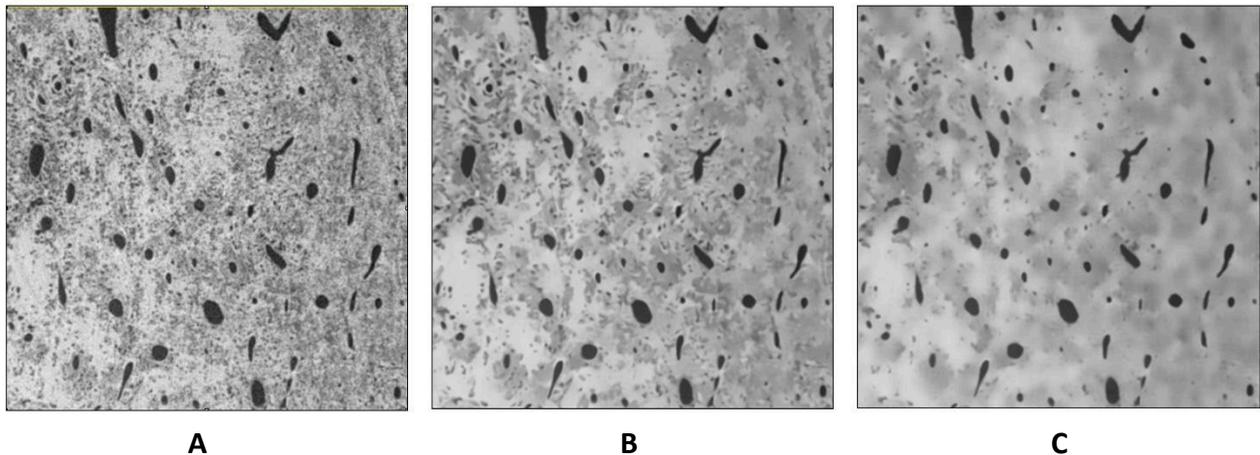
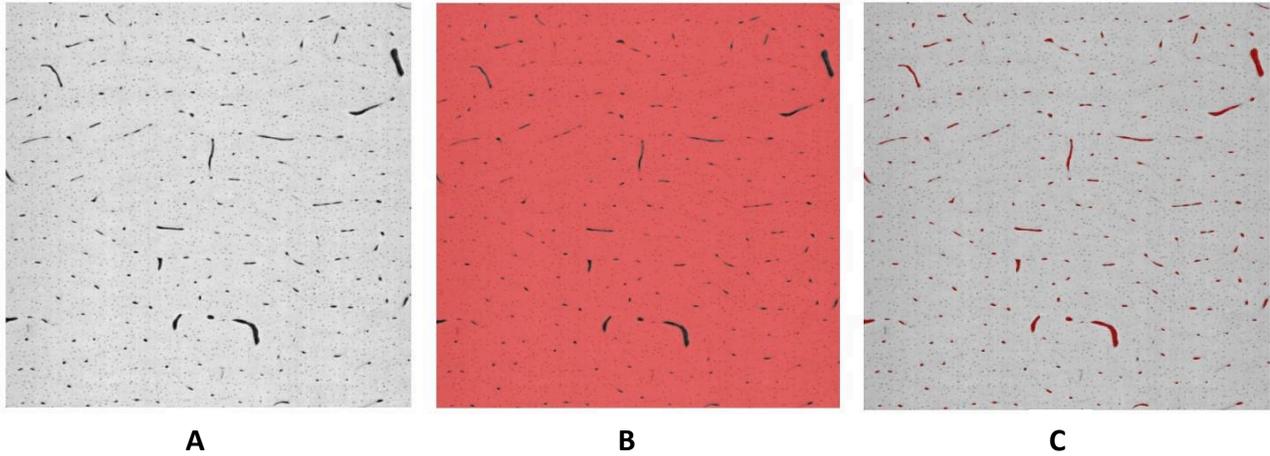


Figure 29 : *Non-local Means Denoising* (exemple du sujet humain Su-121\_Car1) : A) image originale, B) lissage à 75, C) lissage à 100.

La façon la plus simple de segmenter des structures poreuses est de sélectionner l'enveloppe osseuse puis de soustraire les canaux de l'ensemble (Peter et Peyrin, 2011), cela permet de ne perdre aucun élément isolé. Nous avons utilisé une méthode similaire pour extraire le réseau canalaire cortical. Elle consiste à sélectionner dans un premier temps la partie osseuse de l'image puis d'inverser la sélection (Figure 30). Nous pouvons ainsi nous assurer que tous les canaux sont bien sélectionnés.



*Figure 30 : Étapes de segmentation des canaux (exemple de la coupe 250 du scan du sujet BT10\_Car1) : A) coupe originale, B) sélection de l'os, C) utilisation de l'outil d'inversion de sélection et sélection des canaux corticaux.*

L'étape suivante, de nettoyage, repose sur les outils du menu *Selection Manipulation* de TIVMI® permettant de combler les potentiels interstices compris dans les canaux (causés par des voxels plus clairs à l'intérieur des canaux) et, inversement, de supprimer les petits espaces vides isolés mesurant quelques voxels mais ne correspondant pas à des canaux (Figure 31). Les étapes de ce traitement permettent une amélioration de la segmentation initiale sans modification de la structure ou des dimensions du réseau canalaire cortical.

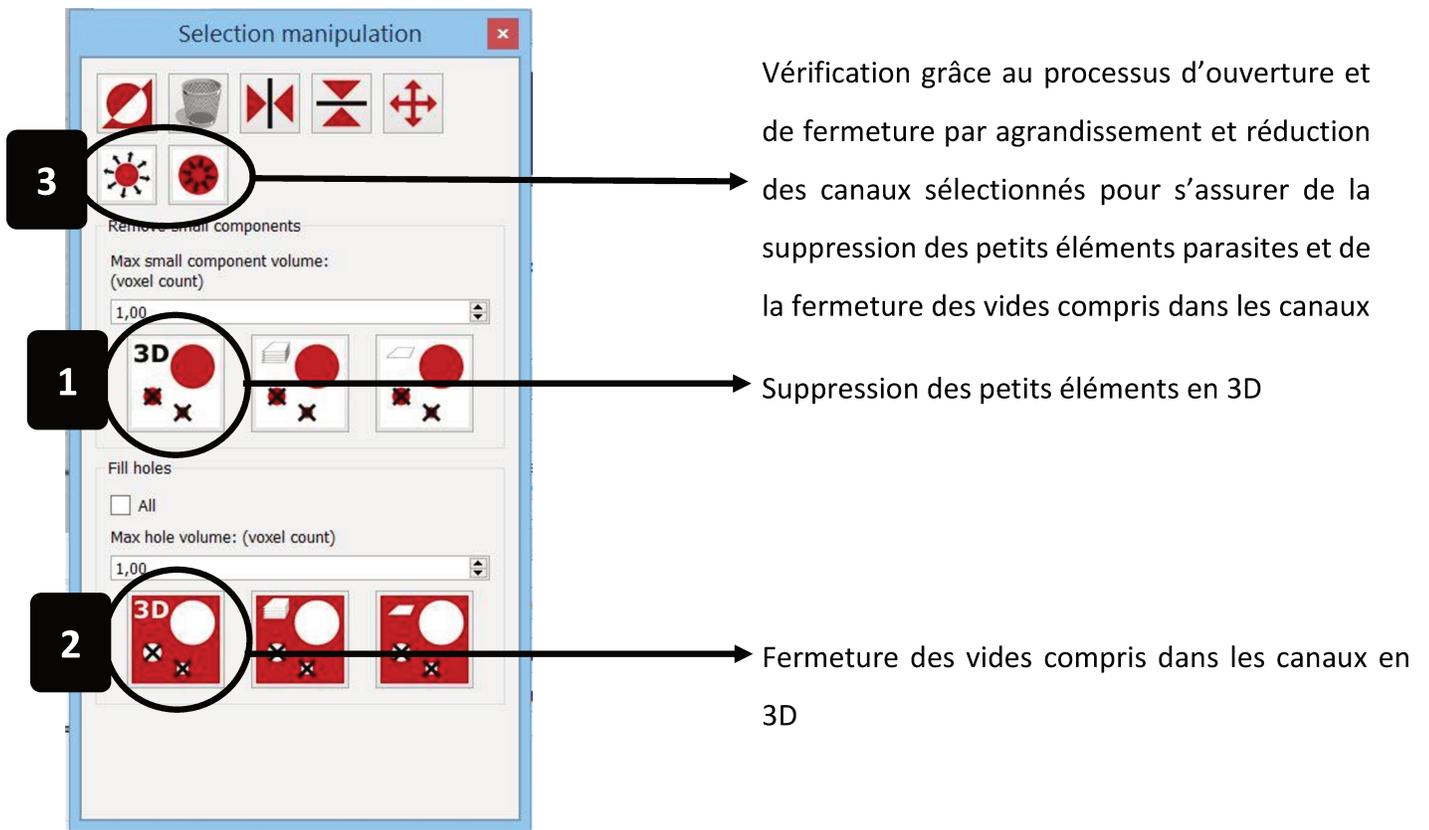
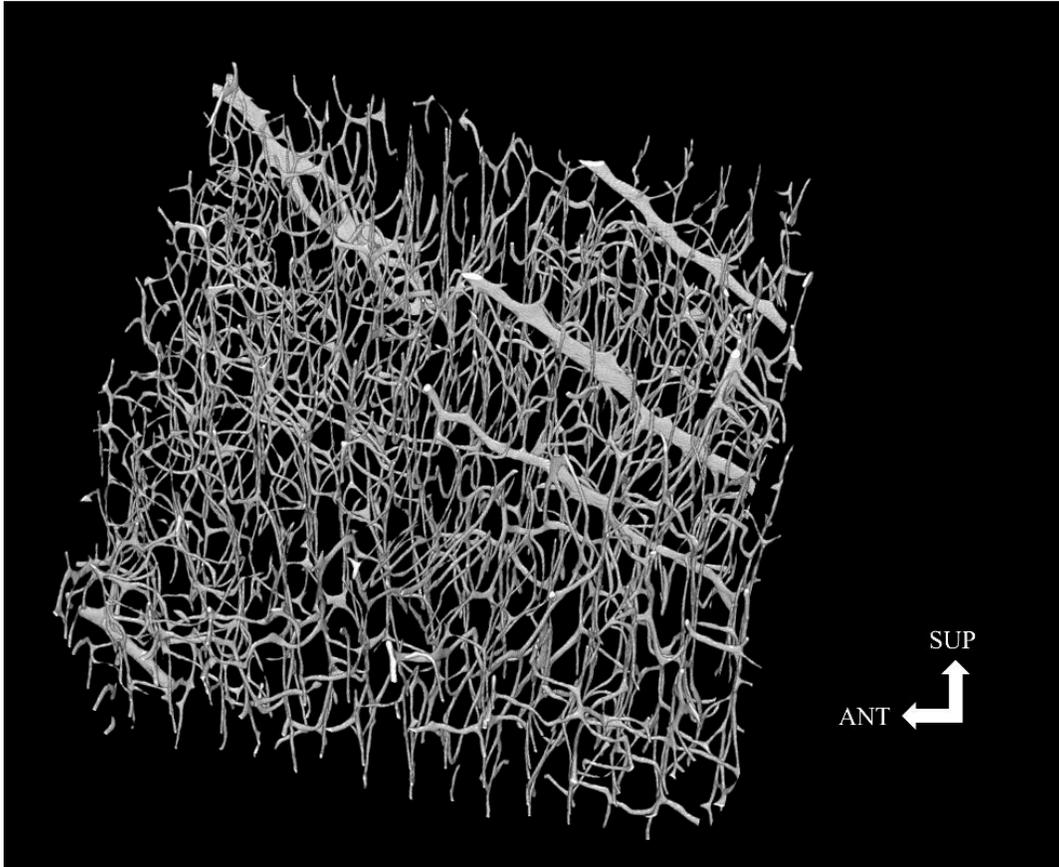


Figure 31 : Outils du menu Selection Manipuation du logiciel TIVMI® utilisés pour le nettoyage des segmentations et étapes du traitement des images.

Enfin, comme recommandé par Boussein *et al.* (2010), chacun des résultats des segmentations a été comparé aux coupes 2D des scans originaux afin de vérifier la bonne représentation du réseau canalaire.

Une fois cette étape de segmentation réalisée, une image binaire est obtenue (les canaux apparaissent en blanc et l'os en noir) à partir de laquelle le réseau canalaire est reconstruit en 3D (Figure 32). Cette reconstruction s'effectue grâce à l'algorithme HMH 3D du logiciel TIVMI® (Dutailly, 2009).



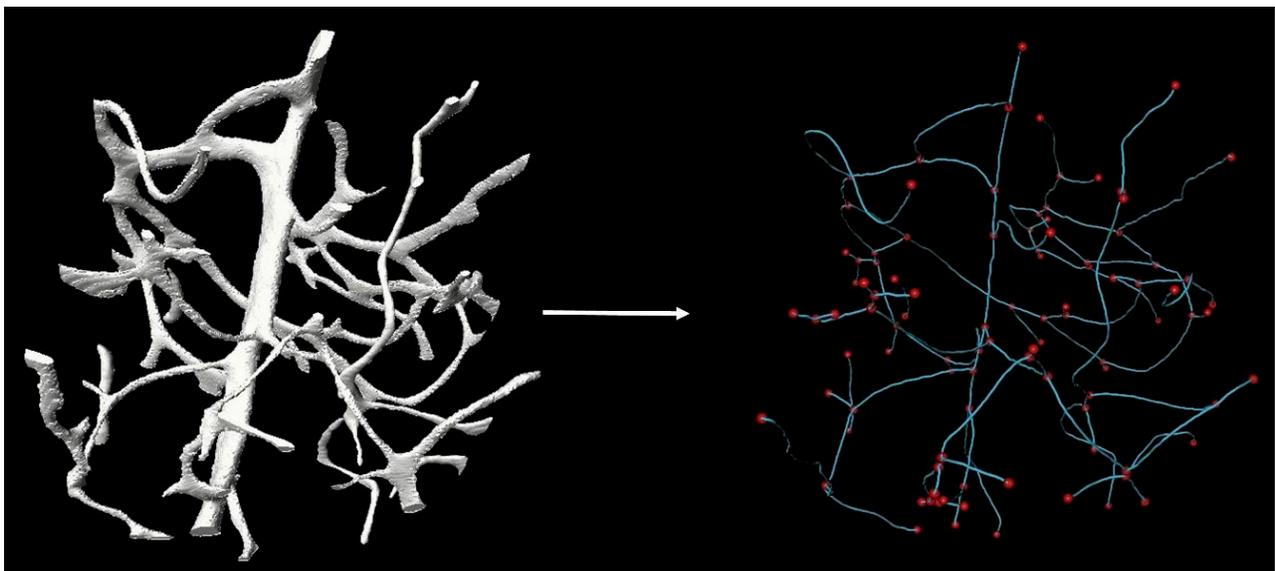
*Figure 32 : Reconstruction 3D du réseau canalaire de BT10\_Car1, vue médiale.*

### **2.3. SQUELETTISATION**

Décrit par Blum pour la première fois en 1967, le « squelette » d'un objet est une représentation simplifiée de cet objet qui conserve sa topologie (Plougonven, 2009 ; Douss, 2015) c'est-à-dire ses caractéristiques structurelles (nombre de nœuds, de segments et d'extrémités composant l'objet). L'une des méthodes de squelettisation fréquemment utilisées est la squelettisation par amincissement homotopique qui consiste à retirer de façon répétée des voxels de l'objet jusqu'à ne garder que son « squelette ». Chaque voxel du squelette est alors réparti entre nœud ou segment.

Les squelettisations du réseau canalaire cortical de nos échantillons ont été réalisées par Erwan Plougouven (Université de Liège) grâce à un traitement des images binaires obtenues après segmentation reposant sur un algorithme séquentiel d'amincissement homotopique (Bloch, 2017). Cet algorithme permet de définir le squelette d'un objet binaire en 3 dimensions (Pudney, 1998) en se basant sur une carte de distance euclidienne afin de définir l'ordre de suppression des pixels. La méthodologie mise en place inclut également une étape préalable de vérification visant à éviter les artefacts de squelettisation (erreurs d'interprétation de l'algorithme, présence des cavités d'un pixel dans la partie solide de l'objet ou inversement, Plougouven et Bernard, 2011).

La technique de squelettisation permet de transformer le réseau canalaire cortical en un ensemble d'éléments topologiques mesurables entre segments et nœuds (Figure 33) et donne accès aux données métriques du réseau.



*Figure 33 : Exemple de squelettisation pour une zone de 250 slices en 3 dimensions de BT 10\_car1 : les points rouges représentent les nœuds et les traits bleus les segments du squelette (image obtenue sur AVIZO®).*

## 3. VARIABLES

---

### 3.1. VARIABLES QUALITATIVES

Nous avons conservé deux éléments des descriptions classiques de l'organisation osseuse inspirés de l'histomorphologie : la détermination d'un type d'os ainsi que de l'organisation et la répartition globale des canaux au sein de nos VOI.

- **Le type d'os observé** est un élément important de distinction entre Homme et Animal. Notre attribution des réseaux canaux à un type donné se base sur l'organisation de la vascularisation corticale précédemment établie par de Riquès (1975), Francillon-Vieillot *et al.* (1990) et Brits *et al.* (2014) (Tableau 7).
- **L'organisation générale** des VOI reconstruite est répartie en VOI homogènes, présentant une organisation et une répartition des canaux uniformes sur l'ensemble du volume, ou hétérogènes, lorsque différentes zones sont identifiables au sein d'un même volume (Figure 34).

Tableau 7 : Classification des types d'os en fonction de l'organisation des canaux utilisée dans notre étude (adaptée d'après de Riqules 1975 ; Francillon-Vieillot et al., 1990 et Brits et al., 2014).

I. Tissus osseux avasculaires : tissu ne contenant aucun canal vasculaire

II. Tissus osseux vasculaires primaires :

1. *Orientation unique*

- a. *Canaux longitudinaux*
- b. *Canaux circulaires*
- c. *Canaux radiaires*
- d. *Canaux obliques*

2. *Orientations multiples*

- e. *Tissu osseux laminaire (canaux circonférentiels et longitudinaux)*
- f. *Tissu osseux plexiforme (canaux circonférentiels, longitudinaux et radiaux)*
- g. *Tissu osseux réticulaire (réseau irrégulier et désorganisé)*
- h. *Tissu osseux radial (canaux longitudinaux et radiaux)*

III. Tissus osseux vasculaire à canaux secondaires / os haversien :

- a. *Os haversien dense (réseau compact ne laissant que peu ou pas d'espace interstitiel)*
- b. *Os haversien irrégulier (quelques ostéons isolés et/ ou dispersés au sein du tissu osseux)*
- c. *Os haversien endostéal (ostéons uniquement présents aux abords de la surface endostéale)*

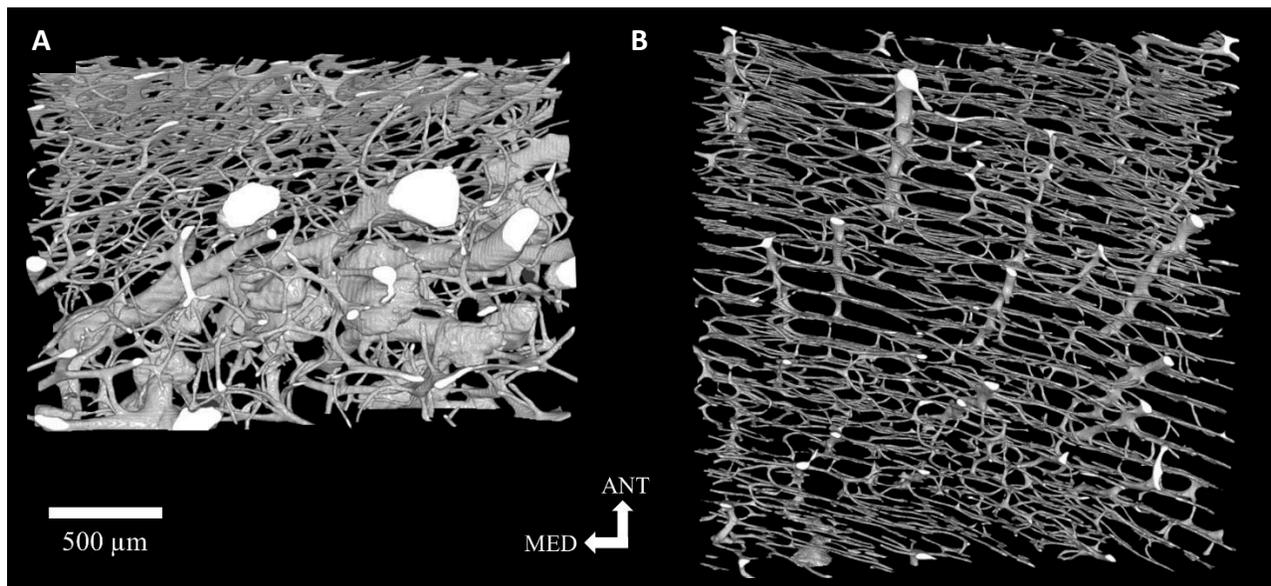


Figure 34 : A) organisation hétérogène de SS7\_Car3, B) organisation homogène de SS8\_Car1.

## 3.2. VARIABLES QUANTITATIVES

Une grande partie des critères utilisés pour décrire et caractériser la microstructure de l'os cortical tels que le diamètre des canaux et la porosité corticale, ont été définis en histomorphométrie. Depuis quelques années, grâce au développement des méthodes d'imagerie et l'application des techniques de squelettisation au réseau poreux cortical, de nouveaux paramètres métriques rendant compte de l'organisation tridimensionnelle du réseau sont disponibles. Ces paramètres sont similaires aux critères utilisés auparavant pour décrire os trabéculaire (Cooper *et al.*, 2003 ; Hildebrand *et al.*, 1999).

Dans le cadre de cette étude, 8 variables métriques ont été retenues (les abréviations ont été définies selon la nomenclature présentée par Parfitt *et al.*, 1987 et Dempster *et al.*, 2013) :

- **Volume** des canaux corticaux rapporté au volume total (CaV/TV)
- **Densité de connexions** (Ca.ConnD, mm<sup>-3</sup>)
- **Nombre de canaux** par unité de volume (Ca.N, mm<sup>-3</sup>)
- **Diamètres minimum, maximum et médian** des canaux (Ca.D.min, Ca.D.max, Ca.D.med, μm)
- **Longueur moyenne** des canaux (Ca.Le, μm).
- **Orientation** des canaux entre deux embranchements par rapport aux trois axes directionnels de scans (Ca.orX, Ca.orY et Ca.orZ, en degrés) : l'axe X représente le plan anatomique médio-latéral, l'axe Y le plan vertical et l'axe Z le plan supéro-inférieur.

Les orientations sont obtenues grâce au calcul du produit scalaire (V.W) des directions des canaux mesurées par squelettisation selon la formule suivante :

$$V.W = V_x * W_x + V_y * W_y + V_z * W_z$$

$$\text{Angle} = \text{ACOS} (V.W / (||V|| * ||W||))$$

V correspond au vecteur de l'axe directionnel (X, Y ou Z) défini par les directions V<sub>x</sub>, V<sub>y</sub> et V<sub>z</sub>, W au vecteur du canal défini par les directions (W<sub>x</sub>, W<sub>y</sub> et W<sub>z</sub>). Le produit scalaire est ensuite rapporté aux normes des deux vecteurs (||V|| et ||W||) afin d'obtenir le cosinus de l'angle entre ces vecteurs. Les angles sont ensuite calculés grâce à la fonction cosinus

(acos) du logiciel Excel®. Dans un souci de simplification nous avons utilisé le vecteur directionnel moyen des canaux calculé pour chaque individu.

Par ailleurs nous avons également déterminé la carte de répartition des orientations 3D de l'ensemble des canaux, par individu, grâce à l'outil *Spam* (*The Software for the Practical Analysis of Materials*, <https://ttk.gricad-pages.univ-grenoble-alpes.fr/spam/intro.html>, Jaquet *et al.*, 2013). Cet outil permet de projeter les canaux sur un cercle en fonction de leur direction afin d'observer leur répartition. De cette façon nous pouvons observer d'éventuelles orientations préférentielles des canaux à partir de deux représentations graphiques (Figure 35). Il s'agit de deux cercles correspondant à la projection en plan de la sphère 3D d'orientation, c'est-à-dire que le centre du cercle représente un canal totalement vertical et plus on s'éloigne du centre, plus le canal est oblique jusqu'à atteindre une orientation horizontale sur les bords du cercle. L'axe 0-180° correspond à l'axe X (médio-latéral) et l'axe 90-270° représente l'axe Y (antéro-postérieur). Le premier cercle représente la position de chaque canal en fonction de son orientation et le second la densité de canaux par zone d'orientation.

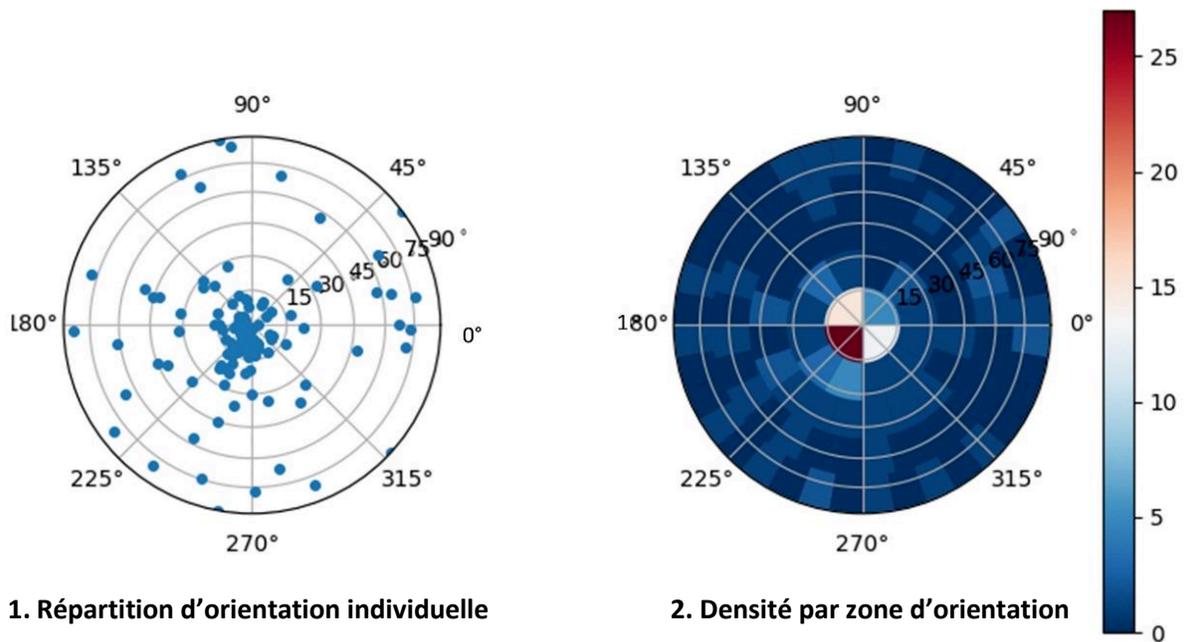


Figure 35 : Exemple de cartes de répartition et de densité d'orientation des canaux pour l'échantillon Su\_84\_VOI\_3, les canaux sont ici majoritairement longitudinaux comme le montre la forte densité au centre du cercle 2. On peut cependant noter la présence de quelques canaux obliques s'éloignant du centre du cercle 1, dont le faible nombre se traduit par la faible densité en périphérie.

Le traitement des VOI a été effectué globalement, sans distinction des types de canaux dans une volonté de simplification et d'automatisation des mesures.

## 4. ÉVALUATION DE LA VARIABILITÉ CORTICALE

---

La méthode d'analyse statistique mise en place dans le cadre de notre étude a été conçue en collaboration avec Frédéric Santos (ingénieur statisticien de l'UMR 5199, PACEA) et développée sur le logiciel R® (version 3.4.4).

### 4.1. VARIABILITÉ INTRA-ESPÈCE

#### 4.1.1. Variabilité individuelle

L'organisation corticale varie pour l'espèce humaine selon plusieurs paramètres individuels tels que le sexe et l'âge (Burr *et al.*, 1990 ; Robling et Stout, 2007). C'est pourquoi nous avons voulu mesurer l'impact de ces paramètres sur notre échantillon humain. Dans ce but, nous avons comparé les données obtenues pour l'organisation corticale entre les deux sexes. Cependant, en raison de l'origine archéologique de notre échantillon humain et des classes d'âge estimées trop larges (une grande partie de notre échantillon appartient aux classes d'âge 20-49 ans ou 30-59 ans), nous n'avons malheureusement pas pu tester de façon satisfaisante les variations liées à l'âge. Les différences entre sexes ont été testées statistiquement en regroupant l'ensemble des variables dans une Analyse en Composantes Principales (ACP) ainsi que variable par variable via un test de Wilcoxon bivarié.

#### 4.1.2. Variabilité inter-osseuse

Nous avons testé les valeurs obtenues entre les humérus et fémurs de vache et entre les fémurs et humérus de porc dans le but d'évaluer les variations existantes entre deux os longs différents pour une même espèce ainsi que l'influence de la latéralisation en comparant les ossements gauches et droits pour les trois espèces (incluant l'espèce humaine ). Ces distinctions ont également été analysées grâce à des ACP.

### 4.1.3. Variabilité intra-osseuse

L'organisation corticale varie au sein d'un même os en fonction de la localisation de la région étudiée (Cooper *et al.*, 2003 ; Robling et Stout, 2007). Nous avons donc cherché à tester les variations entre les trois VOI (proximal, médial et distal) afin de mettre en évidence les différences d'organisation corticale entre ces trois régions et leur influence sur l'identification d'espèce. Nous avons pour cela utilisé des modèles linéaires mixtes (Crawley, 2012 ; Faraway, 2016). Ce type d'analyse permet de prendre en compte l'effet de réplication de mesure sur un même individu (ici sur les trois régions d'un même os). Elle comprend un effet fixe (paramètre testé) auquel s'ajoute un effet aléatoire (VOI, os, ...) selon la formule suivante :

$$\text{mod} <- \text{lmer}(\text{Ca.D.max} \sim \text{VOI} + (1 | \text{Individu}), \text{data}=\text{Humain})$$

Dans cet exemple, la variable fixe du diamètre maximal des canaux (Ca.D.max) est testée en fonction de la région d'intérêt (VOI) et par individu (Individu) dans le jeu de données de l'échantillon humain. La variance liée à la localisation de la carotte est ainsi évaluée pour chaque variable métrique et pour chaque espèce.

## 4.2. VARIABILITÉ INTER-ESPÈCE

L'analyse des variations entre les trois espèces testées comprend un test de Wilcoxon bivarié permettant de définir s'il existe une différence significative pour un paramètre donné entre groupes, une ACP de l'ensemble des mesures, réalisée sur tous les VOI, sans distinction, afin de visualiser la répartition des différents échantillons et enfin, une analyse par arbre de décision (Hastie *et al.*, 2009 ; Crawley, 2012 ; Faraway, 2016). La méthode de classification par arbre de décision consiste à réaliser un partitionnement récursif des individus en sous-groupes sous la forme d'un arbre (Figure 36). Chaque division correspond à l'interrogation de plusieurs variables dont le résultat indique la branche à suivre en fonction de la variance résiduelle restant dans les branches descendantes afin d'obtenir des classes les plus « pures » possible. Ce processus est répété 5000 fois et l'ensemble des arbres de classification obtenus forme ce que l'on appelle une « forêt aléatoire ».

Dans le cadre de notre étude, nous avons testé cette méthode de décision en ajoutant une variable catégorielle explicative : l'espèce. Ce type de modèle est particulièrement intéressant pour distinguer des taxons et identifier les variables les plus discriminantes (Crawley, 2012) ; il effectue notamment un classement selon le poids de chaque variable pour la séparation des individus.

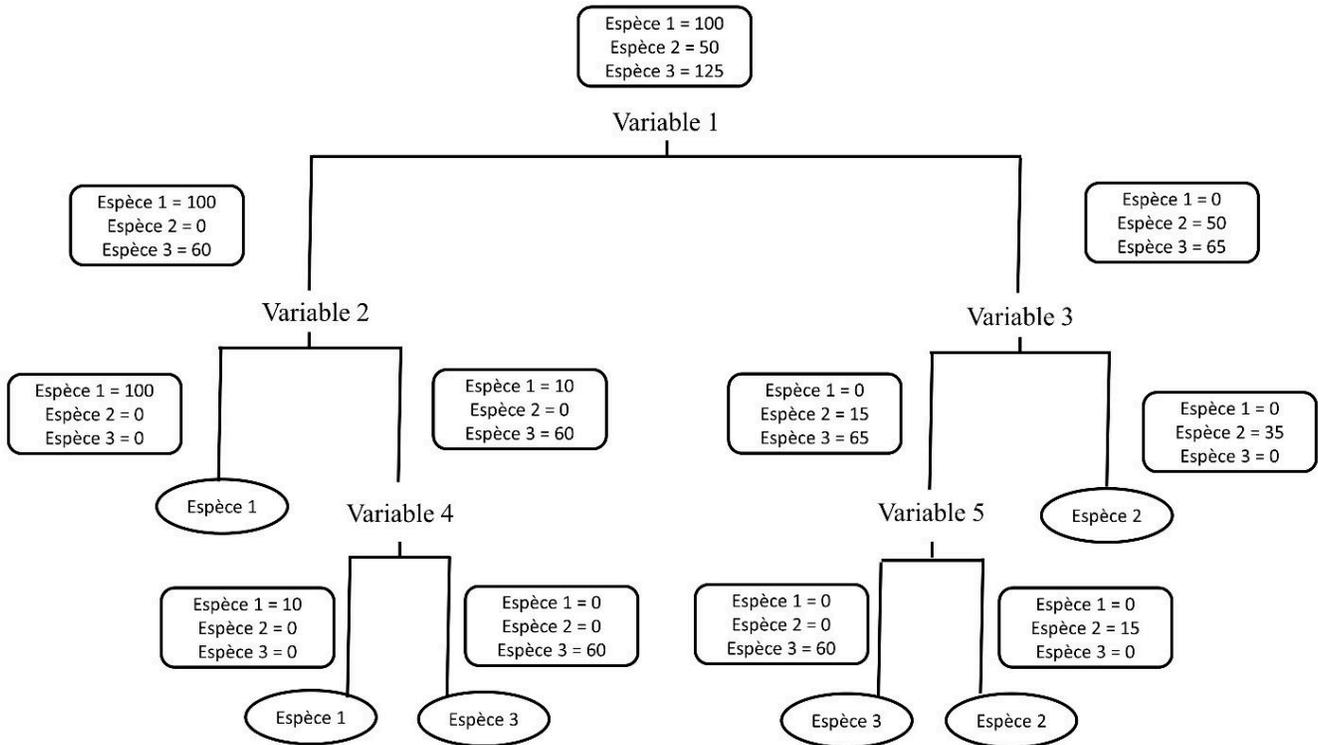


Figure 36 : Exemple d'un arbre de décision. À chaque nouvelle variable incluse dans le test, les individus sont séparés jusqu'à obtenir des groupes ne contenant qu'une espèce.

# RÉSULTATS

---

# 1. ANALYSE QUALITATIVE

---

Les observations de l'organisation osseuse et du type d'os sont rassemblées dans le Tableau 8 ci-dessous.

*Tableau 8 : Récapitulatif de l'organisation osseuse et des types d'os observés pour chaque espèce.*

<b><i>Espèce</i></b>	<b><i>Organisation osseuse</i></b>	<b><i>Type d'os</i></b>	<b><i>Nb</i></b>
<b><i>Homo sapiens</i></b>	Homogène	Haversien dense	50
<b><i>Bos taurus</i></b>	Homogène	Plexiforme	25
		Réticulaire	13
		Canaux longitudinaux	1
	Bandes d'ostéons		10
<b><i>Sus scrofa</i></b>	Hétérogène	Plexiforme et réticulaire	4
	Homogène	Plexiforme	36
		Réticulaire	22
		Radial	5
		Canaux longitudinaux	5
		Bandes d'ostéons	

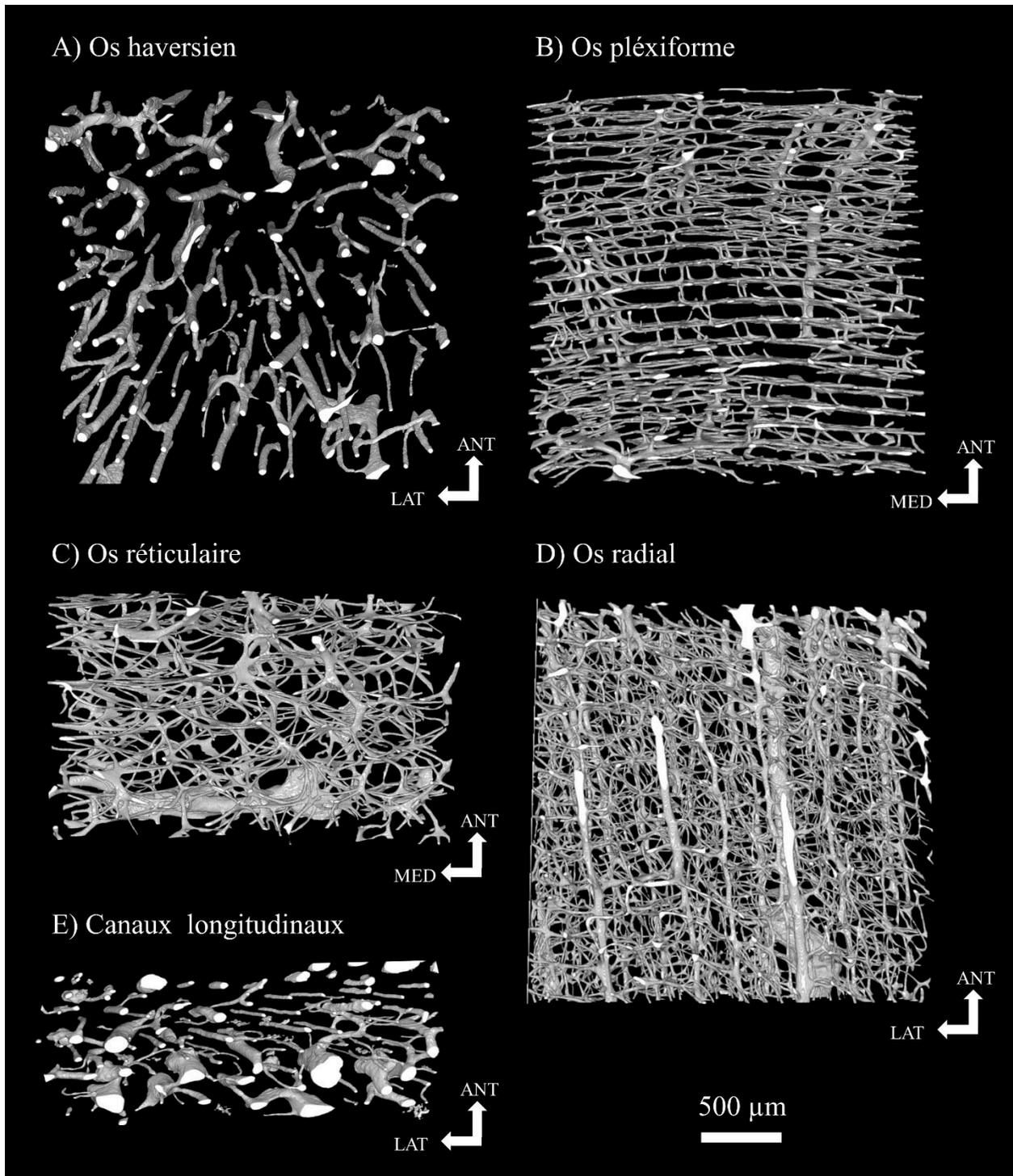


Figure 37 : Vues supérieures des différents types d'os observés au sein de l'échantillon : A) os haversien de Su\_84\_VOI1 ; B) os pléxiforme de SS9\_VOI1; C) os réticulaire de SS11\_VOI3 ; D) os radial de SS24\_VOI3 ; E) canaux longitudinaux de SS25\_VOI2.

Les reconstructions 3D montrent une organisation homogène ainsi qu'un os secondaire haversien dense pour l'ensemble des échantillons humains (Figure 37A). Les spécimens bovins présentent également tous une organisation homogène tandis que 4 échantillons de *Sus scrofa* possèdent une organisation hétérogène, divisée en zones. Il s'agit des VOI 2 et 3 (proximal et distal) de SS7 ainsi que des VOI 2 de SS8 et SS12. Par ailleurs, le type d'os observé pour les spécimens animaux correspond majoritairement à un os plexiforme ou réticulaire (Figure 37B et Figure 37C). Le premier est présent dans les 3 volumes d'intérêt observés tandis que l'os réticulaire se retrouve presque exclusivement en VOI distal chez *Bos taurus* et en VOI distal et proximal chez *Sus scrofa*, à l'exception des VOI médians de SS19 et BT7. On note également la présence d'os radial et de canaux longitudinaux sur certains échantillons de *Sus scrofa* (SS19 à SS25) et *Bos taurus* (BT6) (Figure 37D et Figure 37E). Les cas de canaux longitudinaux concernent uniquement les VOI proximaux. Enfin, des bandes d'ostéons (*osteon banding*, Mulhern et Ubelaker, 2001, Figure 38) sont présentes chez certains animaux (BT7, BT9, BT12 à 17, SS1, SS2, SS5 à 15 et SS17). Elles se situent majoritairement en VOI distal hormis pour les VOI médians de BT 7 et BT14 pour lesquels des bandes d'ostéons sont visibles dans les 3 VOI.

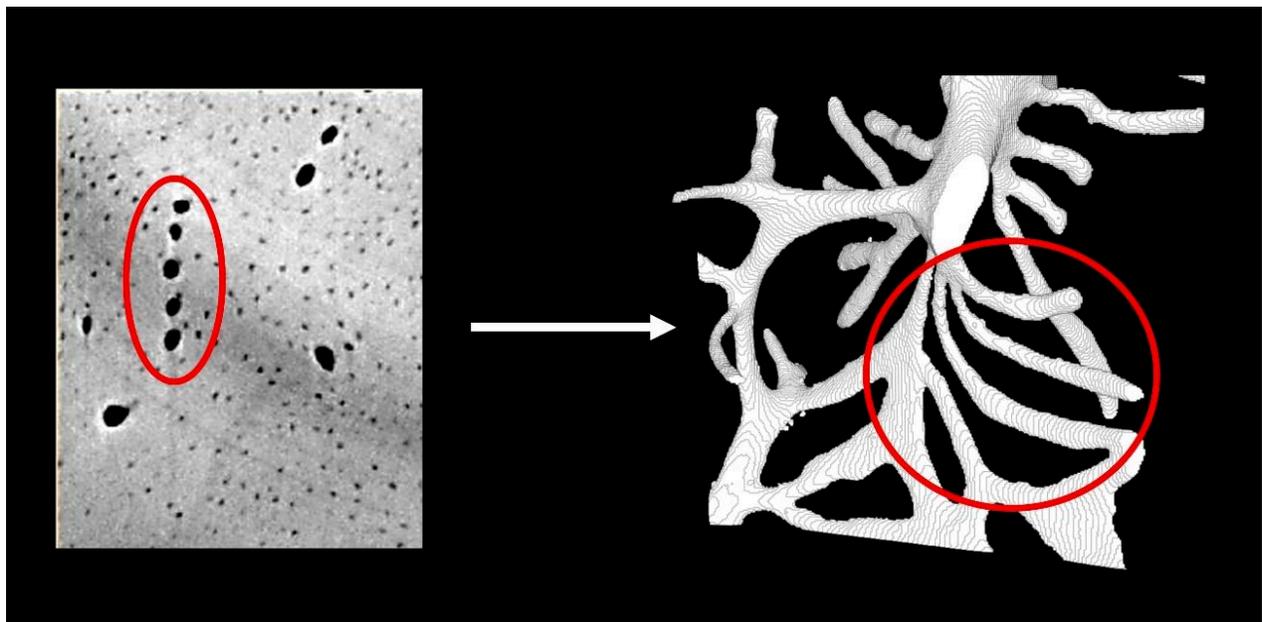


Figure 38 : exemple de bande d'ostéons de SS3\_VOI3.

## 2. ANALYSE QUANTITATIVE

---

### 2.1. VARIABILITÉ INTRA-ESPÈCE

#### 2.1.1. Variabilité individuelle

Les valeurs des probabilités du test de Wilcoxon, obtenues pour la comparaison entre sexes des paramètres métriques ne montrent pas de différence significative (Tableau 9).

*Tableau 9 : Divergences liées au sexe : résultats des tests de Wilcoxon bivarié réalisé sur l'échantillon humain. Le résultat est exprimé en p-valeur comprises entre 0 et 1 (aucune différence). Les p-valeurs < 0.05 montrent une différence significative entre les deux groupes à 95 %.*

Paramètres	CaV/TV	Ca.ConnD	Ca.N	Ca.D.min	Ca.D.max	Ca.D.med	Ca.Le	Ca.orX	Ca.orY	Ca.orZ
p-valeur	0,945	0,736	0,396	0,719	0,640	0,994	0,391	0,238	0,552	0,648

Par ailleurs, l'ACP combinant l'ensemble des paramètres métriques ne montre aucune division particulière entre les individus (Figure 39). La dimension 1 de l'ACP représente 53,39 % de la variabilité totale et est influencée par le diamètre des canaux (Ca.D.max, Ca.D.min et Ca.D.med) et, dans une moindre mesure, par la porosité corticale (Ca.V/TV). Le deuxième axe de l'analyse illustre le nombre de canaux, la connectivité et la longueur des branches (Ca.N, Ca.ConnD, Ca.Le). Il correspond à 34,31 % de la variation totale.

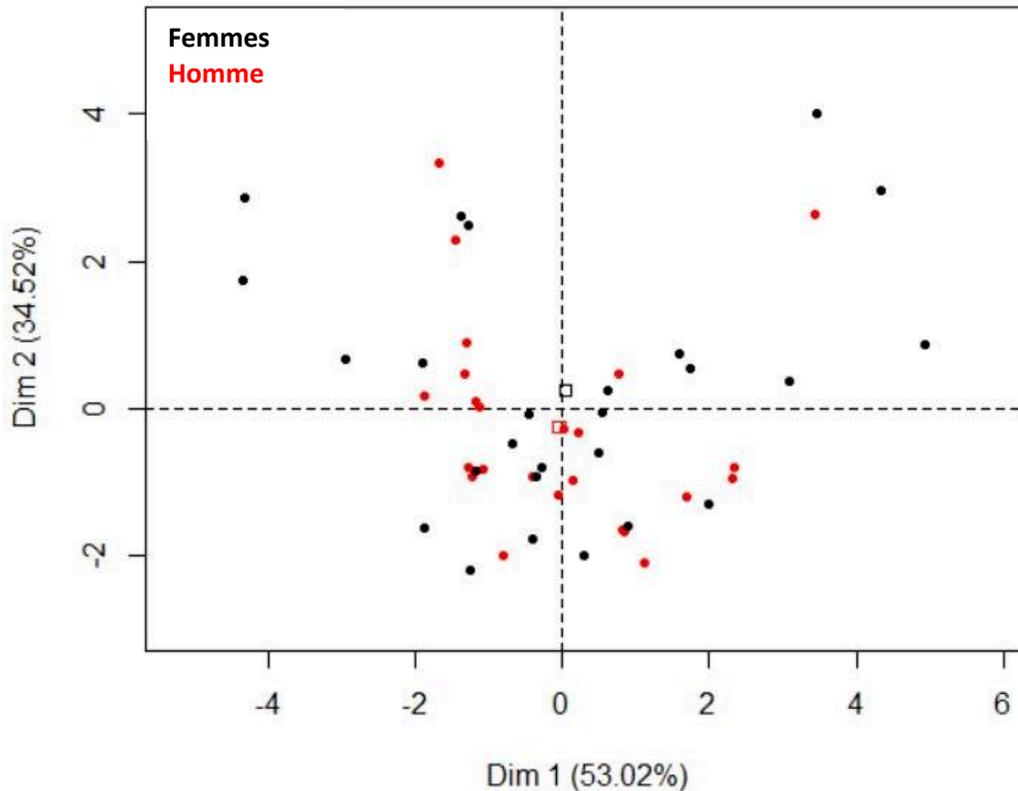


Figure 39 : Résultat de l'ACP comparant les individus de l'échantillon humain en fonction de leur sexe. L'axe 1 est influencé par le diamètre des canaux et par la porosité corticale dans une moindre mesure, l'axe 2 représente le nombre des canaux, leur connectivité et la longueur des branches.

## 2.1.2. Variabilité inter-osseuse

### 2.1.2.1. Différences liées à la latéralisation de l'os

Les résultats des ACP illustrant les différences entre les ossements gauches et droits sont présentés en Figure 40, 41 et Figure 42. Les dimensions 1 sont influencées par le diamètre et le nombre des canaux ainsi que par leur connectivité et la longueur moyenne des branches (Ca.D, Ca.N, Ca.ConnD et Ca.Le) tandis que les dimensions 2 reflètent le volume des canaux (CaV/TV). La première dimension représente 53,02 % de la variabilité totale chez *Homo sapiens*, 58,03 % chez *Sus scrofa* et 69,45 % chez *Bos taurus*. L'axe 2 correspond à 34,52 % de la variabilité chez l'homme à 26,56 % chez le porc et à 15,05 % chez la vache. Les 3 ACP montrent une répartition homogène sans distinction claire de groupes.

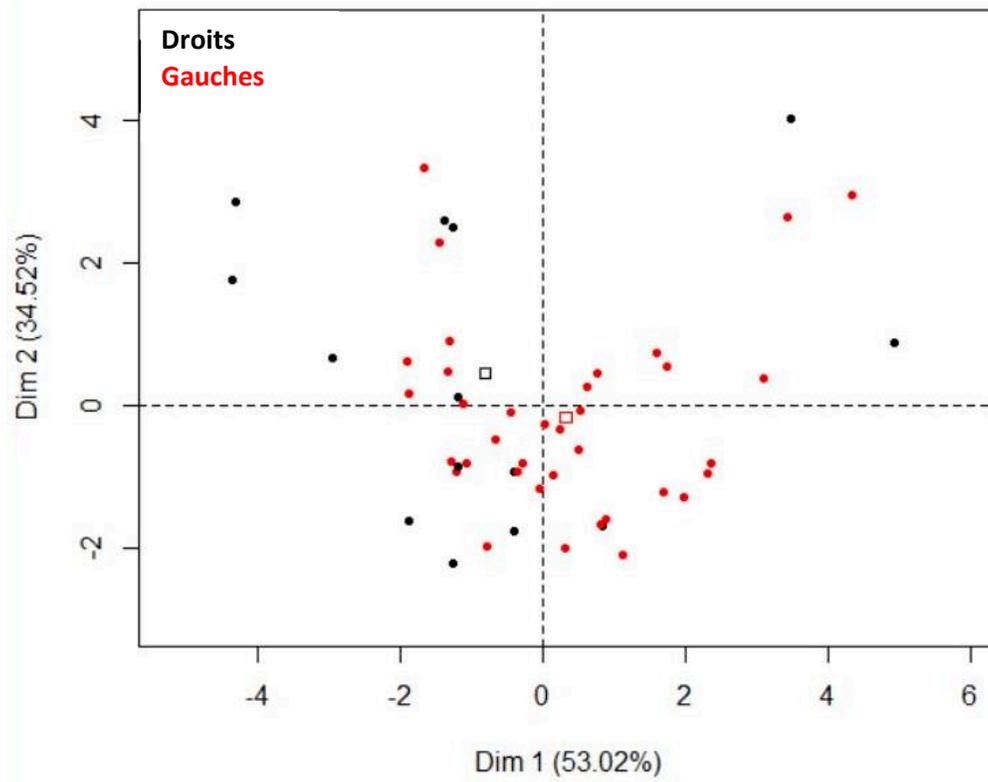


Figure 40 : Résultat de l'ACP comparant les individus au sein de l'échantillons humain en fonction de la latéralisation de l'os.

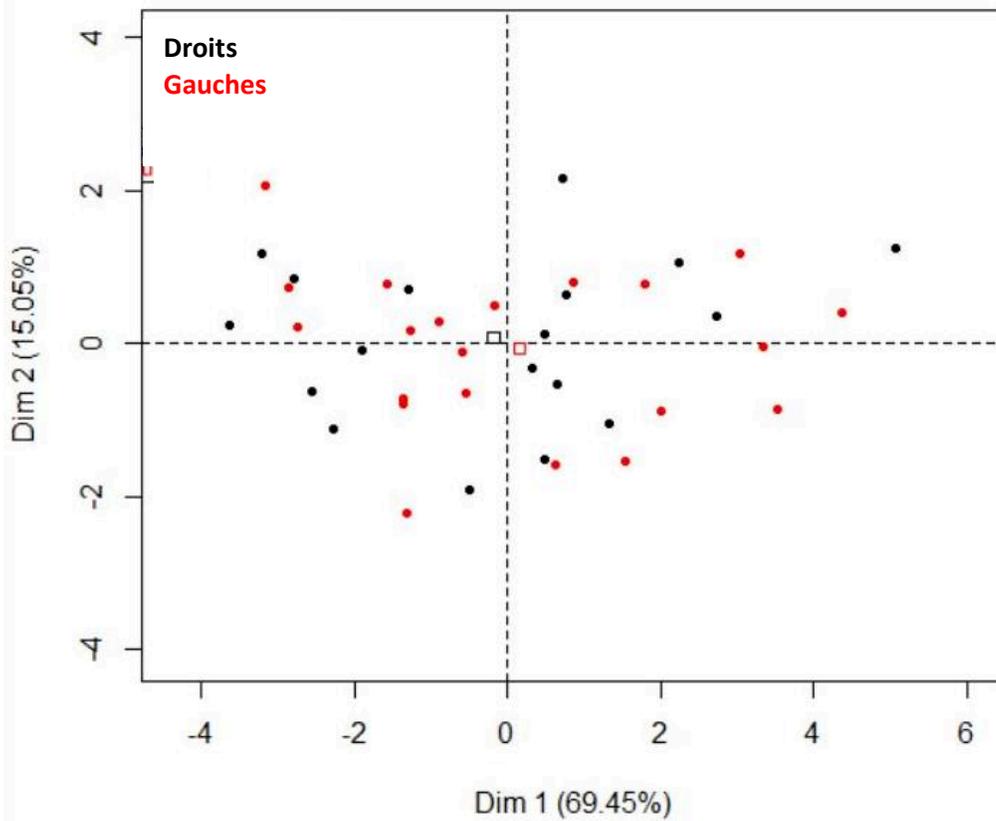


Figure 41 : Résultat de l'ACP comparant les individus au sein de l'échantillons de Bos taurus en fonction de la latéralisation.

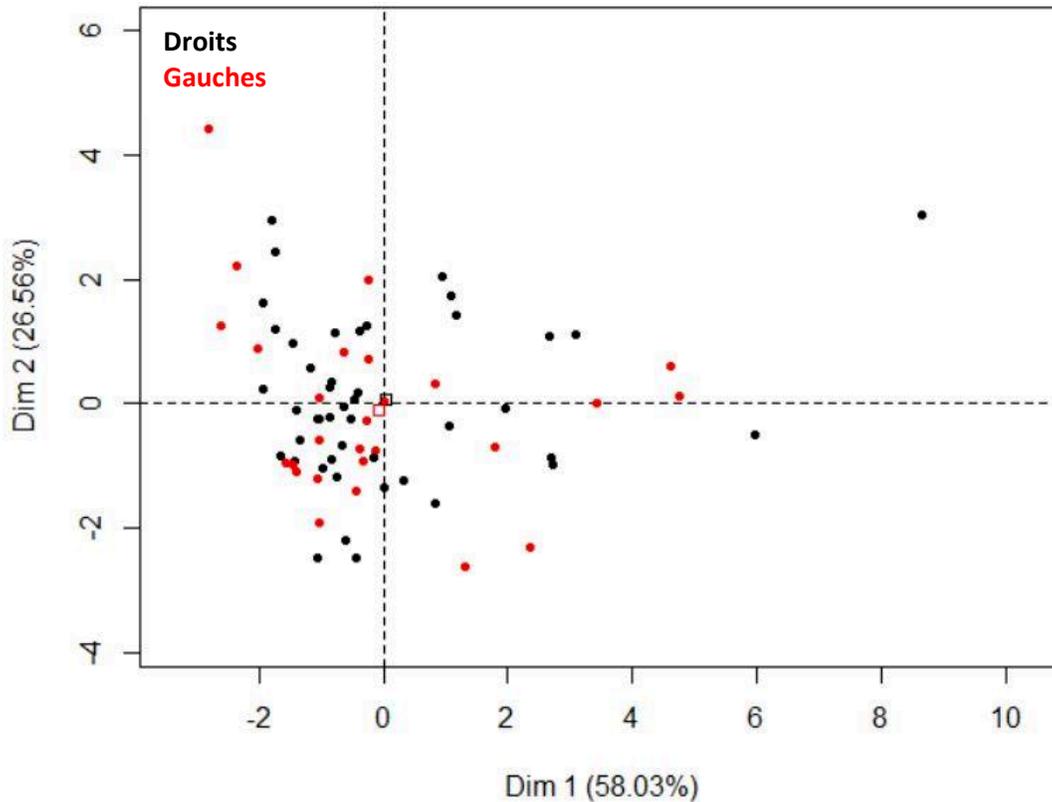


Figure 42 : Résultat de l'ACP comparant les individus au sein de l'échantillon de *Sus scrofa* en fonction de la latéralisation.

Testées seules, certaines variables présentent des différences significatives entre les ossements gauches et droits de l'échantillon humain (Tableau 10). En effet, les diamètres des canaux sont significativement plus grands sur les ossements gauches (Figure 43) et l'angle entre les canaux et l'axe Y (antéro-postérieur ; Ca.orY) est également plus important à gauche. On note également que des diamètres des canaux des VOI distaux (VOI 3) des individus Su\_125 et Su\_83 apparaissent en valeurs extrêmes supérieures, de même pour les Ca.orY des VOI 3 des individus Su\_108 et Su\_121.

Tableau 10 : Variations liées à la latéralisation : résultats du test de Wilcoxon bivarié réalisé au sein des trois échantillons. Le résultat est exprimé en p-valeur comprises entre 0 et 1 (aucune différence). Les p-valeurs < 0.05 montrent une différence significative entre les deux groupes à 95 %.

Paramètres	Espèce	CaV/TV	Ca.ConnD	Ca.N	Ca.D.min	Ca.D.max	Ca.D.med	Ca.Le	Ca.orX	Ca.orY	Ca.orZ
p-valeur	<i>H. sapiens</i>	0,175	0,251	0,23	<b>0,034</b>	<b>0,034</b>	<b>0,03</b>	0,661	0,305	<b>0,019</b>	0,907
	<i>B. taurus</i>	0,728	0,686	0,14	0,856	0,321	0,587	0,945	0,308	0,1	0,53
	<i>S. scrofa</i>	0,373	0,548	0,636	0,627	0,908	0,79	0,835	0,88	0,51	0,51

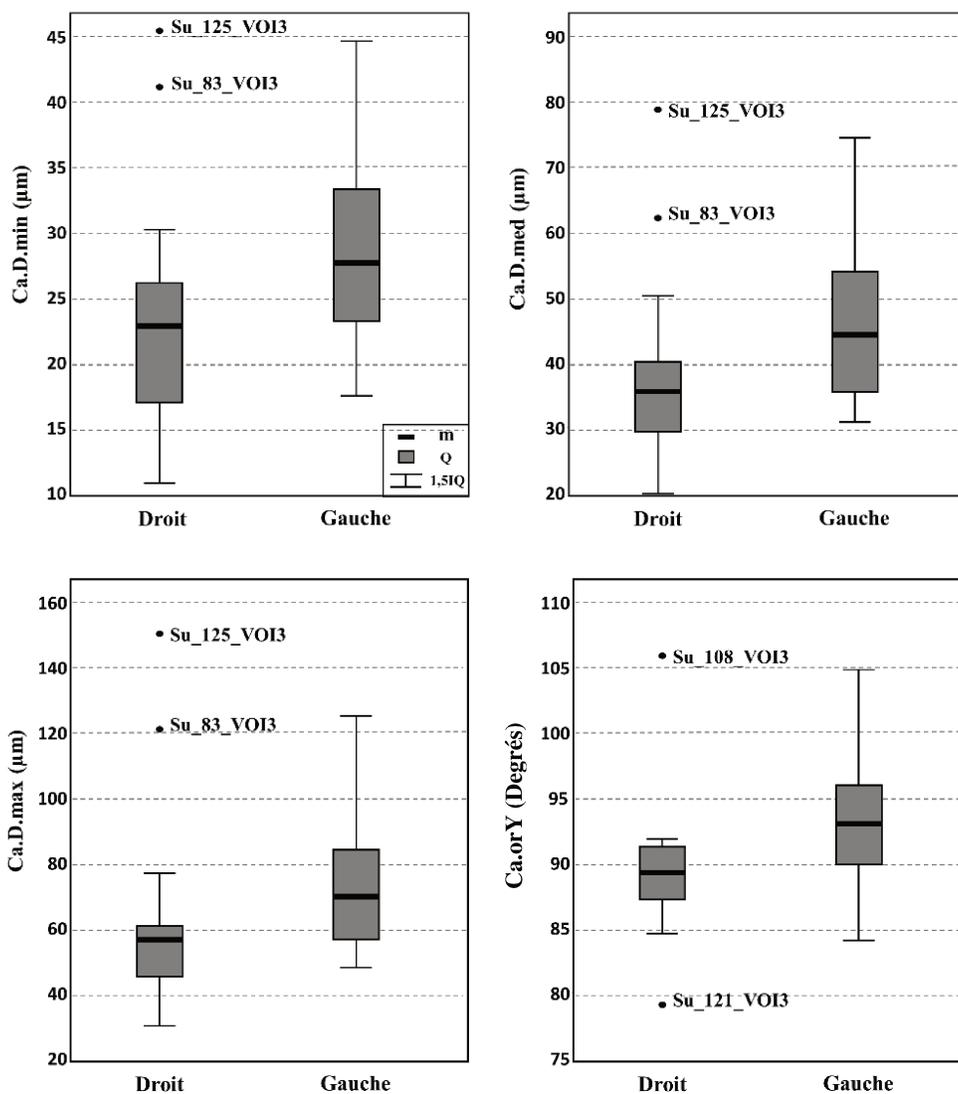


Figure 43 : Boîtes de dispersion comparant les ossements droits et gauche de l'échantillon humain pour Ca.D.min, Ca.D.med, Ca.D.max et Ca.orY. (m = médiane divisant l'échantillon en deux parties de même effectif, IQ = Interquartile, zone entre les 1<sup>er</sup> et 3<sup>eme</sup> quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif, 1.5IQ = 1 fois et demi la valeur de l'interquartile, ● = valeurs extrêmes).

1.1.1.1. Différences topographiques entre fémurs et humérus

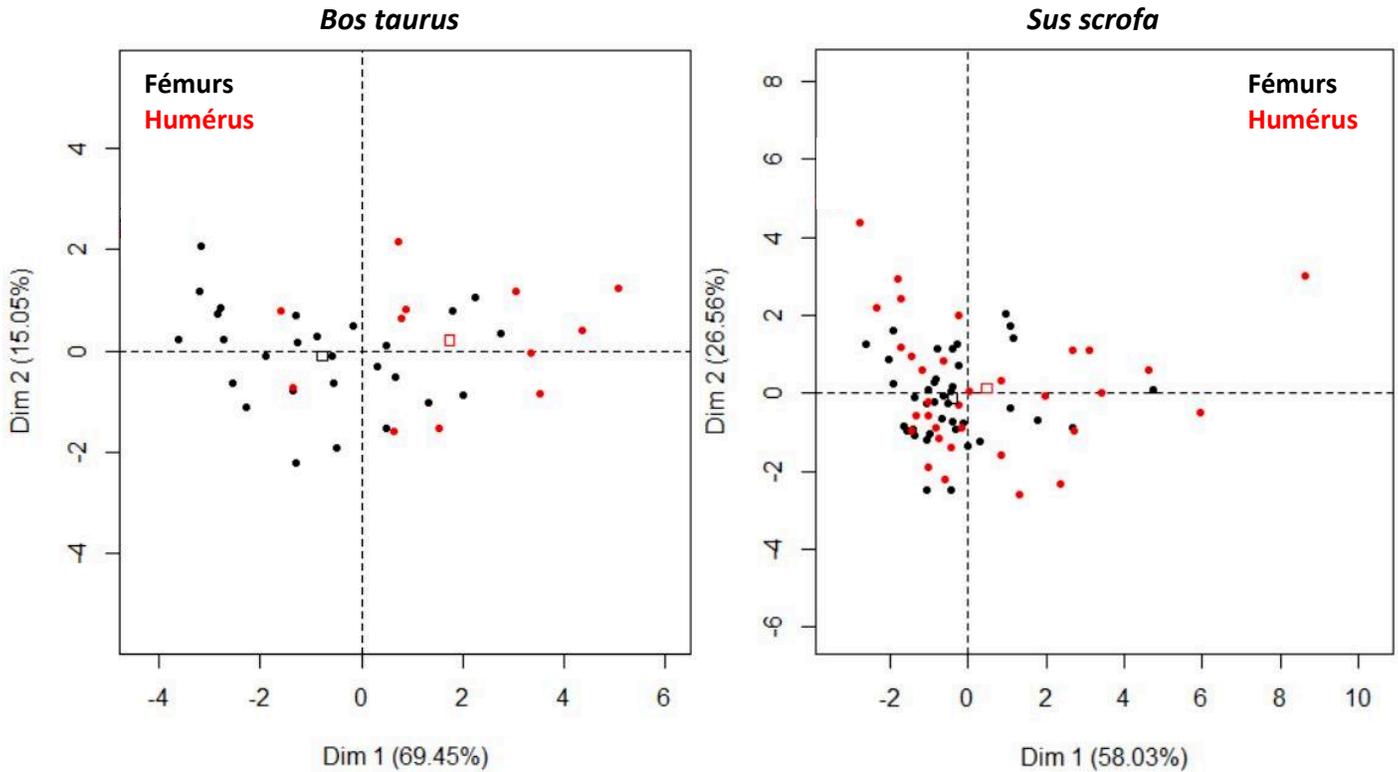


Figure 44 : Résultats des ACP comparant les individus au sein des échantillons de vache et de porc en fonction de l'os (Fémur ou humérus).

Les ACP effectuées sur les spécimens de *Bos taurus* et *Sus scrofa* (Figure 44) ne montrent pas de distinction entre les humérus et les fémurs. Les axes 1 sont influencés par le diamètre des canaux (Ca.D.max, Ca.D.min et Ca.D.med) et la porosité corticale (CaV/TV). Ils représentent 69,45 % de la variabilité totale chez *Bos taurus* et 58,03 % chez *Sus scrofa*. Les axes 2 reflètent la connectivité ainsi que le nombre de canaux (Ca.N et Ca.ConnD) et correspondent à 15,05 % de la variabilité totale chez *Bos taurus* et 26,56 % chez *Sus scrofa*.

### 2.1.3. Variabilité intra-osseuse

Les résultats des analyses linéaires mixtes obtenues pour chaque paramètre métrique (Tableau 11) montrent une divergence entre le VOI 3 et les deux autres régions osseuses chez *Homo sapiens* et *Bos taurus*.

Tableau 11 : Variations liées à la localisation du VOI : résultats des analyses Linéaires mixtes par espèce. Le résultat est exprimé en p-valeur comprise de 0 à 1 (aucune différence). Les p-valeurs < 0.05 (en gras dans le tableau) montrent une différence significative entre les deux groupes à 95 %.

Espèce	<i>H. sapiens</i>			<i>S. scrofa</i>			<i>B. taurus</i>		
	VOI_1-2	VOI_1-3	VOI_2-3	VOI_1-2	VOI_1-3	VOI_2-3	VOI_1-2	VOI_1-3	VOI_2-3
<b>CaV/TV</b>	0,906	<b>0,014</b>	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	0,184	0,214	0,793	<b>0,033</b>	0,151
<b>Ca.ConnD</b>	0,693	0,135	0,502	0,983	0,972	0,998	0,751	<b>0,034</b>	<b>0,004</b>
<b>Ca.N</b>	0,808	0,127	0,369	0,999	0,657	0,657	0,616	<b>0,012</b>	0,137
<b>Ca.D.min</b>	0,876	< 10 <sup>-4</sup>	< 10 <sup>-4</sup>	<b>0,009</b>	0,066	0,386	0,496	<b>0,001</b>	<b>0,045</b>
<b>Ca.D.max</b>	0,989	< 10 <sup>-4</sup>	< 10 <sup>-4</sup>	<b>0,015</b>	0,056	0,876	0,591	<b>0,01</b>	0,127
<b>Ca.D.med</b>	0,981	< 10 <sup>-5</sup>	< 10 <sup>-5</sup>	<b>0,002</b>	0,071	0,417	0,432	<b>0,001</b>	<b>0,031</b>
<b>Ca.Le</b>	<b>0,009</b>	0,934	<b>0,022</b>	0,747	0,492	0,150	0,970	<b>0,042</b>	<b>0,022</b>
<b>Ca.orX</b>	0,996	< 10 <sup>-3</sup>	< 10 <sup>-3</sup>	0,056	<b>0,045</b>	0,995	0,636	0,454	0,954
<b>Ca.orY</b>	0,727	0,927	0,917	0,740	0,701	0,270	0,82	0,962	0,662
<b>Ca.orZ</b>	0,996	0,964	0,983	0,991	0,298	0,364	0,305	0,908	0,142

Les variations de l'échantillon humain concernent le diamètre des canaux (Ca.D.max, Ca.D.min, Ca.D.med), significativement plus important en VOI distal que pour les deux autres volumes de l'os (Figure 45) ainsi qu'une orientation plus proche de l'axe X (Ca.orX) et une porosité corticale (CaV/TV) plus importante en VOI 3. Les individus Su\_108, Su\_46, Su\_125, Su\_186, Su\_180, Su\_58 et Su\_83, identifiés en Figure 9, présentent les valeurs extrêmes des différentes variables représentées. Les sujets Su\_46 et Su\_108 sont positionnés en limite inférieure et les sujets Su\_125, Su\_186, Su\_180, Su\_58 et Su\_83 en limite supérieure. La longueur moyenne des canaux est également plus faible en VOI 2 par rapport aux deux autres VOI de l'échantillon humain.

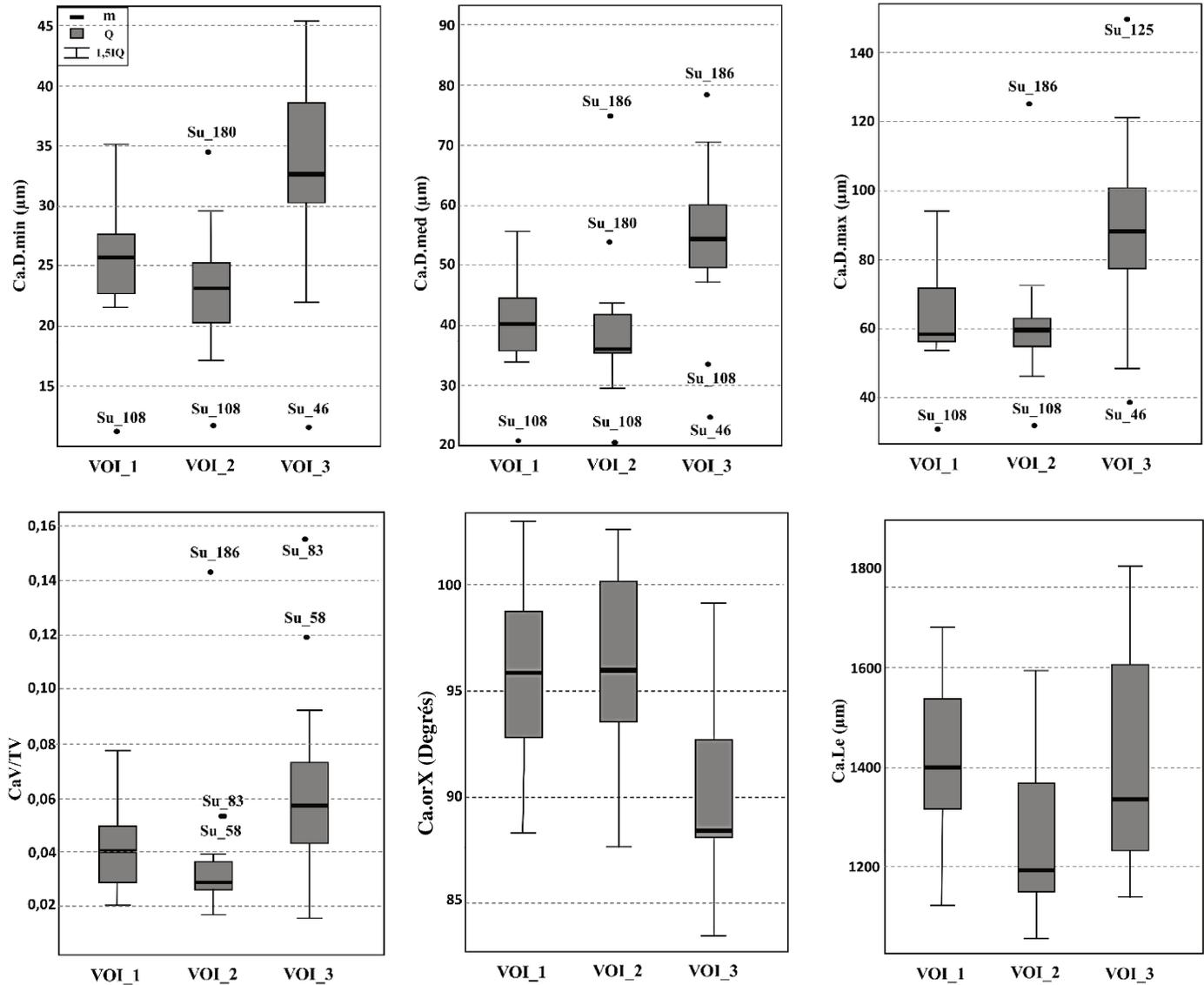


Figure 45 : Boîtes de dispersion comparant les 3 VOI au sein de l'échantillon humain pour Ca.D.min, Ca.D.med, Ca.D.max, Ca.orX, CaV/TV et Ca.Le. (m = médiane divisant l'échantillon en deux parties de même effectif, IQ = Interquartile, zone entre les 1<sup>er</sup> et 3<sup>eme</sup> quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif, 1.5IQ = 1 fois et demi la valeur de l'interquartile, ● = valeurs extrêmes).

L'échantillon de *Bos taurus* montre des différences significatives pour tous les paramètres, excepté l'orientation, entre les VOI 1 et 3, ainsi que pour les diamètres minimum et médian des canaux, la longueur des branches et la connectivité entre les VOI 2 et 3. Les CaV/TV, Ca.D.max, Ca.D.min, Ca.D.med et Ca.Le sont plus importants en VOI 3 que dans les deux autres VOI et, à l'inverse, les Ca.N et Ca.ConnD sont plus bas en VOI 3 (Figure 46). Les individus BT6, BT7, BT8 BT14 BT16 représentent les valeurs extrêmes supérieures de ces variables tandis que le sujet BT18 correspond à l'unique valeur extrême inférieure.

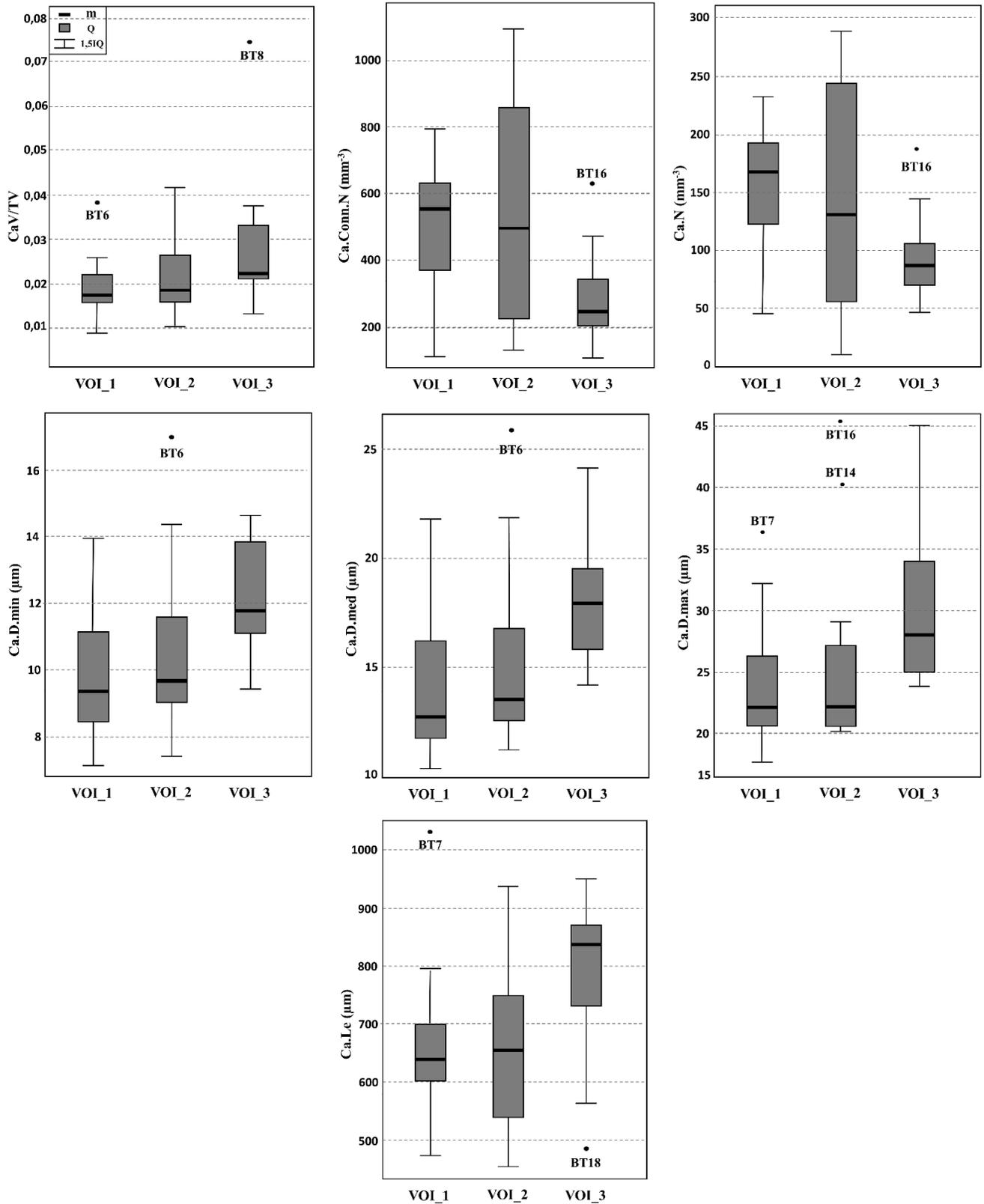


Figure 46 : Boîtes de dispersion comparant les 3 VOI de l'échantillon de Bos taurus pour CaV/TV, Ca.ConnD, Ca.N, Ca.D.min, Ca.D.med, Ca.D.max et Ca.Le. (m = médiane divisant l'échantillon en deux parties de même effectif, IQ = Interquartile, zone entre les 1<sup>er</sup> et 3<sup>eme</sup> quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif, 1.5IQ = 1 fois et demi la valeur de l'interquartile, ● = valeurs extrêmes).

Enfin, chez *Sus scrofa*, les variations significatives apparaissent plus marquées entre les VOI 1 et 2 pour le diamètre des canaux ainsi que leur volume (CaV/TV), plus important en VOI 2 (Figure 47). Des distinctions existent également pour l'orientation par rapport à l'axe X entre les VOI 1 et 3. Les sujets SS6, SS19 et SS24 correspondent aux valeurs extrêmes de ces paramètres et SS21 à l'extrême inférieure de Ca.orX.

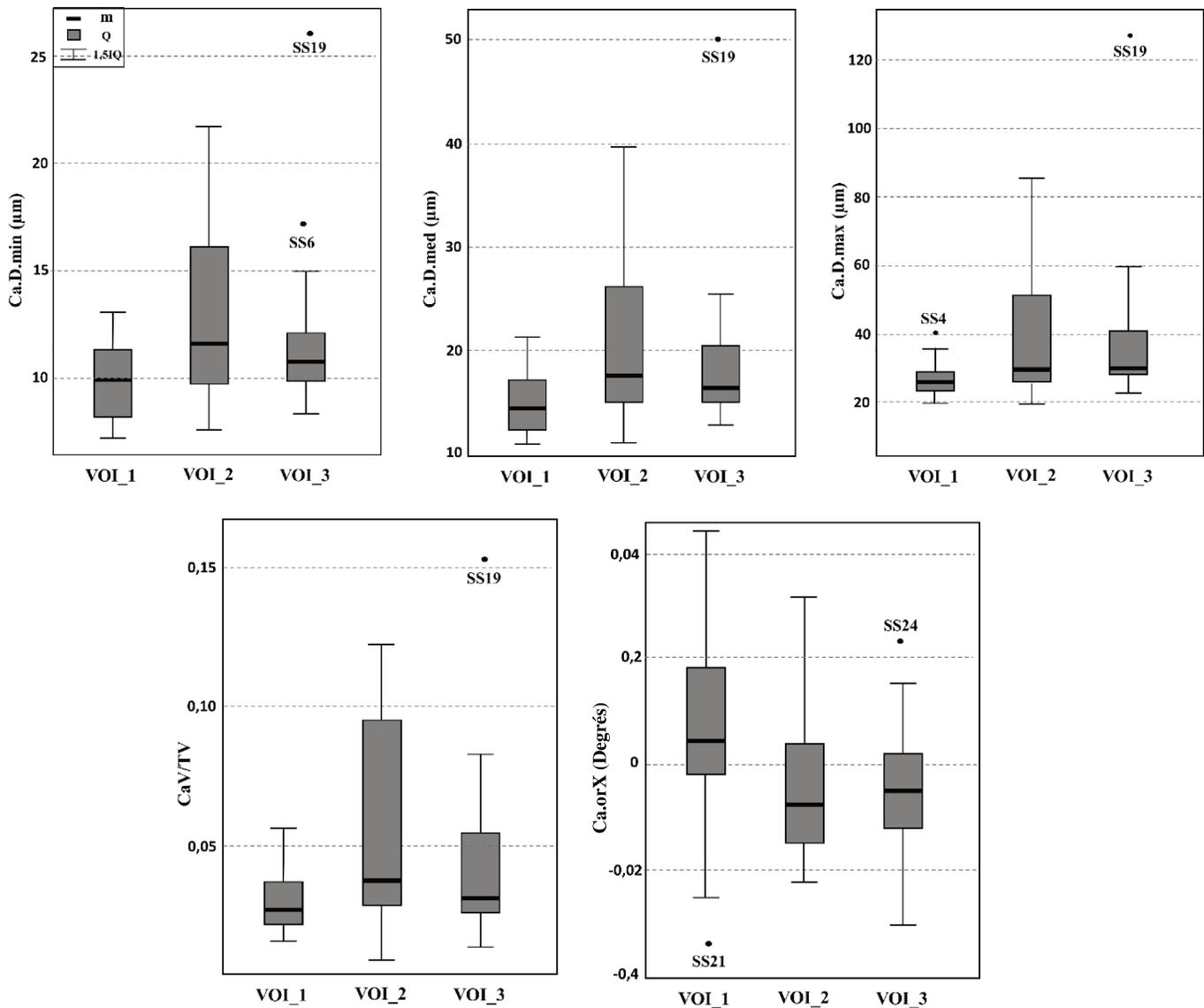


Figure 47 : Boîtes de dispersion comparant les 3 VOI de l'échantillon de *Sus scrofa* pour Ca.D.min, Ca.D.med, Ca.D.max, CaV/TV et Ca.orX. (m = médiane divisant l'échantillon en deux parties de même effectif, IQ = Interquartile, zone entre les 1<sup>er</sup> et 3<sup>eme</sup> quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif, 1.5IQ = 1 fois et demi la valeur de l'interquartile, ● = valeurs extrêmes).

## 2.2. VARIABILITÉ ENTRE ESPÈCES

### 2.2.1. Statistiques descriptives

Le Tableau 12 rassemble les moyennes des différents paramètres métriques obtenues par espèce. On note une porosité corticale plus importante en moyenne chez *Homo sapiens* et *Sus scrofa*. La connectivité est très importante pour les espèces animales, en particulier chez *Sus scrofa* (610,14 mm<sup>-3</sup>). À l'inverse, le diamètre des canaux et la longueur entre les branches sont plus grands chez l'Homme, avec néanmoins un chevauchement entre les diamètres, minimal chez l'espèce humaine (27,09 µm) et maximal chez les espèces fauniques (34,71 et 26,96 µm). Pour les trois espèces, les vecteurs moyens d'orientation des canaux sont plus proches de l'axe X avec des angles moins prononcés entre leur direction et cet axe que pour les axes Y et Z desquels ils divergent, en moyenne, d'un angle approchant 90°. Les canaux chez *Sus scrofa* s'éloignent cependant de façon plus prononcée de l'axe X que chez *Homo sapiens* et *Bos taurus*.

Tableau 12 : Moyennes obtenues par espèce pour chaque paramètre métrique par espèce.

Espèce	CaV/TV	Ca.ConnD	Ca.N	Ca.D.min	Ca.D.max	Ca.D.med	Ca.Le	Ca.orX	Ca.orY	Ca.orZ
<i>H. sapiens</i>	4,7	60,93	23,67	27,09	71,40	44,35	1355,25	7,41	91,71	93,62
<i>S. scrofa</i>	4,3	610,14	183,83	11,45	34,71	18,23	706,16	14,63	83,57	90,64
<i>B. taurus</i>	2,4	462,07	129,47	10,89	26,96	15,95	607,63	9,93	88,74	90,76

Le Tableau 13 présente les résultats des tests de Wilcoxon bivariés comparant chaque variable métrique entre les espèces prises deux à deux. La majorité des paramètres sont significativement différents entre *Homo sapiens* et *Sus scrofa*, sauf CaV/TV. De même, seuls Ca.orX et Ca.orZ ne présentent pas de différence significative entre *Homo sapiens* et *Bos taurus*. Les p-valeurs obtenues entre homme et espèces animales sont très significatives et tendent vers un taux de distinction approchant 100 % pour Ca.N, Ca.ConnD, Ca.D.min, Ca.D.max, Ca.D.med et Ca.Le. Enfin, les variables CaV/TV, Ca.N, Ca.D.max, Ca.Le et Ca.orZ sont significativement différentes à 95 % entre *Sus scrofa* et *Bos taurus*.

*Tableau 13 : Résultats du test de Wilcoxon bivarié évaluant les différences entre espèces 2 à 2. Le résultat est exprimé en p-valeur comprise de 0 à 1 (aucune différence). Les p-valeurs < 0.05 montrent une différence significative entre les deux groupes à 95 %.*

<b>Espèces</b>	<b><i>H. sapiens</i> - <i>S. scrofa</i></b>	<b><i>H. sapiens</i> - <i>B. taurus</i></b>	<b><i>S. scrofa</i> - <i>B. taurus</i></b>
<b>CaV/TV</b>	0,1653	<b>4 x 10<sup>-7</sup></b>	<b>10<sup>-5</sup></b>
<b>Ca.ConnD</b>	<b>&lt; 2,2 x 10<sup>-16</sup></b>	<b>1,42 x 10<sup>-15</sup></b>	<b>0,008</b>
<b>Ca.N</b>	<b>&lt; 2,2 x 10<sup>-16</sup></b>	<b>10<sup>-14</sup></b>	<b>0,0004</b>
<b>Ca.D.min</b>	<b>&lt; 2,2 x 10<sup>-16</sup></b>	<b>8 x 10<sup>-15</sup></b>	0,663
<b>Ca.D.max</b>	<b>8 x 10<sup>-16</sup></b>	<b>3 x 10<sup>-15</sup></b>	<b>0,001</b>
<b>Ca.D.med</b>	<b>&lt; 2,2 x 10<sup>-16</sup></b>	<b>2 x 10<sup>-15</sup></b>	0,155
<b>Ca.Le</b>	<b>&lt; 2,2 x 10<sup>-16</sup></b>	<b>7,75 x 10<sup>-16</sup></b>	<b>0,001</b>
<b>Ca.orX</b>	<b>0,021</b>	0,068	0,788
<b>Ca.orY</b>	<b>0,004</b>	<b>0,04</b>	0,262
<b>Ca.orZ</b>	<b>0,00007</b>	0,204	<b>0,037</b>

Les Figure 48 et Figure 49 présentent les boîtes de dispersions des différents paramètres par espèce. On note des orientations plus concentrées autour d'une même valeur chez *Homo sapiens* ainsi que des diamètres (Ca.D.min, Ca.D.max, Ca.D.med), longueur des canaux (Ca.Le) et une porosité corticale (CaV/TV) plus importants chez l'Homme. À l'inverse la connectivité et le nombre de canaux (Ca.ConnD et Ca.N) sont moins importants chez *Homo sapiens*. L'orientation Ca.orZ est beaucoup plus variable chez *Sus scrofa* par rapport à *Homo sapiens* et *Bos taurus*. Par ailleurs, les espèces animales présentent des diamètres de canaux minimum et médian similaires mais le diamètre maximum est plus élevé chez *Sus scrofa*, de même que la connectivité, le nombre de canaux et la porosité corticale.

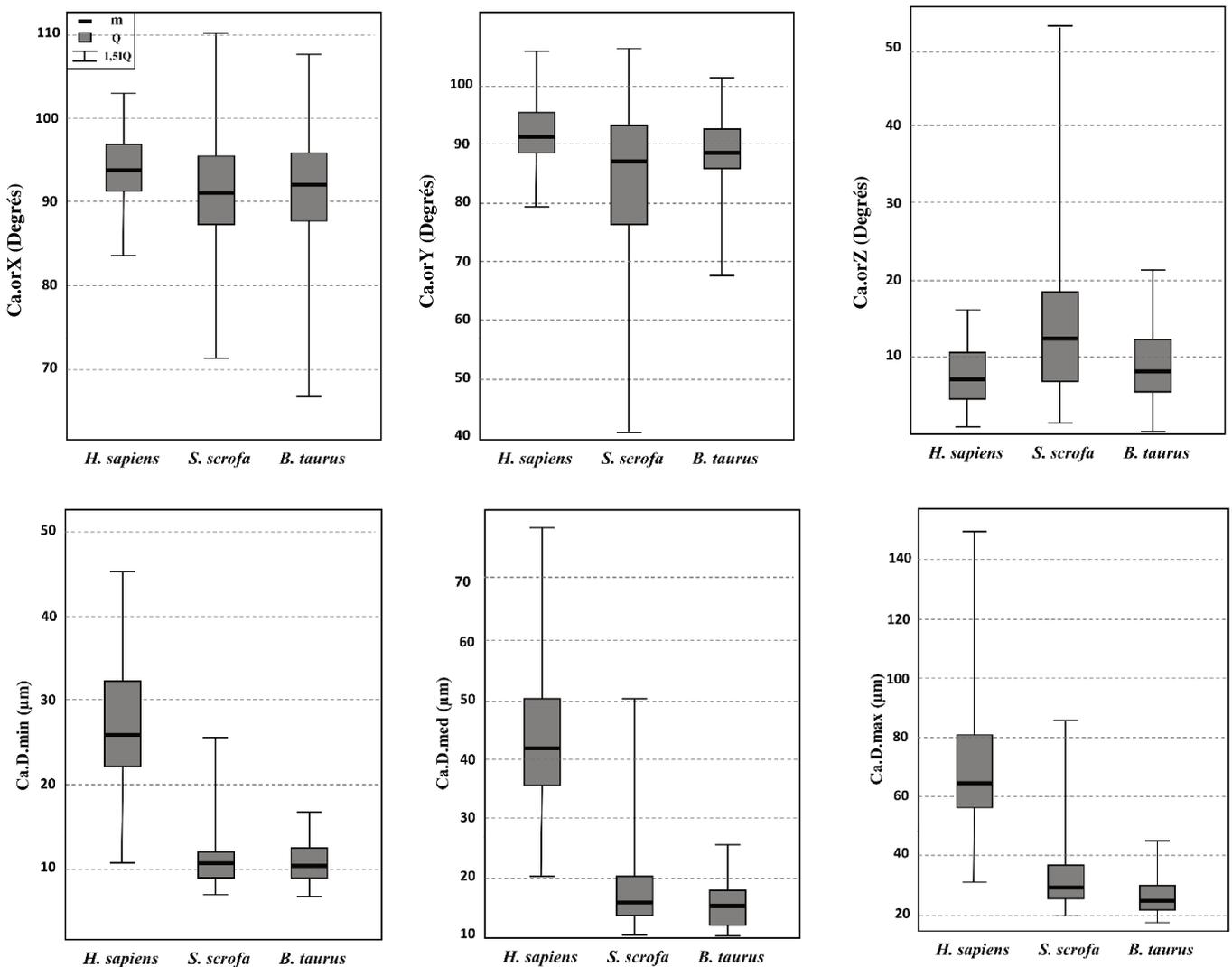


Figure 48 : Boîtes de dispersion comparant les 3 espèces pour Dir X, Dir Y, Dir Z, Ca.D.min, Ca.D.med et Ca.D.max. (m = médiane divisant l'échantillon en deux parties de même effectif, IQ = Interquartile, zone entre les 1er et 3eme quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif, 1.5IQ = 1 fois et demi la valeur de l'interquartile, ● = valeurs extrêmes).

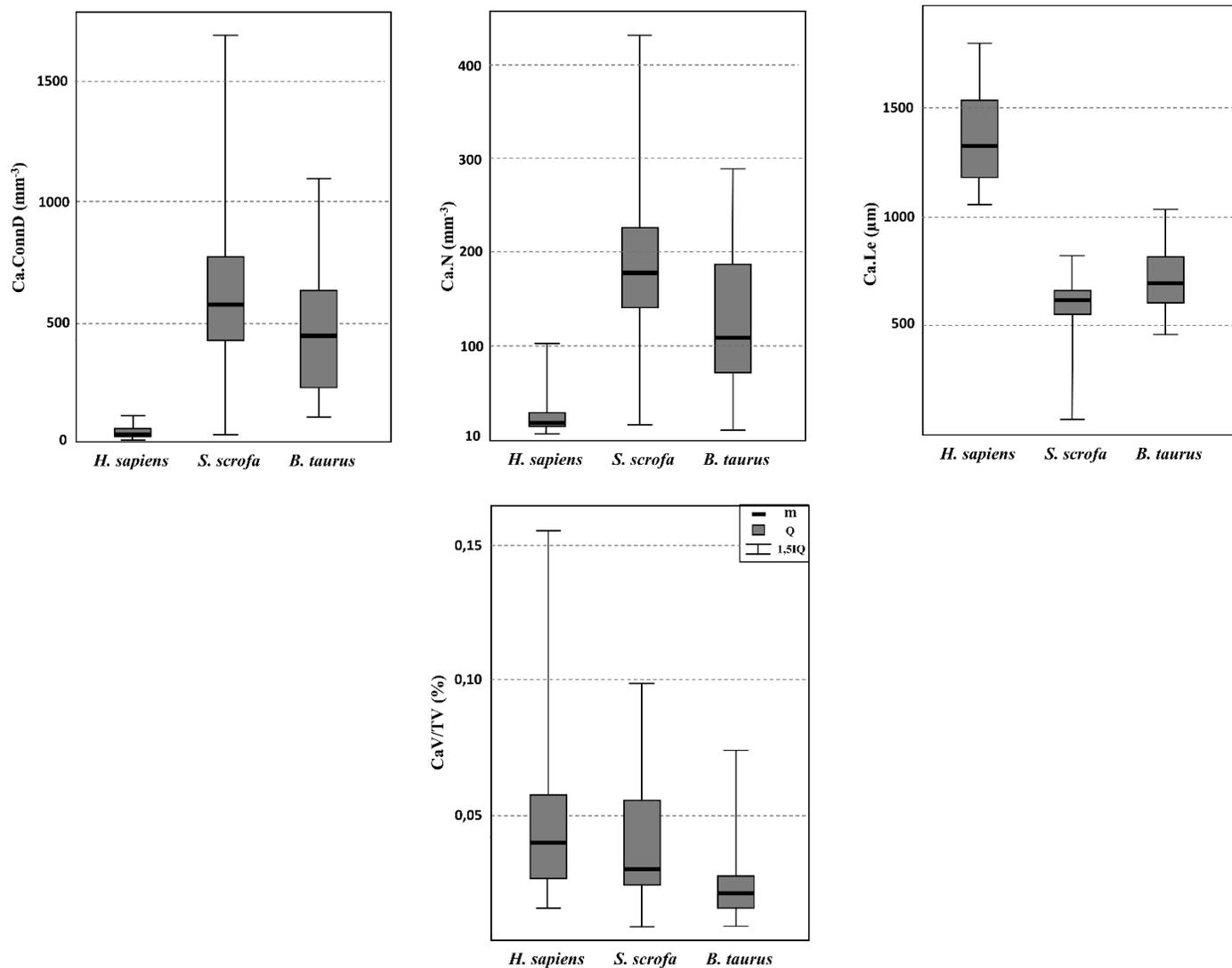


Figure 49 : Boîtes de dispersion comparant les 3 espèces pour Ca.ConnD, Ca.N, Ca.Le et CaV/TV. (m = médiane divisant l'échantillon en deux parties de même effectif, IQ = Interquartile, zone entre les 1er et 3eme quartiles et rassemblant 50 % de l'effectif, 1.5IQ = 1 fois et demi la valeur de l'interquartile, ● = valeurs extrêmes).

### 2.2.2. Analyse en composante principale

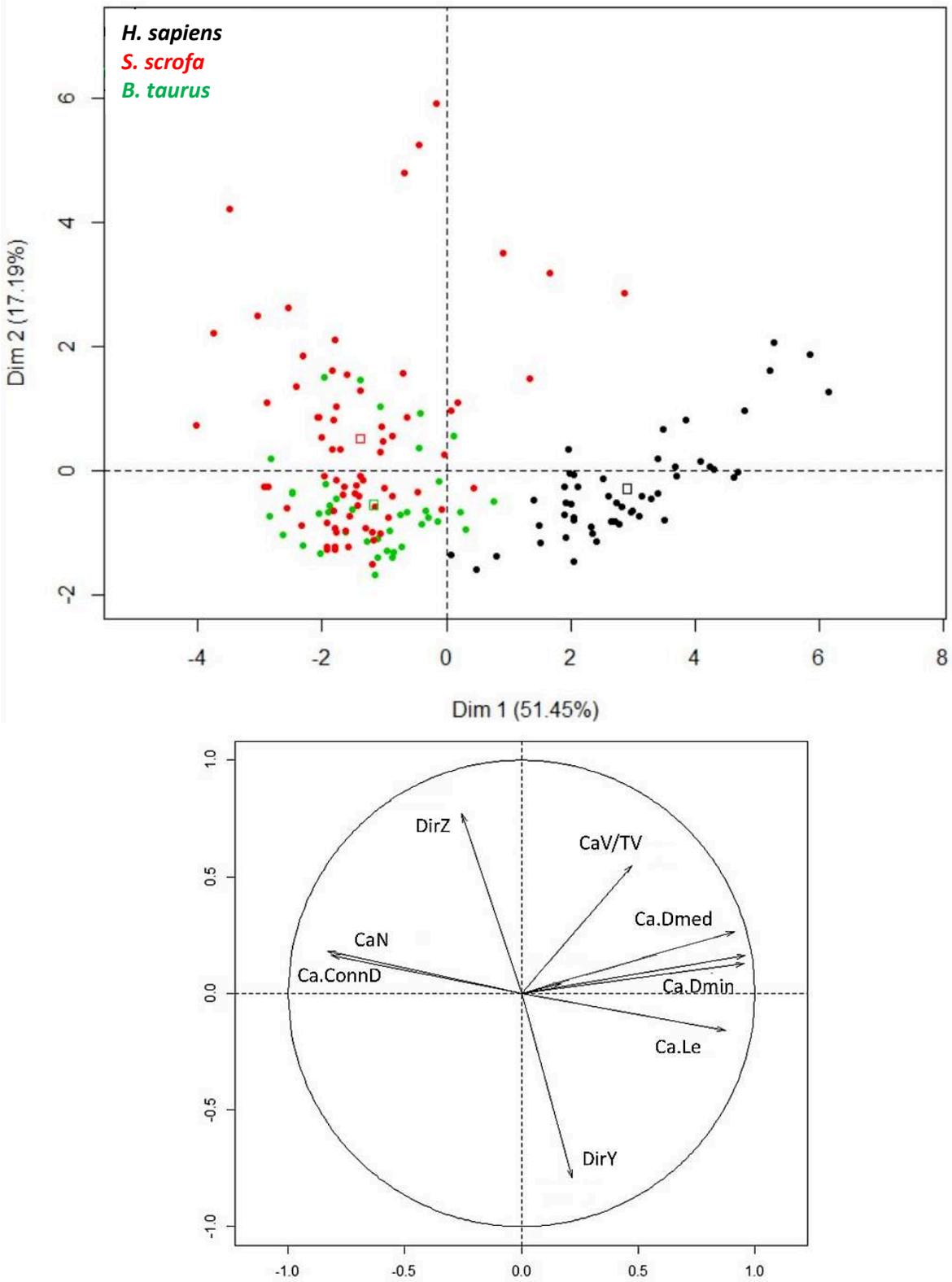


Figure 50 : Résultat de l'ACP comparant les échantillons des 3 espèces et cercle de corrélation des variables.

Le résultat de l'ACP globale comparant l'ensemble des paramètres métriques pour les 3 espèces est présenté en Figure 50. La dimension 1 représente 51,45 % de la variabilité totale et est influencée par le diamètre des canaux, la longueur des branches, le nombre des canaux et des connexions (Ca.D.max, Ca.D.min, Ca.D.med, Ca.Le, Ca.N et Ca.ConnD). L'axe 2 correspond à 17,19 % de la variabilité totale et reflète la porosité corticale et l'orientation des canaux par rapport aux axes Y et Z (CaV/TV, Ca.orY et Ca.orZ). L'ACP divise l'ensemble des spécimens en trois groupes, principalement selon l'axe 1. L'Homme (en noir) se distingue des espèces animales, il se caractérise par un diamètre et une longueur des canaux plus importants ainsi qu'un nombre de canaux et une connectivité plus faibles. Trois échantillons humains se retrouvent, cependant, proches de la variabilité des spécimens bovins (Su\_108\_VOI1, Su\_108\_VOI2 et Su\_46\_VOI3). Les groupes de *Bos taurus* et *Sus scrofa* présentent des diamètres des canaux moins importants ainsi qu'une connectivité plus prononcée et un plus grand nombre de canaux. Les canaux et connexions sont particulièrement nombreux chez *Sus scrofa* mais les deux groupes présentent une zone de chevauchement relativement étendue. On remarque également que les variations de la porosité corticale et l'orientation par rapport à l'axe Z sont plus dispersées chez *Sus scrofa* le long de l'axe 2.

### 2.2.3. Arbre de décision et Forêt aléatoire

Les résultats de l'analyse par arbre de décision et forêt aléatoire permettent de classer les individus dans la bonne espèce avec une erreur totale de **11,18 %**. La totalité des spécimens humains sont classés correctement mais un échantillon de *Sus scrofa* et de *Bos taurus* sont incorrectement classés en tant qu'*Homo sapiens*. De plus, neuf spécimens de *Sus scrofa* sont identifiés en tant que *Bos taurus* tandis que sept échantillons de *Bos taurus* sont classés dans l'espèce porcine (Figure 51). Le premier paramètre le plus discriminant est la longueur moyenne des branches (Ca.Le) qui possède un poids de décision de 12,7, identifié via l'ensemble des 5000 arbres effectués. Ce paramètre apparaît, en outre, discriminant à différents niveaux de classification d'espèce, comme l'illustre l'exemple d'arbre de décision de la Figure 51, où il est utilisé en première et troisième divisions de l'échantillon. Le nombre de connexions (Ca.ConnD) est la seconde variable la plus discriminante avec un poids de décision de 6,1. Viennent ensuite le diamètre minimum (Ca.D.min, poids de 5,18), la porosité corticale (CaV/TV, poids de 4,93), le

diamètre médian (Ca.D.med, poids de 4,60), le nombre de canaux (Ca.N, poids de 4,32) et le diamètre maximal des canaux (Ca.D.max, poids de 3,53). Enfin, les orientations moyennes par rapport aux axes anatomiques ne sont pas identifiées comme des variables discriminantes.

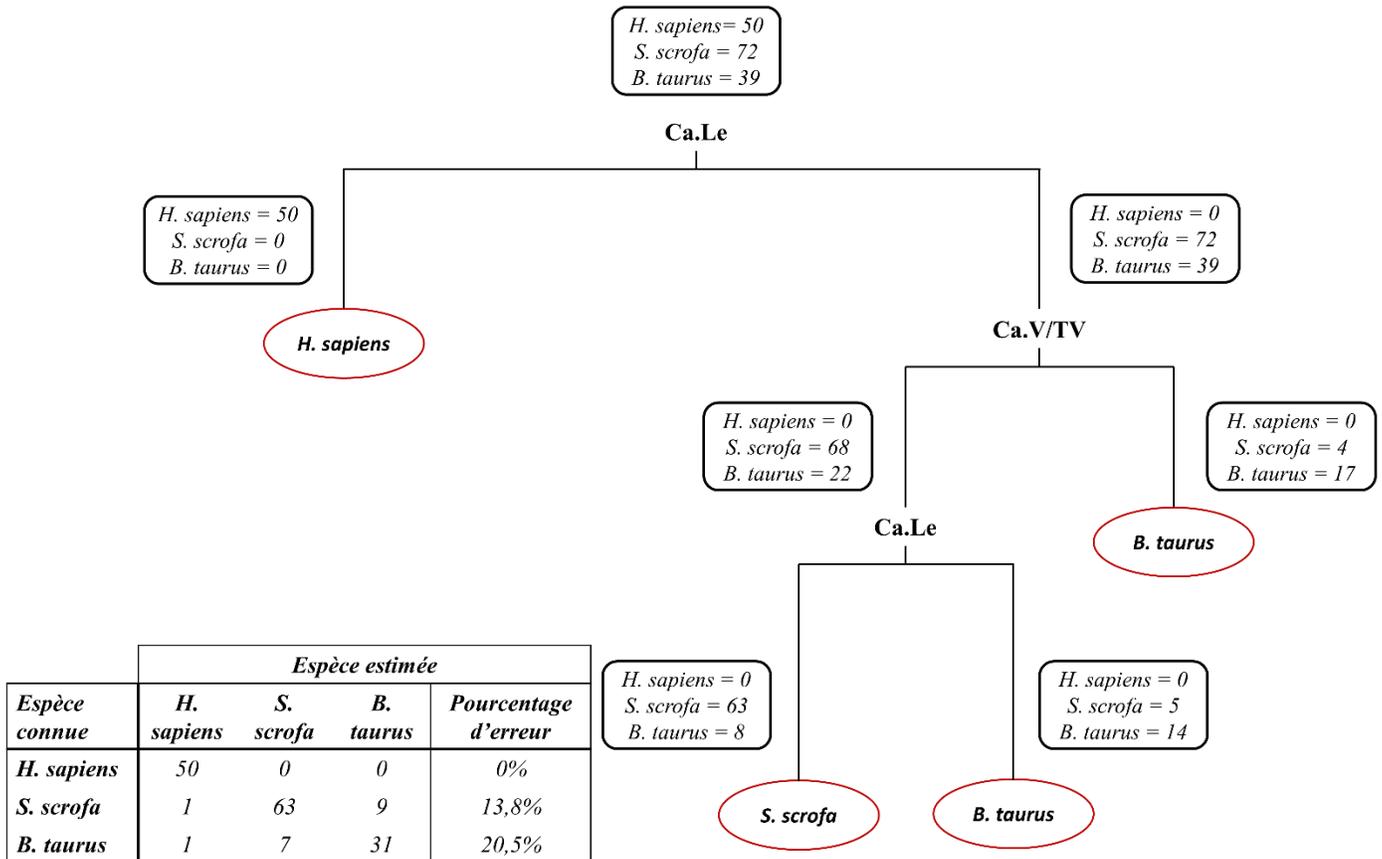


Figure 51 : Exemple d'arbre de décision répartissant progressivement les spécimens dans les groupes d'espèces estimées (ovales) et tableau récapitulatif des résultats de la forêt aléatoire. Le nombre d'individus des espèces réelles repartis à chaque bifurcation de l'arbre est indiqué dans les carrés.

## 2.2.4. Cartes d'orientation

Les cartes d'orientation obtenues pour chaque VOI mettent en évidence plusieurs schémas (Tableau 14 et Figure 52).

Tableau 14 : Récapitulatif des différentes orientations des canaux observées pour chaque espèce.

<b>Espèce</b>	<b>Axe d'orientation préférentiel</b>	<b>Orientation des canaux correspondante</b>	<b>Nb</b>
<b><i>Homo sapiens</i></b>	Axe Z	Longitudinale	50
<b><i>Bos taurus</i></b>	Axe Z	Longitudinale	3
	Axe X	Medio-latérale	28
	Pas d'axe préférentiel	Multiple	8
<b><i>Sus scrofa</i></b>	Axe Z	Longitudinale	16
	Axe X	Medio-latérale	30
	Axe Y	Antéro-postérieure	6
	Absence d'axe préférentiel	Multiple	20

Les spécimens humains présentent majoritairement des canaux longitudinaux, parallèles à l'axe Z. La Figure 52A montre, en effet, une importante densité de canaux au centre du cercle de droite. On peut cependant noter la présence de quelques canaux obliques s'éloignant du centre du cercle de gauche, mais peu nombreux selon la faible densité de canaux dans ces zones. Les échantillons de *Bos taurus* et de *Sus scrofa* possèdent différents types d'orientation des canaux : des orientations longitudinales, médio-latérales ou sans direction préférentielle. Les cas d'orientation longitudinale chez l'animal se retrouvent uniquement en VOI 2, excepté pour BT7\_VOI1. L'orientation médio-latérale se manifeste par un regroupement de l'orientation des canaux autour de l'axe X (Figure 52C, 0-180°) et se retrouve pour la majorité des animaux, en particulier en VOI 1. Certains spécimens de *Bos taurus* et de *Sus scrofa* présentent une dispersion plus importante et des orientations plus variées, sans direction préférentielle claire (Figure 52D). Ce type d'organisation se retrouve en particulier chez *Sus scrofa* et apparaît uniquement en VOI 3. Enfin, *Sus scrofa* est la seule espèce à présenter une orientation préférentielle antéro-postérieure (Figure 52B), en VOI 1, excepté pour SS1\_VOI3.

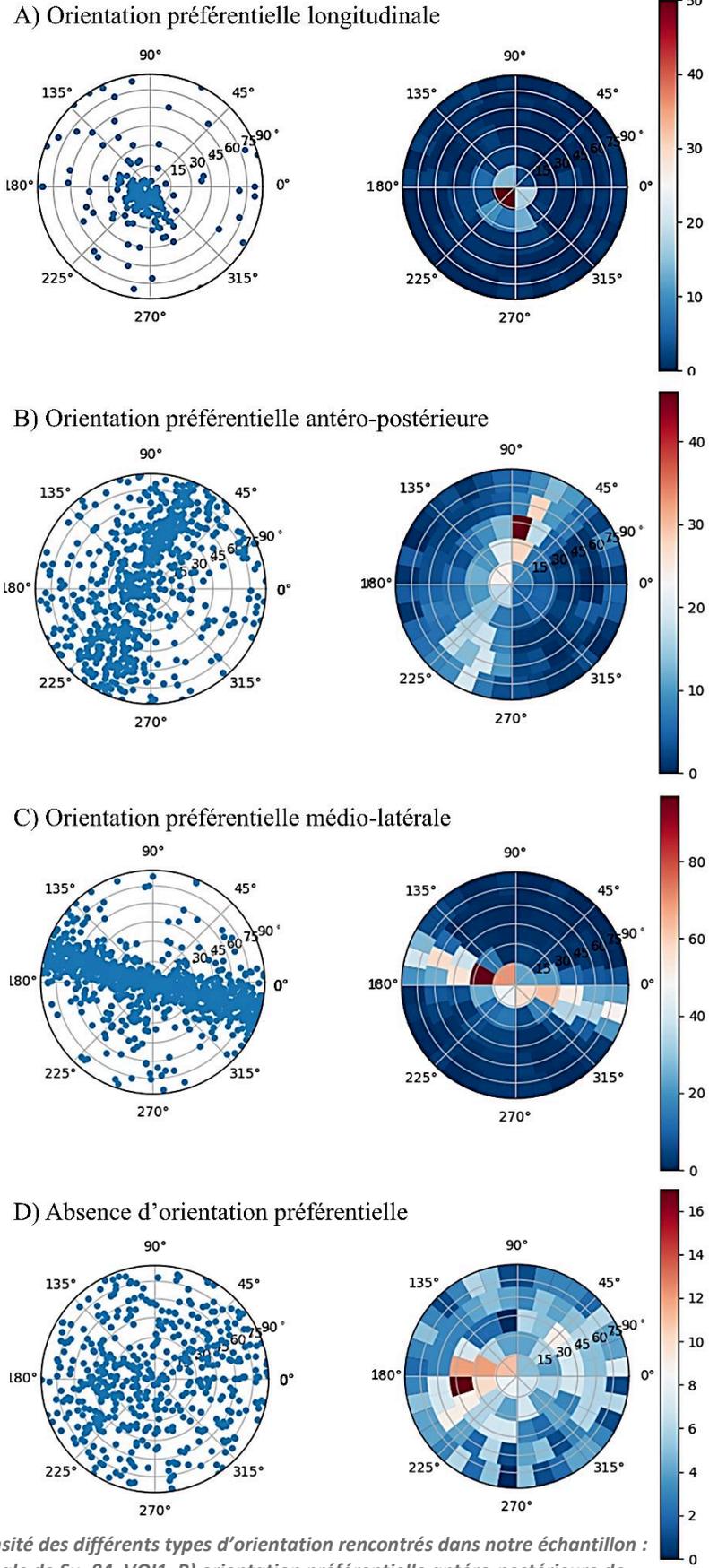


Figure 52 : Cartes de répartition et de densité des différents types d'orientation rencontrés dans notre échantillon : A) orientation préférentielle longitudinale de Su\_84\_VOI1, B) orientation préférentielle antéro-postérieure de SS18\_VOI1, C) orientation préférentielle médio-latérale de SS11\_VOI3, D) absence d'orientation préférentielle de SS1\_VOI3

## **DISCUSSION**

---

# 1. VARIABILITÉ INTRA-SPÉCIFIQUE

---

## 1.1. VARIABILITÉ INDIVIDUELLE

L'os cortical est un tissu dynamique et complexe, dont la structure est influencée par un grand nombre de facteurs. Des variations liées à l'âge (Robling et Stout, 2007 ; Burr *et al.*, 1990 ; Britz *et al.*, 2009 ; Pfeiffer, 1998 et 2006 ; Crowder, 2013 ; Dominguez et Agnew, 2016 ; Goliath, 2016) au sexe (Burr *et al.*, 1990 ; Robling et Stout, 2007 ; Britz *et al.*, 2009), des effets de population (Cho *et al.*, 2002 et 2006 ; Thompson et Gunness-Hey, 1981 ; Pfeiffer *et al.*, 2016), les contraintes biomécaniques (Burger *et al.*, 2003 ; Matsumoto *et al.*, 2006 ; Skedros, 2011 ; Britz *et al.*, 2009 et 2012 ; Skedros *et al.*, 1997 et 2003 ; Miskiewicz, 2016 ; Gocha et Agnew, 2016) ou encore certaines conditions pathologiques (Hillier et Bell, 2007 ; Siris et Roodman, 2013 ; Torres-Del-Pliago *et al.*, 2013 ; Harrison et Cooper, 2015 ; Rochefort, 2014) affectent l'organisation osseuse.

Nous n'avons pas pu évaluer les effets de l'âge en raison des estimations d'âge trop large de notre échantillon. Néanmoins notre corpus se compose uniquement d'individus adultes, limitant les variations liées à l'âge pour les paramètres métriques. En effet, il semblerait que les données métriques des composants de l'os cortical restent relativement stables chez les individus matures d'une espèce pour un os donné (Martiniaková *et al.*, 2005). Néanmoins, chez les sujets âgés (> 70 ans), certains paramètres de la microstructure corticale évoluent de façon importante. Les sujets âgés présentent une corticale plus fine, quelle que soit la région ou la face de l'os concernée (Perilli *et al.*, 2015), ainsi qu'une augmentation de la porosité corticale, probablement due à un élargissement du diamètre des canaux (Thomas *et al.*, 2006 ; Cooper *et al.*, 2007b ; Perilli *et al.*, 2015).

Nous avons testé les effets du sexe sur l'organisation corticale de l'échantillon humain. Nous n'observons pas de différence dans l'agencement qualitatif du tissu osseux ni de distinction significative entre les hommes et les femmes pour les paramètres métriques de la microstructure corticale. Ces résultats concordent avec ceux de plusieurs études précédentes (Stout et Paine, 1992 ; Stout *et al.*, 1994 et 1996 ; Pfeiffer, 1998 ; Pfeiffer *et al.*, 2006 ; Keough *et al.*, 2009 ; Dominguez et Agnew, 2016). Toutefois, d'autres auteurs ont pu mettre en évidence des

différences significatives entre hommes et femmes (Burr *et al.*, 1990 ; Dupras et Pfeiffer, 1996 ; Britz *et al.*, 2009). Ces divergences concernent en particulier les dimensions des ostéons mais également l'aire et le diamètre des canaux de Havers (Burr *et al.*, 1990 ; Mulhern et Van Gerven, 1997). Ces recherches ne tendent, cependant, pas vers la même conclusion, puisque les valeurs obtenues sont tantôt plus importantes chez la femme, tantôt chez l'homme, ne permettant donc aucun résultat consensuel sur la question.

## **1.2. VARIABILITÉ INTER-OSSEUSE**

### **1.2.1. Différences entre os longs (humérus et fémurs)**

Les comparaisons menées dans notre étude entre différents ossements d'une même espèce (*Bos taurus* et *Sus scrofa*) ne montrent pas de différence significative entre le fémur et l'humérus. Cette similitude d'organisation osseuse peut être liée au mode de locomotion quadrupède de ces animaux. Le fémur et l'humérus occupent les mêmes places et fonction au niveau des membres postérieurs et antérieurs, associés à des contraintes mécaniques sans doute très proches. Dans une étude de 2008, Zedda *et al.*, observent, toutefois, des ostéons légèrement plus larges sur le fémur par rapport à l'humérus chez *Bos taurus*. Cependant, ces auteurs ne mentionnent pas de variation des canaux de Havers.

Nous n'avons malheureusement pas été en mesure de comparer nos données issues des fémurs humains de notre échantillon avec les humérus correspondants. Cependant, il a été montré que les contraintes biomécaniques et l'intensité des forces associées varient selon les ossements observés, en lien avec leur fonction (Skedros, 2011), ainsi qu'au sein d'un même ossement. Ces différences semblent agir sur l'organisation osseuse et notamment ses paramètres microstructuraux (Skedros *et al.*, 2003 ; Currey, 2013 ; Skedros, 2011 ; Harrison et Cooper, 2015). Elles influencent, du moins en partie, le remodelage osseux en adaptation à l'environnement. Le remodelage permet de diminuer la masse osseuse afin de conserver une souplesse de mouvement pendant la marche tout en répondant aux besoins biomécaniques de l'os (Dellanini *et al.*, 2003). Drapeau et Streeter (2006) montrent notamment que le remodelage n'est pas uniforme sur l'ensemble de la diaphyse fémorale. Chan *et al.* (2007) observent également de

grandes différences selon les régions du fémur qu'ils interprètent comme des variations de remodelage en réponse à des stimuli biomécaniques. Ces divergences existent entre le fémur et l'humérus chez *Homo sapiens*, associées notamment aux différences d'activités et de stress existant entre les membres porteurs et non-porteurs (Bry, 2015 ; Gauthier *et al.*, 2018). Les os longs porteurs, tel que le fémur, sont soumis de façon constante à des forces de compression liées à la gravité et au poids du corps ainsi qu'à la stature debout. À cela s'ajoutent des charges non uniformes liées à l'activité physique comme la course ou la marche. L'ensemble de ces contraintes répétées rend le fémur plus susceptible aux micro-dommages osseux et aux fractures de fatigue (Lafforgue, 2013 ; Bry, 2015). L'humérus ne répondant pas à ces contraintes de soutien ou de masse corporelle est plus influencé par l'action des muscles. Cet os subit des forces de compression associées aux mouvements de l'épaule ainsi que des contraintes de traction liées au port de charges (Bry *et al.*, 2015). Ces différences de contraintes nécessitent des adaptations spécifiques et distinctes pour ces deux ossements. L'humérus est moins résistant et plus rigide que le fémur, celui-ci devant mieux résister aux forces et aux déformations afin de limiter les risques de fracture. Du point de vue de la microstructure corticale, une étude comparative entre fémur et humérus menée par Bry (2015) montre la présence de canaux plus fins et plus nombreux dans la corticale de l'humérus que dans celle du fémur. L'auteur explique ces différences par un besoin en apport nutritionnel plus important pour le fémur, d'où la présence de canaux plus larges. De plus, le remodelage osseux serait plus important au niveau du fémur, en réponse adaptative à des contraintes physiques plus marquées s'exprimant de façon constante sur cet os.

### **1.2.2. Latéralisation**

Les comparaisons menées entre les os gauches et droits des trois espèces mettent en évidence des variations significatives uniquement au sein de l'échantillon humain, pour les diamètres des canaux (Ca.Dmin, Ca.Dmax, Ca.Dmed) et l'orientation par rapport à l'axe Y (antéro-postérieur). Cette asymétrie généralisée tend vers des canaux plus petits dans les membres droits et une orientation plus concentrée autour de 90 degrés par rapport à l'axe Y. Nous avons vu que la taille des ostéons et des canaux de Havers varie selon les forces appliquées sur l'os. Les régions soumises à des contraintes plus intenses présentent des structures aux diamètres plus réduits (Van Oers *et al.*, 2008 ; Britz *et al.*, 2009 ; Skedros, 2011). Les différences observées pourraient

alors être révélatrices de contraintes plus marquées sur le membre inférieur droit des individus de notre échantillon. De plus, l'orientation des ostéons semble suivre l'axe des stress principaux (Burr *et al.*, 1985 ; Heřt *et al.*, 1994 ; Petrtýl *et al.*, 1996 ; Basillais *et al.*, 2007 ; Harrison et Cooper, 2015). Une orientation plus concentrée pourrait être un signe de stress plus important du côté droit. Il est reconnu que le corps humain n'est pas totalement symétrique. Des variations entre les ossements d'une même paire, associées à des stress ou contraintes différentes, existent. Ces variations, de longueur, de masse, de géométrie ou de structure des ossements, sont surtout documentées pour le membre supérieur (Ruff et Jones, 1981 ; Harris, 1990 ; Trinkaus *et al.*, 1994 ; Steele *et al.*, 1995 ; Sakaue, 1998 ; Lazenby, 2002 ; Kanchan *et al.*, 2008 ; Sparacello *et al.*, 2017 ; Dare *et al.*, 2019). Les variations bilatérales du membre inférieur sont moins fréquentes et moins marquées, sans doute en lien avec des charges plus homogènes entre les deux jambes. Elles sont, toutefois, également identifiées (Latimer et Lowrance, 1965 ; Ruff et Jones, 1981 ; Plochocki, 2004 ; Auerbach et Ruff, 2006 ; Pierre *et al.*, 2010 ; Eckhoff *et al.*, 2016) et semblent notamment correspondre à un équilibrage de l'asymétrie du membre supérieur en renforcement du membre inférieur opposé au bras dominant, en rôle de jambe d'appui par exemple. C'est ce que l'on appelle « symétrie croisée » (Plochocki, 2004). Les populations humaines comprennent une majorité de droitiers, induisant en contrebalancement une majorité de personnes favorisant la jambe gauche comme jambe d'appui (Auerbach et Ruff, 2006). Or, dans notre étude, c'est la jambe droite qui semble la plus soumise aux contraintes mécaniques. Ce constat a déjà été mentionné dans la littérature, en particulier dans les analyses comportementales s'intéressant à la latéralité du membre inférieur. Celles-ci documentent une plus haute fréquence d'utilisation préférentielle de la jambe droite comme jambe de frappe au sein de populations humaines. (Gentry et Gabbard, 1995 ; Bell et Gabbard, 2000 ; Martin *et al.*, 2004 ; Auerbach et Ruff, 2006 ; Vieira *et al.*, 2014). Il semblerait alors que le membre controlatéral non favorisé en tant que jambe d'appui soit préférentiellement utilisé pour les activités comme la frappe et, en réalité, soumis aux contraintes mécaniques les plus importantes. Cela expliquerait nos résultats, néanmoins, toute tentative d'interprétation d'asymétrie bilatérale du membre inférieur en lien avec des charges mécaniques est en partie biaisée par son rôle de membre porteur.

### 1.3. VARIABILITÉ INTRA-OSSEUSE

Les forces et contraintes mécaniques ont une influence sur l'organisation microstructurale à l'échelle régionale, le long de l'axe de la diaphyse des os longs ou selon les régions d'une même section osseuse (Skedros 2011, Perilli *et al.*, 2015, Gocha et Agnew, 2016).

Notre analyse met en évidence des variations entre les zones proximale, médiane et distale de la face antérieure du fémur et de l'humérus pour les trois espèces étudiées. Chez *Homo sapiens*, le VOI distal se démarque des deux autres, en particulier pour les valeurs des diamètres des canaux (Ca.Dmin, Ca.Dmax, Ca.Dmed), beaucoup plus importantes en région distale, de même qu'une porosité corticale (CaV/TV) plus élevée. L'orientation par rapport à l'axe X (Ca.orX) est également plus oblique en VOI distal. Nous observons des variations similaires chez *Bos taurus* avec des diamètres, une longueur des canaux (Ca.Le) et une porosité corticale plus élevée en VOI distal mais une connectivité (Ca.Conn.D) et un nombre de canaux (Ca.N) moins importants. En revanche, le VOI proximal des spécimens humains présente des longueurs moyennes de canaux significativement moins importantes qu'en VOI distal et médian. Enfin, chez *Sus scrofa* les différences majeures se situent entre les VOI médian et proximal. Les canaux sont plus larges et la porosité corticale plus importante en région proximale de la diaphyse.

Ces variations sites-spécifiques sont sans doute à mettre en lien avec les contraintes tendino-musculaires variant selon les différentes régions osseuses ainsi que la répartition le long de l'axe longitudinal de l'os des forces liées aux mouvements et au soutien du poids du corps (Frost, 1997 ; Duda *et al.*, 1997 et 1998 ; Currey, 2003 ; Ural et Vashishth, 2006). Les valeurs obtenues dans notre étude suggèrent des contraintes plus marquées aux niveaux proximal et médian des ossements d'*Homo sapiens* et de *Bos taurus*. Les canaux moins larges, plus nombreux et interconnectés que nous observons en partie médiane et proximale seraient le signe d'un remodelage plus important en réponse à des stress biomécaniques plus élevés (van Oers, 2008). En outre, le fémur humain est soumis à des forces de tension/compression selon l'axe medio-latéral (Skedros et Baucom, 2007 ; Skedros, 2011 ; Puymerail, 2013) pouvant expliquer l'orientation plus oblique des canaux de ces régions, suivant l'axe des forces de compression (Burr *et al.*, 1985 ; Heřt *et al.*, 1994 ; Petrýl *et al.*, 1996 ; Basillais *et al.*, 2007 ; Harrison et Cooper,

2015). À l'inverse, Matsumoto *et al.* (2006) montrent que l'immobilisation entraîne une raréfaction du réseau canalaire chez le rat, manifestée par une diminution de la densité de canaux et de connexions. Dans cette optique, les canaux plus larges, moins nombreux et moins connectés en partie distale traduiraient une action du remodelage osseux plus restreinte associée à des charges mécaniques moins importantes ou différentes (Figure 53).

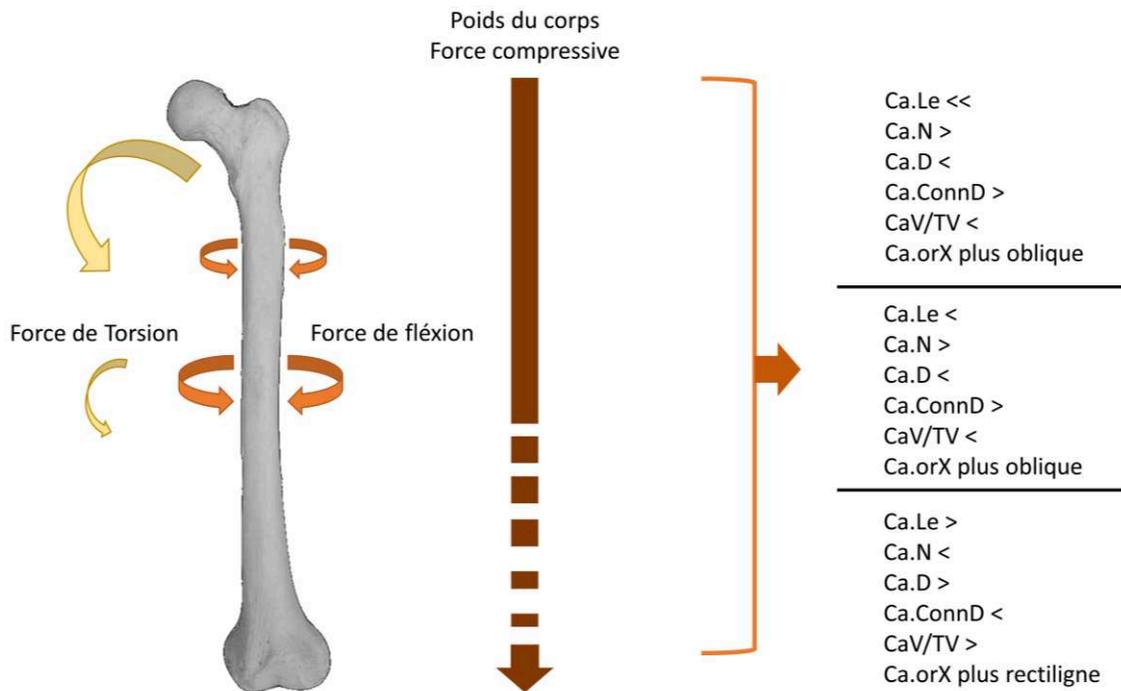


Figure 53 : Schéma récapitulatifs des forces agissant sur le fémur et leur potentiel effet sur les paramètres de la microstructure corticale.

Les variations observées ne sont pas uniquement dues à la puissance des charges appliquées à l'os, mais aussi aux types de forces en action. Il a, en effet, été démontré qu'en plus de leur magnitude, le type de force exercée sur l'os ne provoquait pas les mêmes réponses adaptatives au niveau microstructural (Skedros, 2009 et 2011). Des variations des paramètres microstructuraux de l'os cortical, selon la face de l'os (médiale, latérale, antérieure, postérieure) sont largement documentées, notamment pour le fémur (Thomas *et al.*, 2006 ; Chan *et al.*, 2007 ; Van Oers *et al.*, 2008 ; Zedda *et al.*, 2014 ; Maggiano *et al.*, 2015 ; Perilli *et al.*, 2015 ; Gocha et Agnew, 2016 ; Mayya *et al.*, 2016 ; Cummaudo *et al.*, 2018). La majorité de ces analyses montrent un phénomène similaire : une densité plus importante d'ostéons en région postérieure comparée aux régions latérale et antérieure. Ces études démontrent la présence de forces de compression

médiales et postérieures ainsi que des forces de tension en partie antérieure et latérale (Goldman *et al.*, 2005 ; Skedros 2011 ; Zedda *et al.*, 2018). Il semble donc que les régions soumises à des forces majoritaires de compression tendent à développer un plus grand nombre de structures, en particulier secondaires, comparé aux régions sous tension chez l'homme et chez l'animal (Martin *et al.*, 1996 ; Zedda *et al.*, 2008, 2014 et 2018 ; Skedros *et al.*, 2009 ; Skedros, 2011 ; Gocha *et Agnew*, 2016 ; Mayya *et al.*, 2016). Il apparaît très probable que ce principe s'applique également aux différentes régions de la diaphyse osseuse. Bien que ces variations de contraintes soient moins documentées, elles sont mentionnées pour les régions proximale et médiane de la diaphyse fémorale humaine (Skedros *et Baucom* 2007 ; Skedros 2011) et peuvent être mises en lien avec les variations de Ca.Le que nous observons. Les mêmes types de forces agissent dans ces régions mais dans des proportions différentes. Les forces de flexion sont plus importantes en région proximale que dans la région médiane où les forces de torsion prévalent (Skedros *et Baucom* 2007). Mayya *et al.* 2016, observent également un pic de forces compressives au niveau de la mi-diaphyse du fémur de *Bos taurus* qui se diffuse peu à peu en direction des extrémités distale et proximale. Nos résultats peuvent être mis en lien avec ces analyses biomécaniques afin d'expliquer les différences que nous observons entre les VOI 1 et 2 chez *Sus scrofa* ainsi que les différences que nous observons pour Ca.Le entre le VOI médian et les deux autres régions de l'os chez l'Homme ou encore la présence d'une orientation préférentielle longitudinale uniquement présente en VOI proximal pour les espèces animales.

Ces différences entre VOI s'expriment également du point de vue qualitatif chez l'animal. Certaines régions présentent un type d'os majoritaire (Figure 54). L'os réticulaire et radial se retrouvent quasi exclusivement en VOI 3 et l'os plexiforme en VOI 1 et 2. Le VOI 2 de *Sus scrofa* possède la plus grande variabilité de tissu avec la présence de cinq types d'os ou combinaisons de types d'os. Les cartes de répartition de l'orientation des canaux confirment ces observations, l'absence d'orientation préférentielle se retrouve uniquement en VOI 3 et l'orientation préférentielle médio-latérale domine en VOI médian. Cuijpers *et Lauwerier* (2008) observent également des différences d'organisation osseuse entre, d'une part les parties proximale et distale d'ossements de bovins et d'équidés et, d'autre part la région de la mi-diaphyse. Les régions médianes s'organisent en lamelles parallèles très ordonnées tandis que les extrémités présentent

une structure plus complexe et anarchique. En outre, Mayya *et al.* 2016 présentent des résultats similaires aux nôtres pour *Bos taurus*. Concernant la face antérieure de la diaphyse fémorale, ces auteurs remarquent également une différence d'organisation entre la partie distale, composée d'os plus compact et moins organisé, par rapport aux régions proximale et médiane composées d'os plexiforme.

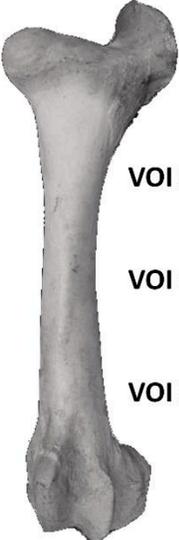
<b><i>Bos taurus</i></b>			<b><i>Sus scrofa</i></b>		
	Type d'os	Orientation préférentielle		Type d'os	Orientation préférentielle
	<b>VOI 2</b> Os plexiforme	Medio-latérale		<b>VOI 2</b> Os plexiforme	Medio-latérale Antéro-postérieure
	<b>VOI 1</b> Os plexiforme	Medio-latérale		<b>VOI 1</b> Canaux longitudinaux Os plexiforme et réticulaire associés	Medio-latérale Longitudinale
	<b>VOI 3</b> Os réticulaire Os plexiforme	Medio-latérale Multiple		<b>VOI 3</b> Os réticulaire Os plexiforme Os radial Os plexiforme et réticulaire associés	Medio-latérale Multiple

Figure 54 : Récapitulatif des types d'os et orientations préférentielles par VOI pour *Bos taurus* et *Sus scrofa*.

Nos observations morphologiques concordent avec les analyses quantitatives. Les différences d'organisation du tissu osseux chez les espèces animales de notre corpus semblent être dues à des orientations et types de contraintes variables pendant la croissance et la vie des individus, induisant l'apposition de tissus divers en accommodation à ces forces (Enlow, 1963 ; Currey, 2003 ; de Margerie *et al.*, 2002, Li *et al.*, 2013). L'os réticulaire semble indiquer des contraintes moins intenses ou multidirectionnelles en partie distale des ossements animaux, résultant en une organisation sans orientation préférentielle visible, tandis que l'os plexiforme apparaît en adaptation aux forces majeures le long de l'axe de la diaphyse. La complexité des tissus observés chez *Sus scrofa* peut également indiquer une association de contraintes sans réelle orientation majoritaire commune à l'ensemble des individus.

Ces inférences biomécaniques peuvent contribuer à expliquer les différences d'organisation observées entre des régions osseuses pour un même os et une espèce précise. Néanmoins, nous gardons à l'esprit que les mécanismes agissants sur la microstructure corticale sont multiples et complexes. Les modèles biomécaniques ne suffisent pas à eux seuls à rendre compte et interpréter les processus de remaniement de l'os cortical.

## 2. IDENTIFICATION D'ESPÈCES

---

### 2.1. OBSERVATIONS QUALITATIVES

L'organisation de l'os humain dans notre échantillon se distingue clairement de celle des animaux. L'os secondaire haversien apparaît, en effet, typique des ossements humains tandis que l'os plexiforme est représenté en majorité chez *Bos taurus* et *Sus scrofa*. Nous remarquons également la présence d'os réticulaire, radial ainsi que des canaux longitudinaux chez les espèces animales. Nos résultats concordent avec les études s'intéressant à l'organisation microstructurale du tissu osseux cortical de différentes espèces (Brits *et al.*, 2014, Hiller et Bell, 2007 ; Cuijpers 2006 ; Martiniaková *et al.*, 2006 et 2007 ; Crescimmano et Stout, 2012). Cependant, nous n'observons pas d'os avasculaire, rencontré par certains auteurs chez *Bos taurus* (Enlow, 1963 ; Brits, 2014 ; Cuijpers, 2006 ; Martiniaková *et al.*, 2006 et 2007). Sur la base de l'organisation des canaux, il est donc possible de faire la distinction entre des spécimens humains et animaux. Cependant, les espèces animales présentent des organisations vasculaires très similaires. Ces observations confirment les résultats obtenus précédemment (Cuijpers, 2006 ; Martiniaková *et al.*, 2006 ; Morales *et al.*, 2012).

La structure osseuse est influencée par le mode de croissance osseuse, rapide chez les grands mammifères et plus lent chez l'homme (de Ricqlès 1980 ; Cuijpers, 2006 ; Cuijpers et Lauwerier, 2008). Cette différence contribue à expliquer la présence majoritaire d'os fibro-lamellaire chez *Bos taurus* et *Sus scrofa*. Face à ces similitudes trop importantes entre certaines espèces animales, Cuijpers et Lauwerier (2008) proposent d'aller plus loin et de s'intéresser aux sous-types du tissu fibro-lamellaire en comparant des ossements de bœuf et de cheval. Selon ces auteurs, la distinction réside dans les proportions des composantes lamellaires et fibreuses au sein de l'os fibro-lamellaire. Ils notent par exemple une prédominance de la part fibreuse chez le bœuf comparé au cheval. Cette étude apporte de nouveaux éléments de comparaison, cependant, le test à l'aveugle effectué présente un taux d'erreur trop important. Ce nouveau critère de distinction n'est donc pas suffisant.

Par ailleurs, notre échantillon humain ne montre pas de différence d'organisation osseuse. Toutefois, comme mentionné par Cummaudo *et al.*, (2018), il est peu probable que le squelette humain ne présente qu'un seul type os. Dans leur étude, ces auteurs analysent le squelette complet d'un individu d'époque médiévale dont l'âge est estimé entre 25 et 46 ans. Ils notent une majorité d'os haversien (71 %) mais observent également la présence d'os lamellaire primaire ainsi que de l'os avasculaire en partie distale du radius et de l'os radial en partie distale de la fibula. À l'inverse, en particulier chez les sujets matures, l'os haversien, dense ou irrégulier, se retrouve fréquemment chez certaines espèces animales (Martiniaková *et al.*, 2006 ; Hillier et bell, 2007 ; Zedda *et al.*, 2008 et 2018). Ces résultats confirment que la présence d'os secondaire haversien n'est pas systématiquement un signe distinctif de l'os humain.

Mulhern et Ubelaker (2001), analysent les caractéristiques quantitatives des bandes d'ostéons afin de distinguer avec succès des restes humains et animaux. Cependant, il n'est, encore une fois, pas possible d'identifier l'espèce animale plus précisément par ce caractère. Comme ces auteurs, nous n'avons recensé des cas de bandes d'ostéons que chez les animaux. Cependant, Cummaudo *et al.*, (2018) observent des bandes d'ostéons chez des sujets humains adultes, au niveau de la métaphyse distale de l'humérus ainsi que de la diaphyse du fémur. De même, Andrownoski *et al.* (2017) répertorient des cas de bandes d'ostéons sur 23 des ossements de leur étude, soit 18 % de leur échantillon. Ce phénomène n'apparaît donc pas si anecdotique chez l'homme, ni propre aux individus immatures (Pfeiffer, 1996 ; Cuijpers, 2006 ; Caccia *et al.*, 2016). Il ne constitue donc pas un critère de distinction, contrairement à ce qui était auparavant admis.

## 2.2. ANALYSE QUANTITATIVE

Peu d'études se sont consacrées à l'évaluation des paramètres tridimensionnels des canaux corticaux chez l'animal. Nous n'avons donc pas été en mesure de comparer l'ensemble des variables mesurées dans ce travail avec d'autres travaux pour les trois espèces étudiées. Néanmoins, les analyses 3D du réseau canalaire cortical humain se multiplient depuis quelques années (Basillais *et al.*, 2007 ; Cooper *et al.*, 2007 ; Chappard *et al.*, 2013 ; Perilli *et al.*, 2015 ; Gauthier *et al.*, 2018). Les diamètres que nous mesurons sont similaires à ceux observés par Gauthier *et al.*, (2018) (Tableau 15). Cependant, ils correspondent aux valeurs minimales enregistrées par Cooper *et al.* (2007), Basillais *et al.* (2007) et Chappard *et al.* (2013). Nos valeurs de connectivité sont en accord avec les données de Cooper *et al.* (2007) et Chappard *et al.* (2013). De même, les porosités corticales que nous mesurons sont similaires aux données de Cooper *et al.* (2007), Perilli *et al.* (2015) ainsi que la porosité corticale obtenue par Basillais *et al.* (2007) pour les régions proximale ( $3,8 \pm 3,1$  %) et médiane ( $9,3 \pm 5,7$  %) du fémur. Elles apparaissent néanmoins basses par rapport aux données de la région distale du fémur de l'étude de Basillais *et al.* (2007) ainsi que celles de Chappard *et al.* (2013). Ces valeurs basses sont sans doute à mettre en lien avec l'âge des sujets étudiés par ces auteurs. En effet, ces études se basent sur une population âgée (moyenne d'âge respective de  $70 \pm 6$  ans et  $79,3 \pm 14$  ans). Chez les sujets âgés, le diamètre des canaux semble augmenter avec l'âge (Thomas *et al.*, 2006 ; Cooper *et al.*, 2007 ; Perilli *et al.*, 2015). Par ailleurs, la porosité corticale observée en partie distale du fémur de l'étude de Basillais *et al.*, (supérieure à 50 %) est clairement anormale comme mentionnés par Currey et Shahar (2013), qui supposent que, dans ces régions, une portion d'os trabéculaire a été prise en compte, biaisant ainsi la mesure. À l'inverse de ces résultats, nous mesurons une densité de canaux plus importante que les études précédentes. Ce phénomène est à associer aux différentes méthodes de mesure utilisées pour notre étude et pour les travaux antérieurs (Ulrich *et al.*, 1999 ; Cooper *et al.*, 2007 ; Perilli *et al.*, 2015) dans lesquels le nombre de canaux correspond à la réciproque de la distance moyenne entre les axes centraux des structures analysées. Ce nombre est calculé comme l'inverse de la somme du diamètre des canaux (Ca.D) et de la distance moyenne entre la surface des canaux (Ca.Sp) :  $Ca.N = 1 / (Ca.D + Ca.Sp)$ . Notre approche est

différente et comptabilise le nombre de branches rapporté au volume d'intérêt mesuré en  $\text{mm}^{-3}$ . Notre méthode est néanmoins similaire à celle présentée par Roothaer *et al.*, 2018.

En parallèle, certains paramètres analysés en histomorphométrie peuvent être comparés à nos résultats, tel que le diamètre des canaux. Les valeurs obtenues dans ce travail pour les paramètres métriques des trois espèces sont semblables à celles obtenues par Martiniaková *et al.* (2006 et 2007), Urbanová et Novotný (2005) et Zedda *et al.* (2008 et 2019) pour ce qui concerne les diamètres minimum et maximum des canaux corticaux (Tableau 15). Nous obtenons des diamètres plus petits chez *Bos taurus* par rapport à *Sus scrofa*, en accord avec les résultats de Morales *et al.* (2012) au contraire des observations de Urbanová et Novotny et de Martiniaková *et al.* selon lesquelles *Sus scrofa* présente des diamètres plus fins. Morales et collaborateurs notent des diamètres des canaux maximum et moyen plus importants chez *Sus scrofa* que chez *Homo sapiens* avec chez ce dernier une densité de canaux plus importante que chez les animaux. Ces données vont à l'encontre de nos résultats et de la grande majorité de ceux présentés dans la littérature (Mulhern et Ubelaker, 2011 ; Hillier et Bell, 2007). À notre connaissance, parmi les nombreuses études portant sur l'analyse du tissu osseux cortical, seule celle de Morales *et al.* identifient des canaux de Havers plus larges chez l'animal que chez l'homme.

Tableau 15: Données métriques 2D et 3D des canaux corticaux présentés dans la littérature.

Article	Espèce	Os	Diamètre minimum des canaux ( $\mu\text{m}$ )	Diamètre moyen de canaux ( $\mu\text{m}$ )	Diamètre maximum des canaux ( $\mu\text{m}$ )	Densité des canaux en 2D ( $\text{mm}^{-2}$ )	Densité des canaux en 3D ( $\text{mm}^{-3}$ )	Porosité corticale (%)	Connectivité ( $\text{mm}^{-3}$ )
Martiniaková et al., 2006	<i>H. sapiens</i>	Fémur	32,26( $\pm$ 7,23)	—	59,99( $\pm$ 21,59)	—	—	—	—
	<i>B. taurus</i>		15,58( $\pm$ 4,32)	—	48,76( $\pm$ 15,59)	—	—	—	—
	<i>S. scrofa</i>		15,61( $\pm$ 5,18)	—	40,60( $\pm$ 14,55)	—	—	—	—
Martiniaková et al., 2007	<i>B. taurus</i>	Fémur	15,60( $\pm$ 4,38)	—	47,47( $\pm$ 14,98)	—	—	—	—
	<i>S. scrofa</i>		15,53( $\pm$ 5,27)	—	40,53( $\pm$ 14,16)	—	—	—	—
Morales et al., 2012	<i>H. sapiens</i>	Tibia	33,99	35,92	38,99	5,99 - 6,62	—	—	—
	<i>B. taurus</i>		21,66	26,24	30,50	2,83 - 4,41	—	—	—
	<i>S. scrofa</i>		29,61	40,09	61,24	1,57 - 2,52	—	—	—
Urbanová et Novotný, 2005	<i>H. sapiens</i>	Fémur	47,15( $\pm$ 0,77)	—	68,73( $\pm$ 1,10)	—	—	—	—
	<i>B. taurus</i>		Tibia	30,99( $\pm$ 1,16)	—	42,56( $\pm$ 1,38)	—	—	—
	<i>S. scrofa</i>		26,23( $\pm$ 0,92)	—	36,18( $\pm$ 1,24)	—	—	—	—
Zedda et al., 2008	<i>B. taurus</i>	Fémur	20,7( $\pm$ 6,1)	—	36,5( $\pm$ 16,7)	—	—	—	—
		Humérus	24,3( $\pm$ 8,4)	—	39,6( $\pm$ 14,2)	—	—	—	—
Zedda et al., 2019	<i>S. scrofa</i>	Fémur	20( $\pm$ 3)	—	23( $\pm$ 7)	—	—	—	—
Basillais et al., 2007	<i>H. sapiens</i>	Fémur	—	58( $\pm$ 16) - 426( $\pm$ 56)	—	—	0.60 ( $\pm$ 0.42) - 1.72( $\pm$ 0.33)	3.8( $\pm$ 3.1) - 58.8( $\pm$ 16.0)	—
Cooper et al., 2007	<i>H. sapiens</i>	Fémur	56	117,2	456,3	6,4 - 18,4	1,27 - 2,79	1,9 - 7,29	2,5 - 28,2
Chappard et al., 2013	<i>H. sapiens</i>	Fémur	60	168.8( $\pm$ 98.7)	397	—	0.64( $\pm$ 0.23)	11.1( $\pm$ 8.1)	30.4( $\pm$ 28.2)
Perilli et al., 2015	<i>H. sapiens</i>	Fémur	127	61	160	—	1,81	3,11	—
Gauthier et al., 2018	<i>H. sapiens</i>	Fémur	—	73,01	—	—	—	8,45	—

Comme pour les observations qualitatives, l'analyse des données quantitatives par ACP permet de séparer les Hommes du reste de l'échantillon. Ils possèdent des diamètres des canaux plus larges ainsi qu'une densité de canaux et de connexions moins importante. Les spécimens de *Sus scrofa* et de *Bos taurus* sont plus difficiles à distinguer entre eux et présentent une importante plage de chevauchement. Cette approche ne permet donc pas d'aller plus loin dans la distinction d'espèces.

L'analyse par arbre de décision apparaît plus prometteuse. En effet, cette nouvelle approche nous a permis d'obtenir un taux de classification correcte à 88,82 % pour l'ensemble des cas testés. Par espèce, nous obtenons un taux de 100 % d'attributions correctes pour les spécimens humains, 79,5 % pour *Bos taurus* et 86,2 % pour *Sus scrofa*. Nos résultats se placent dans la lignée des résultats antérieurs obtenus par analyses discriminantes. Plusieurs études analysant les paramètres des ostéons et canaux de Havers via l'observation de coupes histologiques parviennent à reconnaître des restes humains. Cattaneo *et al.* (2009) obtiennent un taux d'identification correcte d'ossements humains d'environ 70 % pour ce qui concerne les os longs de spécimens adultes et Nor *et al.* (2015) un taux de 96,9 %. Urbanová et Novotný (2005) obtiennent entre 94 % et 100 % d'attributions exactes. Il faut cependant noter que ces derniers auteurs parviennent à ces résultats par le biais de 4 équations distinctes et ne présentent que les équations séparant les spécimens humains des 4 autres groupes testés, rassemblant plusieurs espèces animales. De plus, Martiniaková *et al.* (2006) ainsi que Morales *et al.* (2012), identifient correctement 100 % de leurs échantillons humains. Cela confirme l'efficacité des analyses micromorphométriques de l'os cortical pour distinguer les restes osseux humains de ceux des animaux. Nos résultats s'accordent avec ceux des précédentes études pour *Bos taurus*. En effet, Martiniaková *et al.* (2006) et Morales *et al.* (2012) parviennent respectivement à un taux de 78,54 % et 80 % pour cette espèce.

Nos résultats présentent un meilleur taux d'identification que ceux des études précédentes pour ce qui concerne la distinction de *Sus scrofa*. Notre taux d'identification est en effet de 86,2 % contre respectivement 42,67 % et 75 % pour Martiniaková *et al.* (2006) et Morales *et al.* (2012). Notre approche apparaît donc prometteuse pour aller plus loin dans l'identification d'espèces

animales, y compris celles qui présentent de grandes similitudes d'organisation osseuse comme *Bos taurus* et *Sus scrofa*.

L'analyse par arbres de décision et forêt aléatoire permet de diviser notre échantillon par espèce en fonction des données métriques du réseau canalaire cortical. Cette technique présente l'intérêt de pouvoir être utilisée en sens inverse. Il est, en effet, possible de comparer un échantillon donné à un corpus de référence afin de déterminer son groupe d'appartenance. Cette méthode a été proposée avec succès pour la détermination de l'âge de sujets humains immatures à partir d'un ensemble de mesures confronté à une base de données de référence (Coqueugniot *et al.*, 2016).

### **2.3. ERREURS D'IDENTIFICATION**

L'analyse par forêt aléatoire entraîne deux erreurs de classification de spécimens animaux identifiés comme étant de l'os humain. Il s'agit du VOI proximal de SS24 (Figure 55) ainsi que le VOI médian de BT7 (Figure 56). Les reconstructions tridimensionnelles et les données métriques de ces sujets montrent en effet une connectivité très basse pour ces échantillons, en particulier pour SS24 ( $30,74 \text{ mm}^{-3}$ ), ainsi que des longueurs moyennes des canaux très élevées chez BT7 ( $1033 \mu\text{m}$ ), plaçant ces individus dans la variabilité humaine. Ces résultats peuvent être associés à un remodelage moins actif chez ces individus au moment de leur mort. Il n'est pas non plus exclu que ce phénomène soit associé à l'âge de SS24, abattu jeune pour la boucherie, et pour lequel la maturation osseuse n'est donc pas complètement achevée. Dans le cas de BT7, cependant, les épiphyses sont complètement fusionnées, la maturité osseuse n'apparaît donc pas comme une explication satisfaisante. Il est probable que le mode d'élevage des animaux, en plein air ou en captivité, joue également un grand rôle dans leur développement osseux et que les provenances diverses des échantillons puissent engendrer des différences d'organisation osseuse. Plus d'informations sur les modes de vie de ces animaux seraient nécessaires afin d'aller plus loin dans nos interprétations.

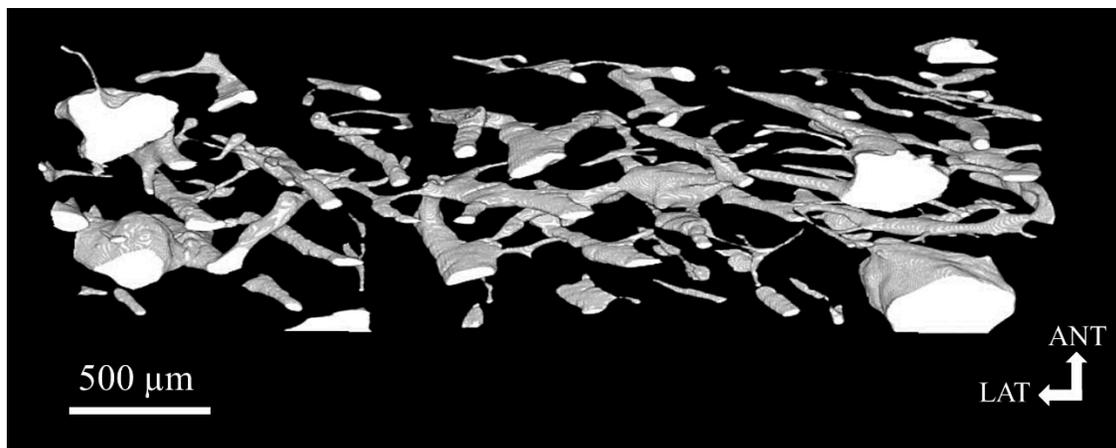


Figure 55 : Reconstruction 3D de SS24\_VOI2, vue supérieure.

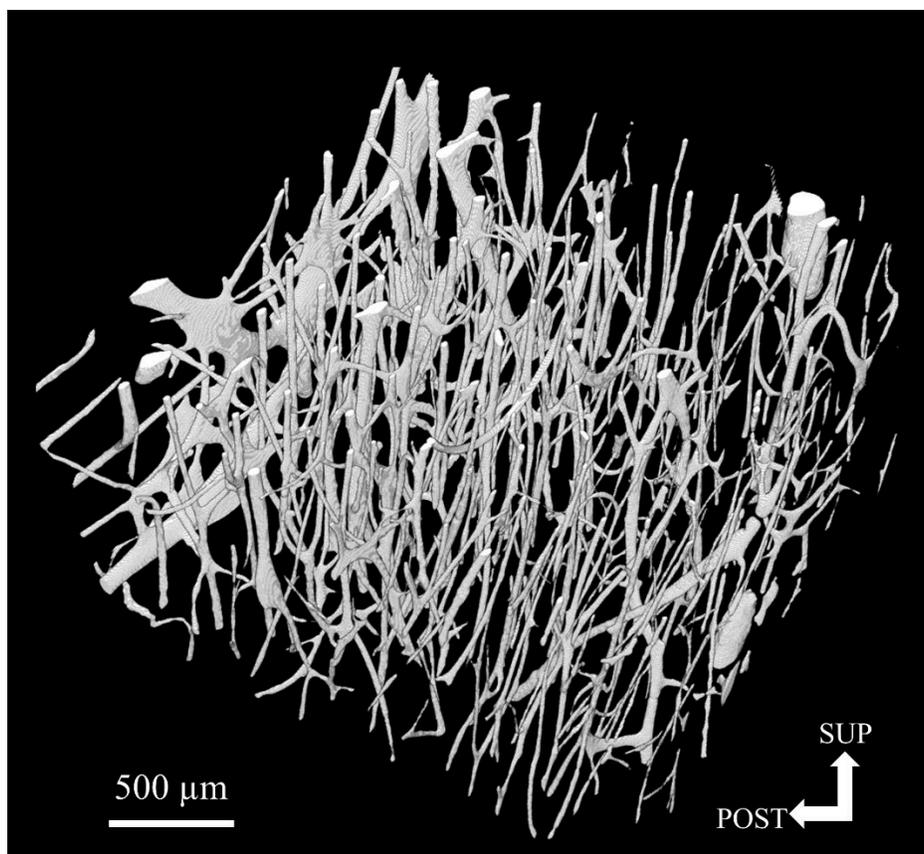


Figure 56 : Reconstruction 3D de BT7\_VOI1, vue antéro-médiale.

Les erreurs d'identification entre *Bos taurus* et *Sus scrofa* sont clairement dues à des organisations osseuses très proches entre ces espèces ne permettant pas de les distinguer à 100 %. On

remarque notamment des diamètres minimum et médian des canaux très similaires avec une importante plage de superposition des valeurs obtenues pour ces deux espèces.

## 2.4. CRITÈRES DISTINCTIFS

L'organisation hétérogène du réseau canalaire cortical n'est présente que chez quatre échantillons de *Sus scrofa* (SS7\_VOI1 et VOI2, SS9\_VOI2 et SS12\_VOI2). Au premier abord, ce caractère semble plutôt spécifique à l'espèce porcine, cependant, une organisation hétérogène est loin d'être exclusive à *Sus scrofa* dans la littérature. La majorité des espèces de grand mammifère, dont le bœuf, présentent aussi des associations de types différents de tissu osseux (Martiniaková *et al.*, 2006, Hillier et Bell, 2007 ; Mulhern et Ubelaker, 2011). Ce critère n'est donc pas fiable pour la distinction d'espèce. De plus, il semble que ce paramètre soit dépendant de la taille des VOI. En effet, des variations entre différentes régions de l'épaisseur de l'os cortical sont connues, en particulier entre les zones sous périostée, intracorticale et endocorticale (Buenzli *et al.*, 2013 ; Zebaze et Seeman 2015 ; Bala *et al.*, 2016). En fonction de la zone sélectionnée au sein de l'épaisseur de la corticale, il est donc possible que certaines variations ne soient pas visibles.

Concernant le type d'os, dans notre étude, la présence d'os haversien dense est caractéristique de l'os cortical humain. Cependant, nous avons vu que ce phénomène n'est pas systématique tout comme la présence d'os plexiforme ou de bandes d'ostéons chez l'animal. Les paramètres métriques apparaissent plus intéressants pour la distinction d'espèces, comme le montrent les résultats de l'analyse par forêt aléatoire. Néanmoins, une partie de ces paramètres présente des variations inter-spécifiques et intra-osseuses. Les résultats des analyses linéaires mixtes obtenues pour chaque paramètre métrique (Tableau 11) montrent une divergence entre le VOI 3 (distal) et les deux autres régions osseuses chez *Homo sapiens* et *Bos taurus* posant problème pour leur utilisation à des fins d'identification de taxons. Les diamètres et l'orientation (cartes de répartition) des canaux semblent en particulier liés aux contraintes biomécaniques. Néanmoins, ces variations, bien que significatives, sont faibles comparées aux différences obtenues entre les trois espèces testées et offrent un taux d'identification élevé. De plus, comme mentionnés par Urbanová et Novotný (2005), c'est aussi l'association des différents paramètres qui est distinctive.

Concernant ces critères métriques pris séparément (Tableau 16), la **longueur des canaux** (Ca.Le) apparaît comme un **critère très discriminant** avec un taux de divergence entre espèces très important (p-valeur  $<10^{-16}$  entre *Homo sapiens* et les espèces animales et 0,001 entre *Bos taurus* et *Sus scrofa*, Tableau 13) ainsi que le poids le plus important dans la forêt aléatoire (12,7). La **connectivité** (Ca.ConnD) semble également être un paramètre majeur d'identification. Elle présente aussi un taux de divergence important (p-valeur  $<10^{-16}$  entre *Homo sapiens* et les espèces animales et 0,008 entre *Bos taurus* et *Sus scrofa*). De plus, l'exemple de SS24\_VOI2 montre que les valeurs anormales ou extrêmes de connectivité entraînent immédiatement un mauvais classement. Cela confirme le pouvoir de décision de ce paramètre. Par ailleurs, le fait que les deux paramètres les plus intéressants pour l'identification d'espèce ne se mesurent de façon fiable qu'en 3D montre l'importance de l'approche tridimensionnelle pour analyse de l'os cortical. Le **nombre, les diamètres et la longueur des canaux** (Ca.N, Ca.D.min, Ca.D.med, et Ca.D.max) sont également discriminants pour identifier les ossements humains avec des poids d'identification par forêt aléatoire situés entre 3,53 et 5,18 ainsi que des p-valeur du test de Wilcoxon toutes inférieures à  $10^{-14}$ .

Dans le cas des espèces fauniques, la **porosité corticale** présente le taux le plus important de divergence entre les deux taxons, suivie par la connectivité, le nombre de canaux, le diamètre maximum des canaux et la longueur des canaux. Les diamètres médian et minimum des canaux, sont au contraire très similaires chez les animaux et par conséquent moins discriminants. En outre, le diamètre des canaux corticaux est non seulement corrélé aux charges mécaniques imposées à l'os, mais également à l'âge chez les sujets âgés (Cooper *et al.*, 2006 ; Thomas *et al.*, 2006 ; Burghardt *et al.*, 2010). Il peut donc être biaisé par ces facteurs. Il en est de même pour la porosité corticale, en partie dépendante du diamètre des canaux. Ces paramètres sont donc plus problématiques et moins intéressants pour la distinction d'espèces.

L'orientation moyenne par rapport aux axes X, Y et Z n'apporte pas non plus d'information utile. Plutôt que de comparer la moyenne des orientations par rapport au repère spatial 3D il serait peut-être plus intéressant d'utiliser des indices d'orientation. Il existe, par exemple, un indice de laminarité (de Margerie, 2002), correspondant au ratio de l'aire des canaux circonférentiels par rapport à l'aire totale des canaux. Cet indice permet de déterminer si les canaux d'une région

donnée sont majoritairement circonférentiels ou longitudinaux. Le problème de cette approche est qu'elle est développée en histologie et ne permet pas de rendre compte de la complexité 3D du réseau canalaire. Cette méthode présuppose notamment que les canaux longitudinaux présentent un diamètre circulaire en coupe, or en fonction du plan de coupe, ce n'est pas systématiquement le cas (Hennig *et al.*, 2015 ; Pratt et Cooper, 2017). De plus, l'aire des canaux longitudinaux mesurée à partir de coupes 2D ne correspond qu'à une petite section du canal tandis que sur la même coupe, l'aire des canaux circonférentiels, apparaissant en section transverse, est plus importante (Pratt *et al.*, 2018). Le ratio mesuré est donc biaisé. Notre approche par cartes de répartition est plus instructive, bien qu'elle semble liée au type d'os, et paraît plus fiable de ce point de vue. L'avantage de notre approche est de prendre en compte l'ensemble des orientations individuelles de chaque canal replacé dans le volume 3D de la VOI, plutôt que de les comparer à un seul axe. De plus, notre représentation des orientations permet un meilleur rendu de la complexité du réseau canalaire cortical en 3D. Cependant, la visualisation par projection sur des cartes d'orientation revient à une analyse qualitative de ces données métriques. Afin d'améliorer et de développer l'étude de l'orientation des canaux, il serait intéressant d'inclure dans nos analyses la méthode proposée par Pratt et Cooper (2017) et Pratt *et al.* (2018). Ces auteurs mettent en place des calculs d'angle en 3D, proche de notre méthode en calculant l'angle par rapport à l'axe longitudinal de l'os. Les angles obtenus permettent de classer les canaux dans des catégories d'orientation (longitudinaux, obliques, radiaux...). Cela pourrait notamment nous permettre d'améliorer l'analyse statistique des angles des canaux. Par ailleurs, la mise en évidence claire des orientations préférentielles que nous obtenons peut également permettre d'interpréter les potentielles directions des charges fonctionnelles agissant sur l'os (Britz *et al.*, 2012a et b ; Pratt *et al.*, 2018). Cela peut s'avérer intéressant pour l'évaluation de la variabilité osseuse. Dans le cadre de la problématique actuelle d'identification d'espèces, cependant, la corrélation entre les forces mécaniques et l'orientation des canaux reste problématique. Ce phénomène est visible dans notre analyse, chez *Sus scrofa* pour qui les cartes d'orientation indiquent une plus grande variabilité d'orientation sans apporter d'élément distinctif entre les espèces animales.

Tableau 16 : Tableau récapitulatif classant les paramètres en fonction de leur pouvoir discriminant pour l'identification d'espèce. Le classement est effectué en fonction des résultats du test de Wilcoxon par variable (Tableau 13), du poids de décision obtenue pour la forêt aléatoire et prend en compte les potentiels biais liés aux variables.  
 (+++ = très discriminant, + = discriminant, +/- = peu discriminant ou pouvant être biaisé, - = non discriminant)

<b>Paramètres</b>	<b><i>H. sapiens - S. scrofa</i></b>	<b><i>H. sapiens - B. taurus</i></b>	<b><i>S. scrofa - B. taurus</i></b>
<b><i>Ca.Le</i></b>	++	++	++
<b><i>Ca.ConnD</i></b>	++	++	++
<b><i>Ca.N</i></b>	+	+	+
<b><i>Ca.D.min</i></b>	+/-	+/-	-
<b><i>Ca.D.max</i></b>	+/-	+/-	+/-
<b><i>Ca.D.med</i></b>	+/-	+/-	-
<b><i>CaV/TV</i></b>	+/-	+/-	+
<b><i>Ca.orX</i></b>	-	-	-
<b><i>Ca.orY</i></b>	-	-	-
<b><i>Ca.orZ</i></b>	-	-	-

## **CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES**

---

# 1. CONCLUSIONS

---

## 1.1. MICROSTRUCTURE CORTICALE ET IDENTIFICATION D'ESPÈCE

Notre approche de l'évaluation de la microstructure osseuse corticale présente des résultats prometteurs en termes de méthodologie et d'identification d'espèce à partir de fragments osseux. Nous avons pu mettre en évidence plusieurs points :

1) **Nous confirmons que l'approche qualitative n'est pas suffisante pour l'identification de restes osseux fragmentés.** De plus, selon la complexité des critères sélectionnés, elle nécessite une importante connaissance de la structure de l'os cortical et une expertise de l'observateur pouvant s'avérer subjective et difficile à appliquer (Brits *et al.*, 2014). En se concentrant sur l'agencement des canaux vasculaires, nous avons voulu utiliser une version plus simplifiée de ce réseau, également adaptée au mode d'acquisition de nos images ne permettant pas de distinguer les lamelles osseuses. Cependant ces descriptions n'apportent pas assez d'éléments de distinctions, en particulier entre les espèces animales. Par ailleurs, certains des caractères auparavant considérés comme spécifiques à l'animal, comme les bandes d'ostéons, ont récemment été rapportés chez l'homme et perdent donc leur aspect distinctif (Andrownoski *et al.*, 2017 ; Cummaudo *et al.*, 2018).

L'approche quantitative apparaît plus intéressante. Notre analyse démontre **l'apport de l'analyse métrique du réseau canalaire cortical** pour la distinction entre espèces, permettant d'identifier correctement 100 % des échantillons humains ainsi que 79,5 % et 86,2 % des échantillons animaux. Ces premiers résultats sont prometteurs et ouvrent de nouvelles perspectives dans l'identification taxonomique, en particulier pour la distinction entre espèces animales. En outre, les p-valeurs obtenues dans notre analyse montrent que les variations observées entre espèces sont bien plus prononcées que les fluctuations mises en évidence au sein d'une même espèce.

2) **Nous avons également pu mettre en évidence les critères d'identifications les plus discriminants : la longueur moyenne des canaux (Ca.Le) et la densité de connexion (Ca.Connd).**

Ces variables permettent la séparation des spécimens humains et animaux dans l'analyse par forêt aléatoire et Ca.Le apporte également un bon élément de distinction entre espèces animales (Résultats : Figure 51). Ces résultats confirment, par ailleurs, l'importance de l'analyse en 3D du réseau canalaire cortical. Celui-ci est très dense et complexe, comme le montrent nos reconstructions 3D, et l'observation de coupes n'est donc pas suffisante pour apprécier cette complexité. Les paramètres distinctifs, la connectivité et la longueur des canaux, sont également particulièrement liés à l'organisation 3D du réseau et ne peuvent être mesurés de façon fiable en 2D uniquement (Hennig *et al.*, 2015 ; Pratt *et al.*, 2018).

3) Outre l'apport de la 3D, **la méthode d'analyse proposée dans cette recherche présente plusieurs avantages :**

- Elle ne nécessite pas d'expertise du tissu osseux de la part de l'utilisateur (Hillier et Bell, 2007 ; Nganvongpanit *et al.*, 2015) car elle se base sur une technique de mesure informatique permettant une analyse rapide d'un large échantillon ainsi que la reproductibilité des mesures. La technique de squelettisation a prouvé son utilité et son efficacité dans divers disciplines reposant sur l'analyse d'images : sciences des matériaux, imagerie médicale, anthropologie, archéologie, biométrie (analyse d'empreintes) (Hildebrand et Rüegsegger, 1997 ; Stauber et Müller, 2006 ; Peyrin *et al.*, 2007 ; Zhao et Tang, 2007 ; Douss, 2015 ; Gargiulo *et al.*, 2015 ; Saha et al., 2016 ; Baykara *et al.*, 2016 ). Plusieurs algorithmes existent et celui utilisé pour cette thèse ainsi que la procédure de traitement des « squelettes » ont été choisis et mis en œuvre par un spécialiste de cette technique selon ce qui apparaissait le plus approprié et fiable pour le réseau canalaire cortical et incluant des étapes de vérification (Plougonven et Bernard, 2011). Nous avons également réalisé un test des mesures sur un modèle, ou « fantôme », de réseau dont les paramètres métriques nous étaient connus afin d'attester du bon fonctionnement des mesures automatiques.

- Son approche non-invasive, permis par l'utilisation de l'imagerie par rayon X, est un atout majeur dans divers domaines reposant sur l'analyse de restes rares ou fragiles tels que les sciences archéologique, anthropologique, historique ou forensique.
- Elle nécessite très peu de matière osseuse et peut donc être utilisée sur des fragments de très petite dimension.
- Le réseau canalaire cortical possède une bonne capacité de conservation dans le temps, même sur os brûlés. Il présente donc un avantage par rapport aux méthodes biomoléculaires nécessitant la préservation de protéines, moins stables.

4) **Nos résultats ouvrent des perspectives dans divers disciplines et champs d'application.**

L'identification de restes et leur attribution à leur espèce d'origine de façon précise est fondamentale pour l'interprétation des ensembles et gisements archéologiques. Elle contribue, d'une part, à l'identification directe de restes squelettiques ou de mobiliers réalisés à partir d'éléments osseux découverts sur un site archéologique et, d'autre part, à la compréhension de l'environnement géographique du site, les modes de vie et les pratiques de subsistance et de domestication des populations humaines du passé. Par ailleurs, les anthropologues médicaux-légaux sont souvent chargés de confirmer la nature humaine d'ossements retrouvés en contexte forensique en particulier lorsque ces pièces à conviction sont dégradées et/ou fragmentées. Dans ces circonstances, il est impératif de pouvoir apporter une réponse certaine à cette question.

## **1.2. COMPLEXITÉ DU TISSU OSSEUX CORTICAL**

Notre travail s'inscrit parmi les recherches portant sur l'analyse de l'os cortical en 2D et 3D. Comme nos prédécesseurs, nous avons été confrontés à la complexité de l'organisation osseuse corticale. Le développement et la croissance de l'os cortical sont des processus complexes. De plus, ce tissu n'est pas stable dans le temps : il évolue et s'adapte tout au long de la vie de l'individu grâce au mécanisme de remodelage. Nous avons vu la multiplicité des facteurs influençant l'organisation de la microstructure corticale (âge, sexe, conditions et modes de vie, contraintes mécaniques), rendant difficile la compréhension et l'interprétation des modifications ou variations observées selon un seul de ces facteurs. Nos analyses ont mis en évidence des

variations d'organisation significatives entre les différents groupes testés : inter-espèce, inter-osseuse et intra-osseuse. Nous avons discuté certaines propositions d'interprétation de ces variations, basées principalement sur l'aspect biomécanique, qui nous apparaissaient pertinentes pour les ossements étudiés, notamment en rapport à la locomotion. Il ne s'agit cependant que d'hypothèses. Ces inférences biomécaniques contribuent, en effet, à expliquer les différences observées entre les différentes régions osseuses, toutefois, ces mécanismes ne suffisent pas à eux seuls à comprendre l'ensemble des processus de variation en jeu. De plus amples recherches sont nécessaires afin de mieux comprendre les variations du réseau canalaire cortical.

### **1.3. LIMITATIONS MÉTHODOLOGIQUES**

La méthode mise en place dans ce travail peut être améliorée sur plusieurs points.

Tout d'abord, les VOI analysés dans notre étude ne représentent pas la totalité de l'épaisseur de la corticale. Cela est dû au mode d'acquisition des images, effectué à haute résolution dans le but de visualiser au mieux l'ensemble du réseau canalaire mais induisant une réduction du champ de vue des scans et un poids important des images. Afin d'éviter des temps de traitement trop longs, nous avons dû réduire la taille des volumes reconstruits et analysés. Cependant, des variations entre les différentes zones de l'épaisseur corticale existent (Burghardt *et al.*, 2010 ; Bala *et al.*, 2016 ; Buenzli, 2013) et il serait intéressant de tester l'influence de ces variations sur notre méthode d'identification, notamment pour la réévaluation du critère d'homogénéité.

En parallèle, la mesure de l'orientation des canaux est également à améliorer. Notre approche par moyenne ne rend pas compte des variations entre individus et régions osseuses. Or nous avons vu, grâce aux cartes de répartitions obtenues, que des différences d'orientation des canaux sont bien présentes et peuvent apporter des informations sur l'espèce ou la région osseuse observée. Une nouvelle méthode de mesure quantitative des orientations est donc nécessaire afin d'inclure cette information dans le test d'identification. Cette nouvelle approche devrait permettre de quantifier cette variabilité à partir d'un grand nombre de canaux en évitant l'effet de lissage auquel nous avons été confrontés. Dans cette perspective, l'utilisation d'indice

d'orientation (Pratt et Cooper, 2017 ; Pratt *et al.*, 2018), comme discuté dans le chapitre précédent, paraît intéressante.

À l'image des mesures d'orientation des canaux, il est important de travailler à l'homogénéisation des variables et techniques de mesure employées. Les dernières années ont vu se développer les techniques d'imagerie et se multiplier des analyses métriques de la microstructure osseuse corticale. Cela induit également l'utilisation de différentes méthodes de mesure et parfois plusieurs définitions de paramètres pourtant similaires (Cooper *et al.*, 2003 et Roothaer *et al.*, 2018). Une uniformisation des paramètres est nécessaire afin de permettre les comparaisons entre différents échantillons et la complémentarité de l'ensemble des études réalisées sur le sujet. Dans notre cas, ce problème s'applique particulièrement pour les mesures du nombre des canaux qui ne sont pas comparables avec les valeurs obtenues par d'autres auteurs (Cooper *et al.*, 2007 ; Perili *et al.*, 2015).

## 2. PERSPECTIVES

---

### 2.1. PERSPECTIVES D'IDENTIFICATION D'ESPÈCES

#### 2.1.1. Échantillon

Notre travail est une étude préliminaire portant sur l'identification de trois espèces uniquement. Bien que nos résultats soient prometteurs, il est important de les valider afin de confirmer l'apport de cette nouvelle méthode d'identification d'espèce à plus grande échelle. L'objectif est de pouvoir renforcer notre méthode d'identification de sujets matures et de constituer une base de données comparatives.

L'un des points majeurs à améliorer et développer concerne l'échantillon d'étude ; plusieurs éléments sont à prendre en compte :

##### 2.1.1.1. Documentation

Les variations rencontrées au sein d'une même espèce mettent en lumière l'importance d'un corpus documenté permettant une meilleure appréciation de l'influence possible des particularités biologiques et socio-économiques ayant régi la vie des individus étudiés. Dans le but de valider nos résultats, il serait donc important de tester des populations humaines et animales pour lesquelles un maximum de données concernant l'âge, le sexe, les conditions de vie et d'activité des individus sont connues. Il faudrait pour cela avoir accès à des collections humaines documentées. De plus, dans le cas des spécimens animaux, nous avons collecté nos spécimens auprès de bouchers. Ce mode de collecte permet d'acquérir des ossements rapidement et sans contrainte particulière mais n'offre pas d'informations concernant les animaux. Une collaboration directe avec des éleveurs serait sans doute une solution à ce problème et permettrait de retracer le parcours de vie des animaux étudiés. En outre, une sélection d'individus appartenant à un élevage non-intensif et pratiquant un abatage plus tardif des bêtes est préférable afin d'éviter le second biais lié aux animaux de boucherie : l'abatage des animaux avant leur maturation squelettique.

#### 2.1.1.2. Espèces

L'objectif de la méthodologie mise en place dans cette étude est de pouvoir identifier des restes osseux provenant de sites archéologiques et forensiques pour un grand nombre d'espèces. Les restes de certaines espèces animales peuvent être particulièrement trompeurs. Les ossements des extrémités des pattes d'ours (phalanges, métatarses, métacarpes) sont, par exemple, aisément confondus avec des ossements de mains et pieds humains (Stewart, 1959 ; Hoffman, 1984 ; Sims, 2007 ; Mulhern, 2016 ; Figure 57). D'autres espèces, comme les carnivores, plus proches de l'organisation osseuse humaine ainsi que des Artiodactyles et Périssodactyles, aux modes de vie ou de croissance semblables au bœuf et au porc, telle que le mouton, la chèvre ou encore le cheval et les Cervidés, seraient intéressantes à analyser. Certaines études comparent la microstructure corticale du cheval et du bœuf, deux espèces herbivores de stature similaire mais aux modes de locomotion distincts, et observent des différences d'organisation microstructurale entre ces deux espèces (Cuijpers, 2006 ; Cuijpers et Lauwerier, 2008 ; Zedda *et al.*, 2008).

Enfin, nous aimerions tester l'applicabilité de notre méthode à la comparaison entre l'homme et les primates non-humains. La microstructure de l'os cortical des grands singes, notamment, apparaît très proche de celle de l'homme et, selon les études précédentes, possède des caractéristiques comparables (Jowsey, 1966 ; Dittman, 2003 ; Havill, 2004 ; Mulhern et Ubelaker, 2011). Cependant, des différences fondamentales de modes de locomotion existent entre hommes et singes (Ruff, 2002), entraînant des variations de la structure interne de l'os. Ces variations sont notamment documentées pour l'os trabéculaire (Farjardo *et al.*, 2007 ; Shaw et Ryan, 2011 ; Ryan et Shaw, 2012 ; Keenan *et al.*, 2017 ; Sukhdeo *et al.*, 2018 ; Georgiou *et al.*, 2018 et 2019) et existent au niveau cortical (Schaffer et Burr, 1984 ; Nganvongpanit *et al.*, 2015).



Figure 57 : Radiographies de main humaine (a) et de patte avant d'ours (b) (d'après Mulhern, 2016).

### 2.1.1.3. Ossements et régions osseuses

Nous n'avons analysé dans ce travail que deux os longs différents et uniquement des VOI situés sur la face antérieure des ossements. Or, il est reconnu que la microstructure de l'os cortical n'est pas uniforme sur l'ensemble du squelette. Une étude récente de Cummaudo *et al.* (2018) cherche, par exemple, à évaluer la variabilité de la microstructure corticale entre les ossements d'un même individu. Ils comparent pour cela la structure de 49 coupes histologiques issues d'os longs, plats, irréguliers et courts et mettent en évidence des variations d'organisation au sein du squelette humain, en particulier concernant l'agencement des ostéons dans le tissu cortical. Les os plats présentent majoritairement des ostéons dispersés et irréguliers, les os irréguliers s'organisent en zones de tissu lamellaire associées à quelques ostéons secondaires et canaux longitudinaux tandis que les os longs alternent entre os haversien dense et ostéons irréguliers dispersés dans la matrice osseuse.

De même, nous avons comparé des ossements de différents membres, antérieur et postérieur, chez *Bos taurus* et *Sus scrofa*. Des variations de structure entre les ossements d'un même membre sont également documentées chez l'animal. Skedros *et al.* (2003) étudient le membre antérieur de cerfs et notent une augmentation générale d'OPD (*osteon population density*) de la partie proximale de la jambe vers la partie distale, pouvant révéler un gradient de stress mécaniques pendant la marche. De même, Zedda *et al.* (2018) observent des différences d'organisation du tissu osseux cortical entre le fémur et le tibia de sangliers. Ils notent une absence d'os plexiforme et une large proportion de tissu haversien secondaire au niveau du tibia reflétant, selon ces auteurs, l'action de contraintes plus importantes sur cet os. Ces résultats ne semblent pas se retrouver chez *Homo sapiens*. Drapeau et Streeter (2006) ne retrouvent pas de variations de la densité d'ostéons entre le fémur et le tibia. Sans doute en partie, car le mode de locomotion de l'homme et des animaux coureurs n'entraîne pas les mêmes contraintes. Cummaudo *et al.* 2018 n'observent pas non plus de différences entre le fémur et le tibia mais remarquent des ostéons moins nombreux et plus larges sur la fibula, pouvant traduire une plus grande résistance et élasticité de cet os. Ces auteurs mettent également en évidence un taux de variabilité différent selon le type d'os : les os plats et irréguliers possèdent une grande homogénéité d'organisation corticale au contraire des os longs dont la densité et l'organisation des ostéons varient au sein d'un même ossement.

L'ensemble de ces éléments démontre l'importance de tester l'application de notre méthode sur différents types d'ossements et régions osseuses afin de confirmer son intérêt à plus grande échelle. Cattaneo *et al.* (2009) ont notamment montré les limites des équations de régression développées sur des os longs pour l'identification d'os plats humains. L'approche par forêt aléatoire est différente car elle interroge les variables à chaque identification afin d'attribuer le fragment testé au groupe le plus proche. Cependant, un référentiel de comparaison comprenant plusieurs types d'ossements ainsi que des fragments de diverses régions osseuses est nécessaire pour appréhender la variabilité de chaque espèce.

### 2.1.2. Individus immatures

Une constante en anthropologie est la complexité de travailler sur des restes immatures, dont la structure osseuse n'a pas encore atteint l'organisation des individus matures et est en permanente évolution pendant la croissance. Cette problématique s'illustre par la difficulté d'évaluer l'âge au décès de sujets immatures à partir de l'analyse de la microstructure de l'os cortical (Gocha *et al.*, 2018). Cela vaut également pour l'identification d'espèce car le schéma de croissance et de développement est parfois similaire entre humains et animaux, se traduisant par des structures plus proches chez les individus immatures (Zoetis *et al.*, 2003). Dans son étude de 2009, Cattaneo effectue un test de distinction entre espèces sur des individus humains de différentes classes d'âge. Elle obtient un pourcentage d'erreur très important pour les jeunes enfants et les nouveau-nés. Cela démontre la difficulté d'appliquer des méthodes, par ailleurs efficaces sur des restes adultes, à des ossements immatures. Cuijpers (2009) identifie, néanmoins, des différences entre des os immatures humains et animaux pour les individus âgés de plus de 1 an. Elle observe la présence d'os lamellaire chez les individus humains et fibro-lamellaire chez les sujets non-humains ainsi qu'une organisation osseuse remaniée, d'aspect réticulaire, spécifique aux animaux. Toutefois, Caccia *et al.* (2015) mettent en garde contre ces critères d'identification, notamment la présence d'os réticulaire associée aux animaux. En effet, ces auteurs retrouvent également ce type de tissu osseux chez des enfants et l'interprète plutôt comme le signe de phases de croissance rapide.

Une identification d'espèce peut, cependant, s'avérer possible dans certains cas plus ciblés. Par exemple, le cas des très jeunes enfants (périnataux et nouveau-nés) dont les ossements peuvent être confondus avec des ossements de lagomorphes (Ferllini, 2007 ; Dupras *et al.*, 2016). Nous avons effectué un test en rapport à cette problématique, en appliquant la même méthode d'identification que celle présentée dans ce travail sur des VOI situés en partie antérieure de la mi-diaphyse du fémur de nouveau-nés et de lagomorphes. Nous observons des corticales très différentes dans les deux cas (Figure 58). L'échantillon humain présente une organisation uniforme, typique d'un os très jeune en croissance, comprenant des canaux longitudinaux pas, ou très peu, connectés et assez larges tandis que le lapin possède trois types d'os différents répartis du périoste à l'endoste : des canaux longitudinaux non connectés, de l'os irrégulier et de

l'os radial non-connecté. Malgré la présence de zones non-connectées, l'os de lagomorphe possède un nombre de connexions trois fois plus important que le fémur immature humain et, au contraire, une porosité corticale moins élevée, en lien avec des canaux aux diamètres plus fins. Il est donc possible de distinguer, dans un contexte particulier, des ossements en apparence similaires à l'œil nu grâce au réseau canalaire cortical.

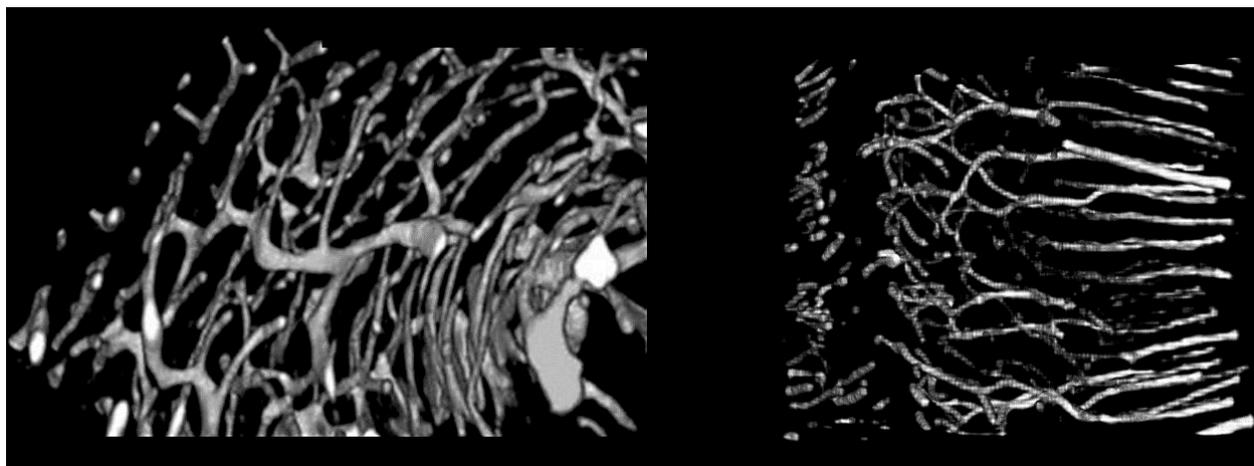


Figure 58 : Reconstructions du réseau canalaire cortical d'un nourrisson (gauche) et d'un lapin (droite), images préliminaires.

### 2.1.3. Restes fossiles et dégradés

Une autre voie de développement de notre méthode concerne les restes fossiles. L'analyse des variations de la microstructure osseuse des espèces modernes est analysée en comparaison ou pour l'interprétation des différences de structure chez les espèces éteintes (Begun, 1994 ; Chinsamy et Hurum, 2006 ; Pina *et al.*, 2012 ; Faccia *et al.*, 2014 ; Cubo *et al.*, 2016). Ces variations de microstructures sont alors mises en lien avec les différents environnements et modes de vie des spécimens. Dans cette optique, il serait alors intéressant de tester ces variations entre espèces éteintes et actuelles, en particulier l'homme moderne et les espèces humaines fossiles, afin de vérifier si des différences entre ces groupes permettraient de les distinguer. De telles distinctions pourraient permettre d'émettre des hypothèses sur l'origine de fragments osseux fossiles. De même, si la microstructure corticale possède un bon taux de conservation, elle est tout de même affectée par l'environnement et les conditions d'enfouissement des ossements, il

serait donc important d'effectuer une évaluation des effets de la fossilisation sur l'observation et la quantification de réseau canalaire cortical.

## 2.2. PERSPECTIVES MÉTHODOLOGIQUES

Une des limitations de notre méthode concerne le manque d'accès à l'ensemble des paramètres de l'os cortical. La dynamique du tissu osseux cortical et ses mécanismes de formation, remaniement et adaptation sont complexes. Une approche multifactorielle associant plusieurs paramètres corticaux paraît intéressante afin d'évaluer l'organisation osseuse considérée dans sa globalité (Ostertag *et al.*, 2016 ; Miskiewicz ; 2015 ; Andronowski *et al.*, 2017 ; Nunez et al, 2017 ; Shah *et al.*, 2018).

Le synchrotron permet l'utilisation de la technique du contraste de phase (Peter et Peyrin, 2011) et l'observation de la délimitation des ostéons secondaires témoins des événements de remodelage osseux (Maggiano *et al.*, 2016). Nous avons pu observer ces délimitations sur certains de nos échantillons animaux et humains, mais trop peu nombreux pour pouvoir en tirer parti dans cette étude. Sur l'ensemble de l'échantillon humain, pour lequel le type d'os majoritaire correspond à de l'os haversien secondaire, seules quelques lignes cémentaires étaient visibles. L'absence de ces délimitations n'est donc pas une preuve de l'absence d'ostéons secondaires et de remaniement en elle-même. Plusieurs études ont démontré l'intérêt des ostéons et leurs morphotypes pour la distinction taxonomique (Crescimanno et Stout, 2012 ; Dominguez et Crowder, 2012). L'ajout du contraste de phase et l'observation des ostéons pourraient alors apporter de nouveaux éléments distinctifs et une meilleure identification. Les ostéocytes constituent également un paramètre prometteur. Une étude récemment menée par Cummaudo *et al.* (2019) montre le potentiel de ces éléments, en particulier la forme des ostéocytes, comme critère discriminant entre des ossements humains et de porc. De même, les données sur la minéralisation et l'élasticité de l'os (Espinoza *et al.*, 2009, Cai *et al.*, 2019a) peuvent apporter des informations permettant de mieux comprendre l'influence des facteurs mécaniques et aider à identifier d'éventuelles pathologies ou atteintes taphonomiques susceptibles de perturber l'identification des ossements.

## 2.3. AUTRES PERSPECTIVES

L'accès à l'observation et la quantification de la microstructure interne de l'os cortical ouvrent des perspectives dans de nombreux domaines.

Nous avons vu que le mode de vie influence la microstructure osseuse, celle-ci peut donc apporter des informations sur les conditions de vie, de nutrition et d'activité des populations passées. La microstructure corticale a, par exemple, été mise en relation avec le groupe socio-économique des individus (Miszkiwicz, 2016 ; Misckiewicz et Mahoney, 2016 ; Walker *et al.*, 2019). Les premiers résultats obtenus tendent à montrer que les paramètres métriques des ostéons et canaux de Havers varient significativement selon le statut des individus, sans doute lié à des contraintes et conditions de nutrition différentes. De même, les contraintes mécaniques et l'activité physique influencent l'organisation corticale, notamment en lien avec l'action des muscles. Certains auteurs se sont intéressés aux effets de l'activité sur les zones d'insertion musculaire (enthèses) et observent des variations dans l'organisation des canaux corticaux entre une enthèse en apparence non remaniée et une enthèse présentant des modifications visibles (Berthon *et al.*, 2015a et b). Le lien entre les enthésopathies et la microstructure osseuse reste, cependant, à confirmer et ne semble pas systématique (Djukic *et al.*, 2015 ; Rabey *et al.*, 2015). Malgré tout, la microstructure osseuse corticale semble pouvoir apporter des indications sur certains aspects de la vie des populations du passé.

Ces apports concernent les groupes humains mais aussi animaux. Les espèces ou sous-espèces animales sauvages et domestiques sont souvent considérées comme très proches du point de vue morphologique et génétique. Toutefois, elles ne possèdent pas les mêmes comportements et conditions de vie. Entre les spécimens domestiques, nourris en grande quantité, vivant en captivité et ne pratiquant que très peu, voire aucune activité physique et des animaux sauvages beaucoup plus mobiles et dynamiques, il serait logique de retrouver des variations d'organisation osseuse, pouvant mener à une distinction entre les deux populations. L'exemple du sanglier et du porc étudiés par Zedda *et al.*, (2019) illustre parfaitement cette problématique. Ces auteurs mettent, en effet, en évidence des différences d'organisation microstructurale entre ces deux groupes. Ces résultats mettent en lumière l'intérêt potentiel de l'étude de la microstructure

corticale pour la distinction entre animaux sauvages et domestiques et leurs implications culturelles, anthropologiques et zoologiques. Cette distinction permettrait d'apporter de nouveaux éléments au débat sur la domestication de certaines espèces et de fournir des informations sur la transition entre les pratiques des chasseurs-cueilleurs et l'arrivée de l'élevage ainsi que sur la balance entre élevage et chasse (Vigne *et al.*, 2009 ; Albarella et Trentacoste, 2011 ; Atici *et al.*, 2017).

Par ailleurs, les relations entre l'homme et la faune ne se limitent pas à des besoins de subsistance. Depuis longtemps, l'homme utilise également l'os animal comme matériel de fabrication de nombreux objets (perles, épingles à cheveux, dés à jouer et pointes de flèches ; Chazottes, 2012 ; Bradfield *et al.*, 2019) et continue encore cette pratique de nos jours (d'Errico *et al.*, 2012 ; Bradfield, 2015). Ces artefacts témoignent des cultures des populations du passé. De même, les déchets issus de l'utilisation de l'os et leur gestion offrent un aperçu des pratiques artisanales de ces populations (Goret et Rodet-Belarbi, 2018). En raison du traitement de ces vestiges osseux, entraînant la perte complète des marqueurs spécifiques, il est presque impossible d'identifier leur espèce d'origine (Figure 59). Notre méthode peut alors apporter de nouveaux éléments d'identification et aider à la compréhension de ces pièces ainsi que des sites auxquels elles appartiennent.

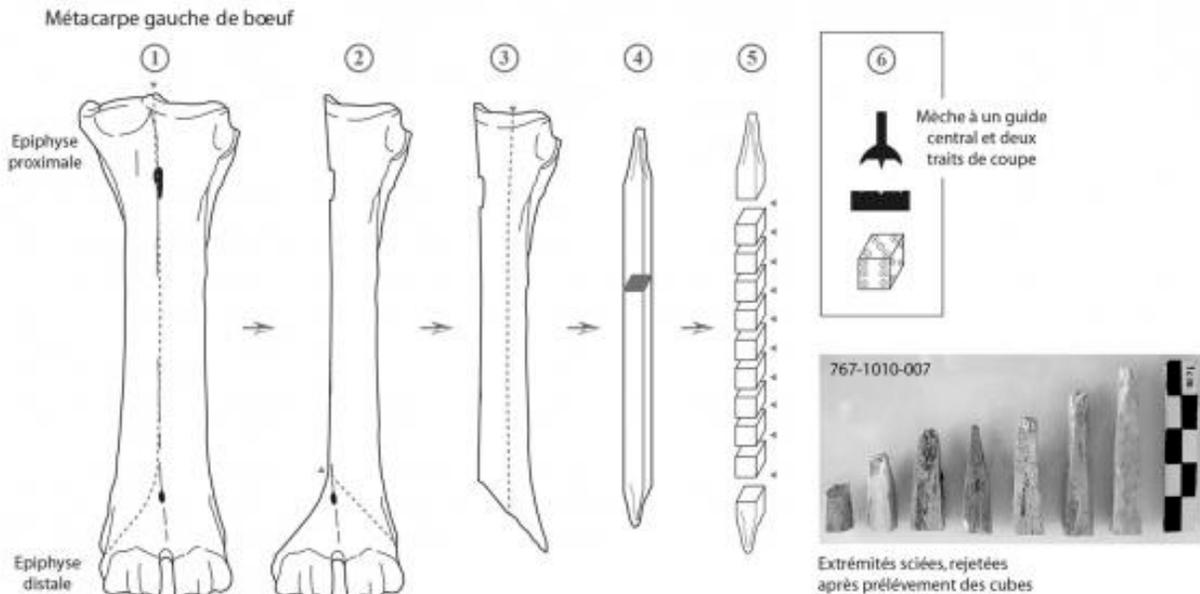


Figure 59 : Fabrication de dés à jouer à partir des métapodes de boeuf (Goret et Robet-Belarbi, 2018, © dessin J.-F. Goret).

Les développements en imagerie 3D touchent également les recherches en paléopathologie et l'identification de phénomènes pathologiques sur des restes anciens à échelle macroscopique (Paja *et al.*, 2012 ; Coqueugniot *et al.*, 2014 ; Coqueugniot *et al.*, 2015, Micciché *et al.*, 2018 ; Villa *et al.*, 2019) et microscopique (Baker *et al.*, 2015 ; Colombo *et al.*, 2018). Concernant plus particulièrement l'os cortical, le travail de recherche mené par Ruchonnet (2019) met en avant une corrélation entre certaines pathologies et les paramètres des ostéons et canaux de Havers. L'observation et la quantification du réseau canalaire cortical présente également un intérêt pour la distinction entre des réactions périostées pathologiques et physiologiques (Rittemard *et al.*, 2019) ainsi que l'analyse de certaines pathologies osseuses sur des restes anciens, comme la maladie de Paget (Zimmermann *et al.*, 2015 ; Haridi *et al.*, 2019, Kerstke et Judd, 2019 ; Nebot *et al.*, 2019). Kerstke et Judd (2019) identifient cette pathologie sur un fragment de crâne issu de la crypte d'un monastère byzantin et présentant un schéma de remodelage osseux anormal. Ce phénomène est visible grâce à la formation atypique d'ostéons et un nombre trop important de canaux vasculaires. Dans cette perspective, l'approche 3D de la microstructure corticale permet une meilleure appréciation des modifications liées à certains processus pathologiques et peut aider à leur identification.

En conclusion, cette étude préliminaire nous permet de confirmer le grand potentiel de l'analyse microtomographique avec reconstruction tridimensionnelle de l'os humain et animal, actuel et ancien, pour répondre aux problématiques de recherches bioarchéologiques et bioanthropologiques.

## **BIBLIOGRAPHIE**

---

1. ADAMS B.J. et CRABTREE P.J. **2008** - Comparative Skeletal Anatomy, Humana Press. 348 p.
2. ALBARELLA U. et TRENTACOSTE A. **2011** - EthnoZooArchaeology. The present and past of human–animal relationships, Obow Books. 352 p.
3. ALBU I., GEORGIA R. et GEOROCEANU M. **1990** - The canal system in the diaphysial compacta of the femur in some mammals. *Anatomischer Anzeiger* 170(3-4):181-187.
4. ALESSIO R., NOGUEIRA L.P., SALATA C., MANTUANO A., ALMEIDA A.P., BRAZ D., DE ALMEIDA C.E., TROMBA G. et BARROSO R.C. **2015** - Analysis of cortical bone porosity using synchrotron radiation microtomography to evaluate the effects of chemotherapy. *Radiation Physics and Chemistry*.
5. ALLEN M.R. et BURR D.B. **2014** - Bone Modeling and Remodeling. In: BURR D.B. et ALLEN M.R. *Basic and Applied Bone Biology*. San Diego: Academic Press. p 75-90.
6. AMPRINO R. **1947** - La structure du tissu osseux envisagée comme expression de différences dans la vitesse de l'accroissement. *Archives de biologie* 58(4):317-330.
7. AMPRINO R. et GODINA G. **1947** - La struttura delle ossa nei vertebrati: ricerche comparative negli anfibi e negli amnioti. *Comment Pontif Acad Sci* 11:329-464.
8. ANDRONOWSKI J.M., PRATT I.V. et COOPER D.M.L. **2017** - Occurrence of osteon banding in adult human cortical bone. *American journal of physical anthropology* 164(3):635-642.
9. ARISMENDI J.L., BAKER L.E. et MATTESON K.J. **2004** - Effects of processing techniques on the forensic DNA analysis of human skeletal remains. *Journal of forensic sciences* 49(5):930-934.
10. ATICI L., PILAAR BIRCH S.E. et ERDOGU B. **2017** - Spread of domestic animals across Neolithic western Anatolia: New zooarchaeological evidence from Ugurlu Hoyuk, the island of Gokceada, Turkey. *PLoS one* 12(10):e0186519.
11. AUERBACH B.M. et RUFF C.B. **2006** - Limb bone bilateral asymmetry: variability and commonality among modern humans. *Journal of Human Evolution* 50(2):203-218.
12. BAKER O., LEE O.Y.C., WU H.H.T., BESRA G.S., MINNIKIN D.E., LLEWELLYN G., WILLIAMS C.M., MAIXNER F., O'SULLIVAN N., ZINK A. *et al.* **2015** - Human tuberculosis predates domestication in ancient Syria. *Tuberculosis* 95:S4-S12.
13. BALA Y., LEFÈVRE E., ROUX J.-P., BARON C., LASAYGUES P., PITHIOUX M., KAFTANDJIAN V. et FOLLET H. **2016** - Pore network microarchitecture influences human cortical bone elasticity during growth and aging. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 63:164-173.
14. BALSAN L. **1951** - L'*oppidum* de La Granède (commune de Millau). *Procès Verbaux des Séances de la Société des Lettres, Sciences et Arts de l'Aveyron* 36:172-174.
15. BALSAN L. **1958** - L'*oppidum* de la Granède. *Revue d'Etudes Millavoises* 2:1-2.
16. BALSAN L. **1965** - Recherches archéologiques autour de *Condatomago*. *Procès Verbaux des Séances de la Société des Lettres, Sciences et Arts de l'Aveyron* 39:222-235.
17. BALTHAZARD L. et LABRUN R. **1911** - Les canaux de Havers de l'os humain aux différents ages. *Annales d'Hygiène Publique et de Médecine Légale*. p 144-152.
18. BARONE R. **1986** - Anatomie compare des mammifères domestiques Tome 1: Ostéologie. 3<sup>ème</sup> éd. 761 p.
19. BASILLAIS A., BENSAMOUN S., CHAPPARD C., BRUNET-IMBAULT B., LEMINEUR G., ILHARREBORDE B., HO BA THO M.-C. et BENHAMOU C.-L. **2007** - Three-dimensional characterization of cortical bone microstructure by microcomputed tomography: validation

- with ultrasonic and microscopic measurements. *Journal of Orthopaedic Science* 12(2):141-148.
20. BATAILLE M., CRAINIC K., LETERREUX M., DURIGON M. et DE MAZANCOURT P. **1999** - Multiplex amplification of mitochondrial DNA for human and species identification in forensic evaluation. *Forensic science international* 99(3):165-170.
  21. BAYKARA E., GESIERICH B., ADAM R., TULADHAR A.M., BIESBROEK J.M., KOEK H.L., ROPELE S., JOUVENT E., INITIATIVE A.s.D.N. et CHABRIAT H. **2016** - A novel imaging marker for small vessel disease based on skeletonization of white matter tracts and diffusion histograms. *Annals of neurology* 80(4):581-592.
  22. BEGUN D.R. **1994** - Relations among the great apes and humans: New interpretations based on the fossil great ape *Dryopithecus*. *American journal of physical anthropology* 37(S19):11-63.
  23. BELL J. et GABBARD C. **2000** - Foot Preference Changes Through Adulthood. *Laterality: Asymmetries of Body, Brain and Cognition* 5(1):63-68.
  24. BELL L. et ELKERTON A. **2008** - Unique marine taphonomy in human skeletal material recovered from the medieval warship *Mary Rose*. *International Journal of Osteoarchaeology* 18(5):523-535.
  25. BELL L.S. et JONES S.J. **1991** - Macroscopic and microscopic evaluation of archaeological pathological bone: backscattered electron imaging of putative Pagetic bone. *International Journal of Osteoarchaeology* 1(3-4):179-184.
  26. BELLIDO T., PLOTKIN L.I. et BRUZZANITI A. **2014** - Bone Cells In: BURR D.B. et ALLEN M.R. *Basic and Applied Bone Biology*. San Diego: Academic Press. p 27-45.
  27. BELLIS C., ASHTON K.J., FRENEY L., BLAIR B. et GRIFFITHS L.R. **2003** - A molecular genetic approach for forensic animal species identification. *Forensic Science International* 134(2):99-108.
  28. BERNARDINI F., TUNIZ C. et ZANINI F. **2019** - X-Ray Computed Microtomography for Paleoanthropology, Archaeology, and Cultural Heritage. *Nanotechnologies and Nanomaterials for Diagnostic, Conservation and Restoration of Cultural Heritage*: Elsevier. p 25-45.
  29. BERTHON W., RITTEMARD H., TIHANYI B., PÁLFI G., COQUEUGNIOT H. et DUTOUR O. **2015** - Three-dimensional microarchitecture of enthesal changes: preliminary study of human radial tuberosity. *Acta Biologica Szegediensis* 59(1):79-90.
  30. BERTHON W., TIHANYI B., PÁLFI G., DUTOUR O. et COQUEUGNIOT H. **2016** - Can micro-CT and 3D imaging allow differentiating the main aetiologies of enthesal changes? *The Talking Dead - New results from Central- and Eastern European Osteoarchaeology: Proceedings of the First International Conference of the Török Aurél Anthropological Association from Târgu Mureş*:29-41.
  31. BIGLEY R.F., GRIFFIN L.V., CHRISTENSEN L. et VANDENBOSCH R. **2006** - Osteon interfacial strength and histomorphometry of equine cortical bone. *Journal of Biomechanics* 39(9):1629-1640.
  32. BLAU S. et BRIGGS C.A. **2011** - The role of forensic anthropology in Disaster Victim Identification (DVI). *Forensic Science International* 205(1):29-35.

33. BLOCH I. **2017** - Fuzzy Skeleton and Skeleton by Influence Zones: A Review. *Skeletonization: Theory, Methods and Applications*: Elsevier - Academic Press. p 71-87.
34. BLUM H. **1967** - A transformation for extracting new descriptors of shape. In: WATHEN-DUNN W. *Models for the Perception of Speech and Visual Form*. Cambridge: MIT Press. p 362-380.
35. BOCQUET-APPEL J.-P., DE ALMEIDA TAVARES DE ROCHA M. et DE MORAIS M.X. **1980** - Peut-on estimer l'âge au décès à l'aide du remaniement osseux? *Biométrie Humaine Paris* 15(3-4):51-56.
36. BONEWALD L.F. **2011** - The amazing osteocyte. *Journal of Bone and Mineral Research* 26(2):229-238.
37. BONEWALD L.F. et JOHNSON M.L. **2008** - Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. *Bone* 42(4):606-615.
38. BONUCCI E. **2009** - The osteocyte: the underestimated conductor of the bone orchestra. *Rendiconti Lincei* 20(3):237-254.
39. BOUSSON V., PEYRIN F., BERGOT C., HAUSARD M., SAUTET A. et LAREDO J.D. **2004** - Cortical Bone in the Human Femoral Neck: Three-Dimensional Appearance and Porosity Using Synchrotron Radiation. *Journal of Bone and Mineral Research* 19(5):794-801.
40. BOUXSEIN M.L., BOYD S.K., CHRISTIANSEN B.A., GULDBERG R.E., JEPSEN K.J. et MÜLLER R. **2010** - Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *Journal of Bone and Mineral Research* 25(7):1468-1486.
41. BOYDE A. **2003** - The real response of bone to exercise. *Journal of Anatomy* 203(2):173-189.
42. BRADFIELD J. **2015** - Pointed bone tool technology in southern Africa: Results of use-trace analyses. *Southern African Humanities* 27:1-27.
43. BRADFIELD J., FORSSMAN T., SPINDLER L. et ANTONITES A.R. **2019** - Identifying the animal species used to manufacture bone arrowheads in South Africa. *Archaeological and Anthropological Sciences* 11(6):2419-2434.
44. BRANDT E., WIECHMANN I. et GRUPE G. **2002** - How reliable are immunological tools for the detection of ancient proteins in fossil bones? *International Journal of Osteoarchaeology* 12(5):307-316.
45. BRITS D., STEYN M. et L'ABBÉ E. **2014** - A histomorphological analysis of human and non-human femora. *International Journal of Legal Medicine* 128(2):369-377.
46. BRITZ H.M., CARTER Y., JOKIHAARA J., LEPPÄNEN O.V., JÄRVINEN T.L.N., BELEV G. et COOPER D.M.L. **2012a** - Prolonged unloading in growing rats reduces cortical osteocyte lacunar density and volume in the distal tibia. *Bone* 51(5):913-919.
47. BRITZ H.M., JOKIHAARA J., LEPPANEN O.V., JÄRVINEN T. et COOPER D.M. **2010** - 3D visualization and quantification of rat cortical bone porosity using a desktop micro-CT system: a case study in the tibia. *Journal of microscopy* 240(1):32-37.
48. BRITZ H.M., JOKIHAARA J., LEPPÄNEN O.V., JÄRVINEN T.L. et COOPER D.M. **2012b** - The effects of immobilization on vascular canal orientation in rat cortical bone. *Journal of anatomy* 220(1):67-76.
49. BRITZ H.M., THOMAS C.D.L., CLEMENT J.G. et COOPER D.M. **2009** - The relation of femoral osteon geometry to age, sex, height and weight. *Bone* 45(1):77-83.
50. BRUZEK J. **2002** - A method for visual determination of sex, using the human hip bone. *American journal of physical anthropology* 117(2):157-168.

51. BRYR. **2015** - Contribution à l'étude de la variabilité des propriétés mécaniques de l'os cortical diaphysaire d'un os porteur (fémur) et non-porteur (humérus). Thèse de doctorat: l'Université de Valenciennes et du Hainaut-Cambresis.
52. BUADES A., COLL B. et MOREL J.-M. **2011** - Non-local means denoising. *Image Processing On Line* 1:208-212.
53. BUCKLEY M., COLLINS M., THOMAS-OATES J. et WILSON J.C. **2009** - Species identification by analysis of bone collagen using matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 23(23):3843-3854.
54. BUENZLI P.R., THOMAS C.D.L., CLEMENT J.G. et PIVONKA P. **2013** - Endocortical bone loss in osteoporosis: the role of bone surface availability. *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering* 29(12):1307-1322.
55. BURGER E.H., KLEIN-NULEND J. et SMIT T.H. **2003** - Strain-derived canalicular fluid flow regulates osteoclast activity in a remodelling osteon--a proposal. *J Biomech* 36(10):1453-1459.
56. BURGHARDT A.J., KAZAKIA G.J., RAMACHANDRAN S., LINK T.M. et MAJUMDAR S. **2010a** - Age- and gender-related differences in the geometric properties and biomechanical significance of intracortical porosity in the distal radius and tibia. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 25(5):983-993.
57. BURGHARDT A.J., KAZAKIA G.J., RAMACHANDRAN S., LINK T.M. et MAJUMDAR S. **2010b** - Age- and gender-related differences in the geometric properties and biomechanical significance of intracortical porosity in the distal radius and tibia. *Journal of Bone and Mineral Research* 25(5):983-993.
58. BURR D.B. **2002** - Targeted and nontargeted remodeling. *Bone* 30(1):2-4.
59. BURR D.B. **2010** - Cortical bone: a target for fracture prevention? *The Lancet* 375(9727):1672-1673.
60. BURR D.B. et AKKUS O. **2014** - Bone Morphology and Organization. In: BURR D.B. et ALLEN M.R. *Basic and Applied Bone Biology*. San Diego: Academic Press. p 3-25.
61. BURR D.B., MARTIN R.B., SCHAFFLER M.B. et RADIN E.L. **1985** - Bone remodeling in response to in vivo fatigue microdamage. *Journal of biomechanics* 18(3):189-200.
62. BURR D.B., RUFF C.B. et THOMPSON D.D. **1990** - Patterns of skeletal histologic change through time: comparison of an archaic Native American population with modern populations. *The Anatomical Record* 226(3):307-313.
63. BUTLER J.M. **2012** - Non-human DNA. In: BUTLER J.M. *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. San Diego: Academic Press. p 473-495.
64. CACCIA G., MAGLI F., TAGI V.M., PORTA D.G.A., CUMMAUDO M., MÁRQUEZ-GRANT N. et CATTANEO C. **2016** - Histological determination of the human origin from dry bone: a cautionary note for subadults. *International journal of legal medicine* 130(1):299-307.
65. CAI X., BRENNER R., PERALTA L., OLIVIER C., GOUTTENOIRE P.-J., CHAPPARD C., PEYRIN F., CASSEREAU D., LAUGIER P. et GRIMAL Q. **2019a** - Homogenization of cortical bone reveals that the organization and shape of pores marginally affect elasticity. *Journal of The Royal Society Interface* 16(151):20180911.
66. CAI X., FOLLET H., PERALTA L., GARDEGARONT M., FARLAY D., GAUTHIER R., YU B., GINEYTS E., OLIVIER C., LANGER M. *et al.* **2019b** - Anisotropic elastic properties of human femoral

- cortical bone and relationships with composition and microstructure in elderly. *Acta Biomaterialia* 90:254-266.
67. CAI Y., ZHANG L., WANG Y., LIU Q., SHUI Q., YUE B., ZHANG Z. et LI J. **2015** - Identification of deer species (Cervidae, Cetartiodactyla) in China using mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (mtDNA COI). *Mitochondrial DNA* 27(6):1-4.
  68. CARTER P.H. et SCHIPANI E. **2006** - The roles of parathyroid hormone and calcitonin in bone remodeling: prospects for novel therapeutics. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)* 6(1):59-76.
  69. CARTER Y., THOMAS C.D.L., CLEMENT J.G. et COOPER D.M.L. **2013** - Femoral osteocyte lacunar density, volume and morphology in women across the lifespan. *Journal of Structural Biology* 183(3):519-526.
  70. CATTANEO C., DI MARTINO S. et SCALI S. **2001** - A preliminary comparative study of immunological, DNA and microscopic techniques for the species identification of archaeological cremated bone. *British archaeological reports (BAR)* 939:53-60.
  71. CATTANEO C., DIMARTINO S., SCALI S., CRAIG O.E., GRANDI M. et SOKOL R.J. **1999** - Determining the human origin of fragments of burnt bone: a comparative study of histological, immunological and DNA techniques. *Forensic Science International* 102(2):181-191.
  72. CATTANEO C., GELSTHORPE K., PHILLIPS P. et SOKOL R.J. **1992** - Reliable identification of human albumin in ancient bone using ELISA and monoclonal antibodies. *American journal of physical anthropology* 87(3):365-372.
  73. CATTANEO C., GELSTHORPE K., SOKOL R.J. et PHILLIPS P. **1994** - Immunological Detection of Albumin in Ancient Human Cremations using ELISA and Monoclonal Antibodies. *Journal of Archaeological Science* 21(4):565-571.
  74. CATTANEO C., PORTA D., GIBELLI D. et GAMBA C. **2009** - Histological Determination of the Human Origin of Bone Fragments. *Journal of forensic sciences* 54(3):531-533.
  75. CHAN A.H.W., CROWDER C.M. et ROGERS T.L. **2007** - Variation in cortical bone histology within the human femur and its impact on estimating age at death. *American journal of physical anthropology* 132(1):80-88.
  76. CHAPPARD C., BENSALAH S., OLIVIER C., GOUTTENOIRE P.J., MARCHADIER A., BENHAMOU C. et PEYRIN F. **2013** - 3D characterization of pores in the cortical bone of human femur in the elderly at different locations as determined by synchrotron micro-computed tomography images. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 24(3):1023-1033.
  77. CHAZOTTES M. **2012** - De l'os à l'objet: les traces d'un atelier de fabrication de dés à jouer en os à Apcher (F, Lozère), XVe-XVIIe s. *Bulletin Instrumentum* 36:41-43.
  78. CHILVARQUER I., O. KATZ J., M. GLASSMAN D., PRIHODA T. et A. COTTONE J. **1987** - Comparative Radiographic Study of Human and Animal Long Bone Patterns. 1645-1654 p.
  79. CHINSAMY A. et HURUM J.H. **2006** - Bone microstructure and growth patterns of early mammals. *Acta Palaeontologica Polonica* 51(2):325-338.

80. CHO H., STOUT S., MADSEN R. et STREETER M. **2002** - Population-Specific Histological Age-Estimating Method: A Model for Known African-American and European-American Skeletal Remains.
81. CHO H., STOUT S.D. et BISHOP T.A. **2006** - Cortical bone remodeling rates in a sample of African American and European American descent groups from the American Midwest: Comparisons of age and sex in ribs. *American journal of physical anthropology* 130(2):214-226.
82. CHRISTIANSEN B.A. **2016** - Effect of micro-computed tomography voxel size and segmentation method on trabecular bone microstructure measures in mice. *Bone reports* 5:136-140.
83. CLARKE B. **2008** - Normal bone anatomy and physiology. *Clinical journal of the American Society of Nephrology* 3(Supplement 3):S131-S139.
84. COHEN J. et HARRIS W.H. **1958** - The three-dimensional anatomy of haversian systems. *JBJS* 40(2):419-434.
85. COLLINS M., BUCKLEY M., GRUNDY H.H., THOMAS-OATES J., WILSON J. et VAN DOORN N. **2010** - ZooMS: the collagen barcode and fingerprints. *group (Saarland University, Germany)* 1:2.
86. COLOMBO A., HOOGLAND M., COQUEUGNIOT H., DUTOUR O. et WATERS-RIST A. **2018** - Trabecular bone microarchitecture analysis, a way for an early detection of genetic dwarfism? Case study of a dwarf mother's offspring. *International Journal of Paleopathology* 20:65-71.
87. COOPER D.M.L., ERICKSON B., PEELE A.G., HANNAH K., THOMAS C.D.L. et CLEMENT J.G. **2011** - Visualization of 3D osteon morphology by synchrotron radiation micro-CT. *Journal of Anatomy* 219(4):481-489.
88. COOPER D.M.L., THOMAS C.D.L., CLEMENT J.G. et HALLGRÍMSSON B. **2006** - Three-dimensional microcomputed tomography imaging of basic multicellular unit-related resorption spaces in human cortical bone. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 288A(7):806-816.
89. COOPER D.M.L., THOMAS C.D.L., CLEMENT J.G., TURINSKY A.L., SENSEN C.W. et HALLGRÍMSSON B. **2007b** - Age-dependent change in the 3D structure of cortical porosity at the human femoral midshaft. *Bone* 40(4):957-965.
90. COOPER D.M.L., TURINSKY A.L., SENSEN C.W. et HALLGRÍMSSON B. **2007a** - Effect of Voxel Size on 3D Micro-CT Analysis of Cortical Bone Porosity. *Calcified Tissue International* 80(3):211-219.
91. COOPER D.M.L., TURINSKY A.L., SENSEN C.W. et HALLGRÍMSSON B. **2003** - Quantitative 3D analysis of the canal network in cortical bone by micro-computed tomography. *The Anatomical Record Part B: The New Anatomist* 274B(1):169-179.
92. COQUEUGNIOT H., DUTAILLY B., DESBARATS P., BOULESTIN B., PAP I., SZIKOSSY I., BAKER O., MONTAUDON M., PANUEL M., KARLINGER K. et al. **2015** - Three-dimensional imaging of past skeletal TB: From lesion to process. *Tuberculosis* 95:S73-S79.
93. COQUEUGNIOT H., DUTOURO., ARENSBURG B., DUDAY H., VANDERMEERSCH B. et TILLIER A.-m. **2014** - Earliest Cranio-Encephalic Trauma from the Levantine Middle Palaeolithic: 3D

- Reappraisal of the Qafzeh 11 Skull, Consequences of Pediatric Brain Damage on Individual Life Condition and Social Care. *PLoS one* 9(7):e102822.
94. COQUEUGNIOT H., DUTOUR O., DUTAILLY B., COLOMBO A., RITTEMARD C. et SANTOS F. **2016** - MACROS ARCHEO (MAuration et CROissance du Squelette humain). Nouvelle méthodologie d'estimation de l'âge au décès des sujets immatures. Réunion scientifique de la Société d'Anthropologie de Paris. Lyon, France.
  95. CRAWLEY M.J. **2012** - The R book, John Wiley & Sons. 943 p.
  96. ČRČEK M. et DROBNIČ K. **2011** - Forensic identification of 12 mammals species based on size variation of mitochondrial cytochrome b gene using multiplex PCR assay. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 3(1):e218-e219.
  97. CRESCIMANNO A. et STOUT S.D. **2012** - Differentiating Fragmented Human and Nonhuman Long Bone Using Osteon Circularity. *Journal of forensic sciences* 57(2):287-294.
  98. CROWDER C. et DOMINGUEZ V. **2013** - Estimation of age at death using cortical bone histomorphometry. *Research Report, 2013, funded by the US Department of Justice, Office of Justice Programs, National Institute of Justice*.
  99. CROWDER C.M. **2005** - Evaluating the use of quantitative bone histology to estimate adult age at death. Ph. D. thesis: University of Toronto (Canada).
  100. CROWDER C.M., ANDRONOWSKI J.M. et DOMINGUEZ V.M. **2018a** - Bone Histology as an Integrated Tool in the Process of Human Identification. In: LATHAM K.E., BARTELINK E.J. et FINNEGAN M. *New Perspectives in Forensic Human Skeletal Identification*: Academic Press. p 201-213.
  101. CROWDER C.M., PINTO D.C., ANDRONOWSKI J.M. et DOMINGUEZ V.M. **2018b** - Theory and histological methods. *Forensic Anthropology: Theoretical Framework and Scientific Basis*. p 113-126.
  102. CUBO J., LE ROY N., MARTINEZ-MAZA C. et MONTES L. **2016** - Paleohistological estimation of bone growth rate in extinct archosaurs. *Paleobiology* 38(2):335-349.
  103. CUIJPERS A.G.F.M. **2006** - Histological identification of bone fragments in archaeology: telling humans apart from horses and cattle. *International Journal of Osteoarchaeology* 16(6):465-480.
  104. CUIJPERS S. et LAUWERIER R.C.G.M. **2008** - Differentiating between bone fragments from horses and cattle: a histological identification method for archaeology. *Environmental Archaeology* 13(2):165-179.
  105. CUMMAUDO M., CAPPELLA A., BIRAGHI M., RAFFONE C., MÀRQUEZ-GRANT N. et CATTANEO C. **2018** - Histomorphological analysis of the variability of the human skeleton: forensic implications. *International journal of legal medicine* 132(5):1493-1503.
  106. CUMMAUDO M., CAPPELLA A., GIACOMINI F., RAFFONE C., MÀRQUEZ-GRANT N. et CATTANEO C. **2019** - Histomorphometric analysis of osteocyte lacunae in human and pig: exploring its potential for species discrimination. *International journal of legal medicine* 133(3):711-718.
  107. CURREY J.D. **1960** - Differences in the blood-supply of bone of different histological types. *Journal of Cell Science* 3(55):351-370.
  108. CURREY J.D. **1964** - Some effects of ageing in human Haversian systems. *Journal of anatomy* 98(Pt 1):69.

109. CURREY J.D. **2002** - Bones: structure and mechanics, Princeton university press. 456 p.
110. CURREY J.D. **2003** - The many adaptations of bone. *J Biomech* 36(10):1487-1495.
111. CURREY J.D. et SHAHAR R. **2013** - Cavities in the compact bone in tetrapods and fish and their effect on mechanical properties. *Journal of structural biology* 183(2):107-122.
112. CUVIER G.b., CUVIER F., DUMÉRIL C., DUVERNOY G.L. et LAURILLARD C.L. **1835** - Lecons d'anatomie comparée 2nd édition. Paris, Crochard.
113. CUVIER G.b., LATREILLE P.A., LAURILLARD C.L., LOUVET G.P. et PIERRON J.A. **1817** - Le règne animal distribué d'après son organisation : pour servir de base a l'histoire naturelle des animaux et d'introduction a l'anatomie comparée. Paris, , Déterville.
114. CVETKOVIC V., NAJMAN S., RAJKOVIC J., ZABAR A.L., VASILJEVIC P., DJORDJEVIC L.B. et TRAJANOVIC M. **2013** - A comparison of the microarchitecture of lower limb long bones between some animal models and humans: a review. *Veterinarni Medicina* 58(7):339-351.
115. D'ERRICO F., BACKWELL L.R. et WADLEY L. **2012** - Identifying regional variability in Middle Stone Age bone technology: The case of Sibudu Cave. *Journal of Archaeological Science* 39(7):2479-2495.
116. DARBON J., CUNHA A., CHAN T.F., OSHER S. et JENSEN G.J. **2008** - Fast nonlocal filtering applied to electron cryomicroscopy. 2008 5th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro. p 1331-1334.
117. DARE S.S., MASILILI G., MUGAGGA K. et EKANEM P.E. **2019** - Evaluation of Bilateral Asymmetry in the Humerus of Human Skeletal Specimen. *Biomed Res Int* 2019:3194912-3194912.
118. DAVID S. et PAYNE S. **1992** - 101 way to deal with a dead hedgehog : notes on the preparation of disarticulated skeletons for zoo-archaeological use. *Circaea* 8 (2):95-104.
119. DAVIS P.G. **1997** - The bioerosion of bird bones. *International Journal of Osteoarchaeology* 7(4):388-401.
120. DE MARGERIE E. **2002** - Laminar bone as an adaptation to torsional loads in flapping flight. *Journal of Anatomy* 201(6):521-526.
121. DE RICQLÈS A.J. **1975** - Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes ; VII – Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux de tétrapodes. Première partie : structures. *Annales de Paléontologie* 61:51-129.
122. DE RICQLÈS A.J. **1976-1977** - Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes ; VII – Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux de tétrapodes. Deuxième partie : fonctions. *Annales de Paléontologie* 62 (1) 71-126, 63 (1) 33-56, 63 (2) 133-160 71-126.
123. DE RICQLÈS A.J. **1978-1981** - Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes ; VII – Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux de tétrapodes. Troisième partie : evolution. *Annales de Paléontologie* 64 (1) 85-111, 64 (2) 153-184.
124. DE RICQLÈS A.J. **2007** - Fifty years after Enlow and Brown's Comparative histological study of fossil and recent bone tissues (1956–1958): A review of Professor Donald H. Enlow's contribution to palaeohistology and comparative histology of bone. *Comptes Rendus Palevol* 6(8):591-601.

125. DE RICQLÈS A.J. **2011** - Vertebrate palaeohistology: Past and future. *Comptes Rendus Palevol* 10(5–6):509-515.
126. DELANNOY Y., COLARD T., CANNET C., MESLI V., HÉDOUIN V., PENEL G. et LUDES B. **2018** - Characterization of bone diagenesis by histology in forensic contexts: a human taphonomic study. *International journal of legal medicine* 132(1):219-227.
127. DELLANINI L., HAWKINS D., BRUCE MARTIN R. et STOVER S. **2003** - An investigation of the interactions between lower-limb bone morphology, limb inertial properties and limb dynamics. *Journal of biomechanics* 36:913-919.
128. DESMOND A., BARTON N., BOUZOUGGAR A., DOUKA K., FERNANDEZ P., HUMPHREY L., MORALES J., TURNER E. et BUCKLEY M. **2018** - ZooMS identification of bone tools from the North African Later Stone Age. *Journal of Archaeological Science* 98:149-157.
129. DIAZ C.M. et RAJTOVA V. **1975** - Comparative study of lamellar bone in some carnivora. *Folia Morphol (Praha)* 23(3):221-229.
130. DILLENSEGER J. et MOERSCHEL E. **2009** - Guide des technologies de l'imagerie médicale et de la radiothérapie, Paris: Elsevier-Masson. 416 p.
131. DITTMANN K. **2003** - Histomorphometrische Untersuchung der Knochenmikrostruktur von Primaten und Haustieren mit dem Ziel der Speziesidentifikation unter Berücksichtigung von Domestikationseffekten. *Anthropologischer Anzeiger* 61:175-188.
132. DJUKIC K., MILOVANOVIC P., HAHN M., BUSSE B., AMLING M. et DJURIC M. **2015** - Bone microarchitecture at muscle attachment sites: The relationship between macroscopic scores of entheses and their cortical and trabecular microstructural design. *American journal of physical anthropology* 157(1):81-93.
133. DOMINGUEZ V.M. et AGNEW A.M. **2016** - Examination of factors potentially influencing osteon size in the human rib. *The Anatomical Record* 299(3):313-324.
134. DOMINGUEZ V.M. et CROWDER C.M. **2012** - The utility of osteon shape and circularity for differentiating human and non-human Haversian bone. *American journal of physical anthropology* 149(1):84-91.
135. DONG P., HAUPERT S., HESSE B., LANGER M., GOUTTENOIRE P.-J., BOUSSON V. et PEYRIN F. **2014** - 3D osteocyte lacunar morphometric properties and distributions in human femoral cortical bone using synchrotron radiation micro-CT images. *Bone* 60(0):172-185.
136. DOUSS R. **2015** - Squelettisation d'images en niveaux de gris et applications. . PhD: Université Sorbonne Paris. 159 p.
137. DOYON D. **2000** - Scanner à rayons X: tomодensitométrie, Elsevier Masson. 400 p.
138. DUDA G.N., HELLER M., ALBINGER J., SCHULZ O., SCHNEIDER E. et CLAES L. **1998** - Influence of muscle forces on femoral strain distribution. *Journal of Biomechanics* 31(9):841-846.
139. DUDA G.N., SCHNEIDER E. et CHAO E.Y.S. **1997** - Internal forces and moments in the femur during walking. *Journal of Biomechanics* 30(9):933-941.
140. DUPRAS T.L. et PFEIFFER S.K. **1996** - Determination of Sex from Adult Human Ribs. *Canadian Society of Forensic Science Journal* 29(4):221-231.
141. DUPRAS T.L., SCHULTZ J.J., WILLIAMS L.J. et WHEELER S.M. **2016** - Forensic recovery of human remains: archaeological approaches, CRC Press. 398 p.
142. DUTAILLY B. **2016** - Plongement de surfaces continues dans des surfaces discrètes épaisses. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux.

143. DUTAILLY B., COQUEUGNIOT H., DESBARATS P., GUEORGUIEVA S. et SYNAVE R. **2009** - 3D surface reconstruction using HMH algorithm. Image Processing (ICIP), 2009 16th IEEE International Conference on. p 2505-2508.
144. DUVAL M. et MARTÍN-FRANCÉS L. **2017** - Quantifying the impact of  $\mu$ CT-scanning of human fossil teeth on ESR age results. *American journal of physical anthropology* 163(1):205-212.
145. ECKHOFF D.G., JACOFKY D.J., SPRINGER B.D., DUNBAR M., CHERIAN J.J., ELMALLAH R.K., MONT M.A. et GREENE K.A. **2016** - Bilateral Symmetrical Comparison of Femoral and Tibial Anatomic Features. *The Journal of Arthroplasty* 31(5):1083-1090.
146. ELLIOT J.C.; DOVER S.D. **1982** - X-ray microtomography. *Journal of Microscopy*. 126 (2): 211-213.
147. ENLOW D.H. **1963** - Principles of bone remodeling. *Charles C Thomas, Springfield, IL, USA*.
148. ENLOW D.H. **1966** - An Evaluation of the Use of Bone Histology in Forensic Medicine and Anthropology. In: EVANS F.G. *Studies on the Anatomy and Function of Bone and Joints*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. p 93-112.
149. ENLOW D.H. et BROWN S.O. **1956** - A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part I. *The Texas Journal of Science* 8(4).
150. ENLOW D.H. et BROWN S.O. **1957** - A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part II. *The Texas Journal of Science* 9(2):186-204.
151. ENLOW D.H. et BROWN S.O. **1958** - A comparative histological study of fossil and recent bone tissues, part. III. *Tex J Sci* 10(2):187-230.
152. ERBEN R.G., BRUNNER K.S. et BREIG B. **2004** - Long-Term Sensitivity of Uterus and Hypothalamus/Pituitary Axis to  $17\beta$ -Estradiol Is Higher Than That of Bone in Rats. *Journal of Bone and Mineral Research* 19(11):1827-1832.
153. ERICKSEN M.F. **1991** - Histologic estimation of age at death using the anterior cortex of the femur. *American journal of physical anthropology* 84(2):171-179.
154. ESPINOZA ORÍAS A.A., DEUERLING J.M., LANDRIGAN M.D., RENAUD J.E. et ROEDER R.K. **2009** - Anatomic variation in the elastic anisotropy of cortical bone tissue in the human femur. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 2(3):255-263.
155. EVANS F.G. **1976** - Mechanical properties and histology of cortical bone from younger and older men. *The Anatomical Record* 185(1):1-11.
156. FACCIA K., BUIE H., WEBER A., BAZALIISKII V.I., GORIUNOVA O.I., BOYD S., HALLGRÍMSSON B. et KATZENBERG M.A. **2014** - Bone quality in prehistoric, cis-baikal forager femora: A micro-CT analysis of cortical canal microstructure. *American journal of physical anthropology* 154(4):486-497.
157. FAJARDO R.J., MÜLLER R., KETCHAM R.A. et COLBERT M. **2007** - Nonhuman anthropoid primate femoral neck trabecular architecture and its relationship to locomotor mode. *The Anatomical Record* 290(4):422-436.
158. FARAWAY J.J. **2016** - Extending the linear model with R: generalized linear, mixed effects and nonparametric regression models, CRC press. 332 p.
159. FELDKAMP L.A., GOLDSTEIN S.A., PARFITT M.A., JESION G. et KLEEREKOPER M. **1989** - The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *Journal of bone and mineral research* 4(1):3-11.

160. FENTON T.W., BIRKBY W.H. et CORNELISON J. **2003** - A fast and safe non-bleaching method for forensic skeletal preparation. *Journal of forensic sciences* 48(2):274-276.
161. FERLLINI R. **2007** - Forensic archaeology and human rights violations, Charles C Thomas Publisher. 320 p.
162. FERNÁNDEZ-JALVO Y., ANDREWS P., PESQUERO D., SMITH C., MARÍN-MONFORT D., SÁNCHEZ B., GEIGL E.-M. et ALONSO A. **2010** - Early bone diagenesis in temperate environments: Part I: Surface features and histology. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 288(1-4):62-81.
163. FERNÁNDEZ-JALVO Y. et MONFORT M.D.M. **2008** - Experimental taphonomy in museums: Preparation protocols for skeletons and fossil vertebrates under the scanning electron microscopy. *Geobios* 41(1):157-181.
164. FOOTE J.S. **1911** - The comparative histology of femoral bones. *Transactions of the American Microscopical Society* 30(2):87-140.
165. FOOTE J.S. **1916** - A contribution to the comparative histology of the femur, Smithsonian institution.
166. FOOTE J.S. **1921** - The Circulatory System in Bone, Smithsonian Institution.
167. FRANCE D.L. **2008** - Human and nonhuman bone identification: a color atlas, CRC Press.
168. FRANCILLON-VIEILLOT H., DE BUFFRÉNIL V., CASTANET J., GÉRAUDIE J., MEUNIER F.J., SIRE J.Y., ZYLBERBERG L. et DE RICQLÈS A. **1990** - Microstructure and Mineralization of Vertebrate Skeletal Tissues. *Skeletal Biomineralization: Patterns, Processes and Evolutionary Trends*: American Geophysical Union. p 175-234.
169. FRANKLIN D. et MARKS M.K. **2012** - Species: Human Versus Nonhuman. *Encyclopedia of Forensic Sciences*:28 - 33.
170. FROST H.M. **1964** - The Laws of Bone Structure, Thomas, Springfield.
171. FROST H.M. **1969** - Tetracycline-based histological analysis of bone remodeling. *Calcified tissue international* 3(1):211-237.
172. FROST H.M. **1997** - On Our Age-Related Bone Loss: Insights from a New Paradigm. *Journal of Bone and Mineral Research* 12(10):1539-1546.
173. GARGIULO L., MELE G. et TERRIBILE F. **2015** - The role of rock fragments in crack and soil structure development: a laboratory experiment with a Vertisol. *European Journal of Soil Science* 66(4):757-766.
174. GARLAND A.N. **1989** - Microscopical analysis of fossil bone. *Applied Geochemistry* 4(3):215-229.
175. GAUTHIER R., LANGER M., FOLLET H., OLIVIER C., GOUTTENOIRE P.-J., HELFEN L., RONGIERAS F., MITTON D. et PEYRIN F. **2018** - 3D micro structural analysis of human cortical bone in paired femoral diaphysis, femoral neck and radial diaphysis. *Journal of structural biology* 204(2):182-190.
176. GAUTHIER R., LANGER M., FOLLET H., OLIVIER C., GOUTTENOIRE P.-J., HELFEN L., RONGIÉRAS F., MITTON D. et PEYRIN F. **2019** - Influence of loading condition and anatomical location on human cortical bone linear micro-cracks. *Journal of Biomechanics* 85:59-66.
177. GENTRY V. et GABBARD C. **1995** - Foot-preference behavior: a developmental perspective. *The Journal of general psychology* 122(1):37-45.

178. GEORGIA R. et ALBU I. **1988** - The Haversian canal network in the femoral compact bone in some vertebrates. *Morphologie et embryologie* 34(3):155-159.
179. GEORGIU L., KIVELL T.L., PAHR D.H., BUCK L.T. et SKINNER M.M. **2019** - Trabecular architecture of the great ape and human femoral head. *Journal of Anatomy* 234(5):679-693.
180. GEORGIU L., KIVELL T.L., PAHR D.H. et SKINNER M.M. **2018** - Trabecular bone patterning in the hominoid distal femur. *PeerJ* 6:e5156.
181. GILBERT M. **1980** - Mammalian osteology. 428 p.
182. GOCHA T.P. et AGNEW A.M. **2016** - Spatial variation in osteon population density at the human femoral midshaft: histomorphometric adaptations to habitual load environment. *Journal of anatomy* 228(5):733-745.
183. GOCHA T.P., ROBLING A.G. et STOUT S.D. **2018** - Histomorphometry Of Human Cortical Bone: Applications to Age Estimation. *Biological Anthropology of the Human Skeleton*.
184. GOLDMAN H.M., THOMAS C., CLEMENT J. et BROMAGE T. **2005** - Relationships among microstructural properties of bone at the human midshaft femur. *Journal of anatomy* 206(2):127-139.
185. GOLDMAN L.W. **2007** - Principles of CT and CT technology. *Journal of nuclear medicine technology* 35(3):115-128.
186. GOLIATH J.R., STEWART M.C. et STOUT S.D. **2016** - Variation in osteon histomorphometrics and their impact on age-at-death estimation in older individuals. *Forensic science international* 262:282. e281-282. e286.
187. GORET J.-F. et RODET-BELARBI I. **2018** - Les déchets d'os et de bois de cerf: De l'utilisation de la matière première dans l'artisanat à son réemploi dans l'Antiquité, au Moyen Âge et à l'époque moderne. *Les Nouvelles de l'archéologie*:46-52.
188. GOURRIER A. et REICHE I. **2015** - L'os : morphologie, structure et composition chimique. In: BALASSE M., BRUGAL J.-P., DAUPHIN Y., GEIGL E.-M., OBERLIN C. et REICHE I. *Messages d'os : Archéométrie du squelette animal et humain*. Paris: Editions des archives contemporaines. p 23-38.
189. GROSS W. **1934** - Die Typen des mikroskopischen Knochenbaues bei fossilen Stegoccephalen und Reptilien. *Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte* 103(6):731-764.
190. GUDEA A., STEFAN A., MARTONOS C., STAN F., DEZDROBITU C. et DAMIAN A. **2014** - Micro morphological Quantitative Assessment of Sheep (*Ovis aries*), Goat (*Capra hircus*) And Roe Deer (*Capreolus capreolus*) Compact Bone. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Veterinary Medicine* 71(1):73-78.
191. GUINEBRETIERE R. et GOUDEAU P. **2015** - Rayons X et Matière 4 : RX 2011, iSTE editions. 280 p.
192. GUREYEV T.E., NESTERETS Y.I., STEVENSON A.W., MILLER P.R., POGANY A. et WILKINS S.W. **2008** - Some simple rules for contrast, signal-to-noise and resolution in in-line x-ray phase-contrast imaging. *Opt Express* 16(5):3223-3241.
193. HACKETT C.J. **1981** - Microscopical focal destruction (tunnels) in exhumed human bones. *Medicine, Science and the Law* 21(4):243-265.
194. HANSON M. et CAIN C.R. **2007** - Examining histology to identify burned bone. *Journal of Archaeological Science* 34(11):1902-1913.

195. HARIDY Y., WITZMANN F., ASBACH P. et REISZ R.R. **2019** - Permian metabolic bone disease revealed by microCT: Paget's disease-like pathology in vertebrae of an early amniote. *PLoS one* 14(8):e0219662.
196. HARRIS L.J. **1990** - Chapter 8 Cultural Influences on Handedness: Historical and Contemporary Theory and Evidence. In: COREN S. *Advances in Psychology*: North-Holland. p 195-258.
197. HARRISON K.D. et COOPER D.M. **2015** - Modalities for Visualization of Cortical Bone Remodeling: The Past, Present, and Future. *Frontiers in endocrinology* 6:122.
198. HASTIE T., TIBSHIRANI R. et FRIEDMAN J. **2009** - The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction, Second Edition, Springer-Verlag New York.
199. HAVILL L.M. **2004** - Osteon Remodeling Dynamics in Macaca mulatta: Normal Variation with Regard to Age, Sex, and Skeletal Maturity. *Calcified Tissue International* 74(1):95-102.
200. HEANEY R.P., RECKER R.R. et SAVILLE P.D. **1978a** - Menopausal changes in calcium balance performance. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 92(6):953-963.
201. HEANEY R.P., RECKER R.R. et SAVILLE P.D. **1978b** - Menopausal changes in bone remodeling. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 92(6):964-970.
202. HEBERT P., CYWINSKA A., BALL S.L. et DEWAARD J. **2003** - Biological identification through DNA barcodes. 313-321 p.
203. HENNIG C., THOMAS C.D.L., CLEMENT J.G. et COOPER D.M.L. **2015** - Does 3D orientation account for variation in osteon morphology assessed by 2D histology? *Journal of Anatomy* 227(4):497-505.
204. HEŘT J., FIALA P. et PETRTÝL M. **1994** - Osteon orientation of the diaphysis of the long bones in man. *Bone* 15(3):269-277.
205. HILDEBRAND T., LAIB A., MÜLLER R., DEQUEKER J. et RÜEGSEGGER P. **1999** - Direct Three-Dimensional Morphometric Analysis of Human Cancellous Bone: Microstructural Data from Spine, Femur, Iliac Crest, and Calcaneus. *Journal of Bone and Mineral Research* 14(7):1167-1174.
206. HILDEBRAND T. et RÜEGSEGGER P. **1997** - A new method for the model-independent assessment of thickness in three-dimensional images. *Journal of microscopy* 185(1):67-75.
207. HILLIER M.L. et BELL L.S. **2007** - Differentiating Human Bone from Animal Bone: A Review of Histological Methods. *Journal of forensic sciences* 52(2):249-263.
208. HOFFMAN J. **1984** - Identification of nonskeletonized bear paws and human feet. *Human Identification: Case Studies in Forensic Anthropology Illinois: Thomas*:96-106.
209. HSIEH J. **2015** - Computed Tomography: Principles, Design, Artifacts, and Recent Advances, 3eme édition, SPIE. 666 p.
210. HUGUES G. **2012** - 30 ans d'expérience de dégraissage d'os frais et anciens. Table ronde sur "la conservation des squelettes gras : méthodes de dégraissage". Nantes, France.
211. HULSEY B.I., KLIPPEL W.E. et JANTZ L.M. **2009** - Metacarpal and metatarsal histology of human and black bear. Proceedings of the American Academy of Forensic Sciences Annual Meeting. Dencer CO. p 15: 303.
212. HUMMEL S. et SCHUTKOWSKI H. **1993** - Approaches to the Histological Age Determination of Cremated Human Remains. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg. p 111-123.

213. IMMEL A., LE CABEC A., BONAZZI M., HERBIG A., TEMMING H., SCHUENEMANN V.J., BOS K.I., LANGBEIN F., HARVATI K. et BRIDAULT A. **2016** - Effect of X-ray irradiation on ancient DNA in sub-fossil bones—Guidelines for safe X-ray imaging. *Scientific reports* 6:32969.
214. JANS M., KARS H., NIELSEN–MARSH C., SMITH C., NORD A., ARTHUR P. et EARL N. **2002** - In situ preservation of archaeological bone: a histological study within a multidisciplinary approach. *Archaeometry* 44(3):343-352.
215. JANS M.M.E. **2013** - Microscopic Destruction of Bone. In: POKINES J.T. et SYMES S.A. *Manual of Forensic Taphonomy*: CRC Press. p 19-36.
216. JANS M.M.E., NIELSEN-MARSH C.M., SMITH C.I., COLLINS M.J. et KARS H. **2004** - Characterisation of microbial attack on archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 31(1):87-95.
217. JAQUET C., ANDÓ E., VIGGIANI G. et TALBOT H. **2013a** - Estimation of separating planes between touching 3D objects using power watershed. International Symposium on Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing, Springer. p 452-463.
218. JOHNSON V., BECKETT S. et MÁRQUEZ-GRANT N. **2017** - Differentiating human versus non-human bone by exploring the nutrient foramen: implications for forensic anthropology. *International journal of legal medicine* 131(6):1757-1763.
219. JOWSEY J. **1966** - Studies of Haversian systems in man and some animals. *Journal of Anatomy* 100(Pt 4):857-864.
220. KANCHAN T., MOHAN KUMAR T.S., PRADEEP KUMAR G. et YOGANARASIMHA K. **2008** - Skeletal asymmetry. *Journal of Forensic and Legal Medicine* 15(3):177-179.
221. KEENAN K.E., MEARS C.S. et SKEDROS J.G. **2017** - Utility of osteon circularity for determining species and interpreting load history in primates and nonprimates. *American journal of physical anthropology* 162(4):657-681.
222. KENDALL C., ERIKSEN A.M.H., KONTOPOULOS I., COLLINS M.J. et TURNER-WALKER G. **2018** - Diagenesis of archaeological bone and tooth. *Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology* 491:21-37.
223. KEOUGH N., L'ABBÉ E.N. et STEYN M. **2009** - The evaluation of age-related histomorphometric variables in a cadaver sample of lower socioeconomic status: implications for estimating age at death. *Forensic Science International* 191(1):114.e111-114.e116.
224. KERLEY E.R. **1965** - The microscopic determination of age in human bone. *American journal of physical anthropology* 23(2):149-163.
225. KESTERKE M.J. et JUDD M.A. **2019** - A microscopic evaluation of Paget's disease of bone from a Byzantine monastic crypt in Jordan. *International journal of paleopathology* 24:293-298.
226. KIM D.-G., CHRISTOPHERSON G.T., DONG X.N., FYHRIE D.P. et YENI Y.N. **2004** - The effect of microcomputed tomography scanning and reconstruction voxel size on the accuracy of stereological measurements in human cancellous bone. *Bone* 35(6):1375-1382.
227. KING A., GUIGNOT N., ZERBINO P., BOULARD E., DESJARDINS K., BORDESSOULE M., LECLERQ N., LE S., RENAUD G. et CERATO M. **2016** - Tomography and imaging at the PSICHE beam line of the SOLEIL synchrotron. *Review of Scientific Instruments* 87(9):093704.
228. KINI U. et NANDEESH B. **2012** - Physiology of bone formation, remodeling and metabolism. *Radionuclide and hybrid bone imaging*: Springer. p 29-57.

229. LAFFORGUE P. **2013** - Fractures de contrainte (fractures de fatigue et fractures par insuffisance osseuse). *EMC–Appareil locomoteur* 8(2):1-12.
230. LANDER S.L., BRITS D. et HOSIE M. **2014** - The effects of freezing, boiling and degreasing on the microstructure of bone. *HOMO - Journal of Comparative Human Biology* 65(2):131-142.
231. LATIMER H.B. et LOWRANCE E.W. **1965** - Bilateral asymmetry in weight and in length of human bones. *The Anatomical Record* 152(2):217-224.
232. LAZENBY R.A. **2002** - Skeletal Biology, Functional Asymmetry and the Origins of "Handedness". *Journal of Theoretical Biology* 218(1):129-138.
233. LEMOINE G. **2012** - Limites et inconvénients des méthodes traditionnelles de préparation des squelettes. Table Ronde sur "La conservation des squelettes gras : méthodes de dégraissages". Nantes, France.
234. LESPESSAILLES E., CHAPPARD C., BONNET N. et BENHAMOU C.L. **2006** - Imaging techniques for evaluating bone microarchitecture. *Joint bone spine* 73(3):254-261.
235. LI S., DEMIRCI E. et SILBERSCHMIDT V.V. **2013** - Variability and anisotropy of mechanical behavior of cortical bone in tension and compression. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 21:109-120.
236. LINACRE A. et TOBE S. **2013** - Wildlife DNA analysis: applications in forensic science, Wiley-Blackwell. 350 p.
237. LOPEZ-OCEJA A., GAMARRA D., BORRAGAN S., JIMÉNEZ-MORENO S. et DE PANCORBO M.M. **2016** - New cyt b gene universal primer set for forensic analysis. *Forensic Science International: Genetics* 23:159-165.
238. LOWENSTEIN J.M. **1980** - Species-specific proteins in fossils. *Naturwissenschaften* 67(7):343-346.
239. MAGGIANO I.S., MAGGIANO C.M., CLEMENT J.G., THOMAS C.D.L., CARTER Y. et COOPER D.M.L. **2016** - Three-dimensional reconstruction of Haversian systems in human cortical bone using synchrotron radiation-based micro-CT: morphology and quantification of branching and transverse connections across age. *Journal of Anatomy*:n/a-n/a.
240. MAGGIANO I.S., MAGGIANO C.M., TIESLER V.G., CHI-KEB J.R. et STOUT S.D. **2015** - Drifting Diaphyses: Asymmetry in Diametric Growth and Adaptation Along the Humeral and Femoral Length. *The Anatomical Record* 298(10):1689-1699.
241. MANN R.W. et BERRYMAN H.E. **2012** - A Method for Defleshing Human Remains Using Household Bleach. *Journal of forensic sciences* 57(2):440-442.
242. MARIEB E.N. et HOEHN K. **2014** - Anatomie et physiologie Humaines, 9ème édition, Pearson. 1504 p.
243. MARTIN R., GIBSON V., STOVER S., GIBELING J. et GRIFFINS L. **1996** - Osteonal structure in the equine third metacarpus. *Bone* 19(2):165-171.
244. MARTIN R.B., BURR D.B., SHARKEY N.A. et FYHRIE D.P. **2015** - Skeletal Tissue Mechanics, Springer, New York. 501 p.
245. MARTIN R.B., PICKETT J.C. et ZINAICH S. **1980** - Studies of skeletal remodeling in aging men. *Clinical orthopaedics and related research*(149):268-282.
246. MARTIN W.L., MACHADO A.H. et PAIXAO C.B. **2004** - Footedness across the age span among Brazilian right- and left-handers. *Perceptual and motor skills* 99(3 Pt 1):999-1006.

247. MARTINIAKOVÁ M., GROSSKOPF B., OMEKKA R., DAMMERS K., VONDRÁKOVÁ M. et BAUEROVÁ M. **2007** - Histological study of compact bone tissue in some mammals: a method for species determination. *International Journal of Osteoarchaeology* 17(1):82-90.
248. MARTINIAKOVÁ M., GROSSKOPF B., OMEKKA R., VONDRÁKOVÁ M. et BAUEROVÁ M. **2006** - Differences Among Species in Compact Bone Tissue Microstructure of Mammalian Skeleton: Use of a Discriminant Function Analysis for Species Identification. *Journal of forensic sciences* 51(6):1235-1239.
249. MARTINIAKOVÁ M., GROSSKOPF B., VONDRÁKOVÁ M., OMEKKA R. et FABIŠ M. **2005** - Observation of the microstructure of rat cortical bone tissue. *Scripta med* 78(1):45-50.
250. MARTINIAKOVÁ M., OMEKKA R., GROSSKOPF B., MOKOŠOVÁ Z. et TOMAN R. **2009** - Histological analysis of compact bone tissue in adult laboratory rats. *Slovak J Anim Sci* 42(Suppl 1):56-59.
251. MARTINIAKOVÁ M. et VONDRÁKOVÁ M. **2003** - Investigation of the microscopic structure of rabbit compact bone tissue.
252. MATSUDA H., SEO Y., KAKIZAKI E., KOZAWA S., MURAOKA E. et YUKAWA N. **2005** - Identification of DNA of human origin based on amplification of human-specific mitochondrial cytochrome b region. *Forensic Science International* 152(2):109-114.
253. MATSUMOTO T., YOSHINO M., ASANO T., UESUGI K., TODOH M. et TANAKA M. **2006** - Monochromatic synchrotron radiation  $\mu$ CT reveals disuse-mediated canal network rarefaction in cortical bone of growing rat tibiae. *Journal of Applied Physiology* 100(1):274-280.
254. MATYAS J. **1929** - Die mikroanatomische Knochenstruktur und die Abstammungsgeschichte einzelner Wirbeltiergruppen. Xth Int Zool Congress, Budapest. p 666-704.
255. MAYYA A., BANERJEE A. et RAJESH R. **2016** - Haversian microstructure in bovine femoral cortices: an adaptation for improved compressive strength. *Materials Science and Engineering: C* 59:454-463.
256. MELTON T. et HOLLAND C. **2007** - Routine Forensic Use of the Mitochondrial 12S Ribosomal RNA Gene for Species Identification. *Journal of forensic sciences* 52(6):1305-1307.
257. MÉNIEL P. **2008** - La différenciation d'ossements animaux et humains. In: BOCCARD D. *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives*.
258. MICCICHÈ R., CAROTENUTO G. et SÌNEO L. **2018** - The utility of 3D medical imaging techniques for obtaining a reliable differential diagnosis of metastatic cancer in an Iron Age skull. *International Journal of Paleopathology* 21:41-46.
259. MISZKIEWICZ J.J. **2016** - Investigating histomorphometric relationships at the human femoral midshaft in a biomechanical context. *J Bone Miner Metab* 34(2):179-192.
260. MISZKIEWICZ J.J. et MAHONEY P. **2016** - Ancient Human Bone Microstructure in Medieval England: Comparisons between Two Socio-Economic Groups. *The Anatomical Record* 299(1):42-59.
261. MORALES J.-P., ROA I., ZAVANDO D. et GALDAMES I.S. **2012** - Determination of the Species from Skeletal Remains Through Histomorphometric Evaluation and Discriminant Analysis. *Int J Morphol* 30(3):1035-1041.

262. MORRIS Z.H. **2007** - Quantitative and spacial analysis of the microscopic bone structures of deer (*Odocoileus virginianus*), dog (*Canis familliaris*), abd pig (*Sus scrofa domesticus*). Master of Arts: Louisiana State University. 70 p.
263. MULHERN D.M. **2016** - Differentiating Human from Nonhuman Skeletal Remains. In: BLAU S. et UBELAKER D. *Handbook of forensic anthropology and archaeology (2nd edition)*. p 197-212.
264. MULHERN D.M. et UBELAKER D.H. **2001** - Differences in osteon banding between human and nonhuman bone. *Journal of forensic sciences* 46(2):220-222.
265. MULHERN D.M. et UBELAKER D.H. **2011** - Differentiating Human from Nonhuman Bone Microstructure. In: CROWDER C.M. et STOUT S.D. *Bone Histology*: CRC Press. p 109-134.
266. MULHERN D.M. et VAN GERVEN D.P. **1997** - Patterns of femoral bone remodeling dynamics in a medieval Nubian population. *American journal of physical anthropology* 104(1):133-146.
267. MURAIL P., BRUZEK J., HOUËT F. et CUNHA E. **2005** - DSP: a tool for probabilistic sex diagnosis using worldwide variability in hip-bone measurements. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*(17 (3-4)):167-176.
268. NAITO E., DEWA K., YMANOUCHI H. et KOMINAMI R. **1992** - Ribosomal Ribonucleic Acid (rRNA) Gene Typing for Species Identification. *Journal of forensic sciences* 37(2):396-403.
269. NAJI S., RENDU W. et GOURICHON L. **2015** - La Cémentochronologie. In: BALASSE M., BRUGAL J.-P., DAUPHIN Y., GEIGL E.-M., OBERLIN C. et REICHE I. *Messages d'os : Archéométrie du squelette animal et Humain*. Paris: Editions des archives contemporaines. p 172-190.
270. NARASAKI S. **1990** - Estimation of age at death by femoral osteon remodeling: application of Thompson's core technique to modern Japanese. *Journal of the Anthropological Society of Nippon* 98(1):29-38.
271. NEBOT E., HEIMEL P., TANGL S., DOCKNER M., PATSCH J., WEBER G.W., PRETTERKLIEBER M., TESCHLER-NICOLA M. et PIETSCHMANN P. **2019** - Paget's Disease of Long Bones: Microstructural Analyses of Historical Bone Samples. *Calcified tissue international* 105(1):15-25.
272. NGANVONGPANIT K., PHATSARA M., SETTAKORN J. et MAHAKKANUKRAUH P. **2015** - Differences in compact bone tissue microscopic structure between adult humans (*Homo sapiens*) and Assam macaques (*Macaca assamensis*). *Forensic science international* 254:243. e241-243. e245.
273. NIELSEN-MARSH C.M., SMITH C.I., JANS M., NORD A., KARS H. et COLLINS M.J. **2007** - Bone diagenesis in the European Holocene II: taphonomic and environmental considerations. *Journal of Archaeological Science* 34(9):1523-1531.
274. NOR F.M., PASTOR R.F. et SCHUTKOWSKI H. **2014** - Age at death estimation from bone histology in Malaysian males. *Medicine, Science and the Law* 54(4):203-208.
275. NOR F.M., PASTOR R.F. et SCHUTKOWSKI H. **2015** - Histological study to differentiate between human and non-human long bone. *International Medical Journal* 22(5):413-417.
276. ORTNER D.J. **1975** - Aging effects on osteon remodeling. *Calcified Tissue International* 18(1):27-36.
277. OSTERTAG A., PEYRIN F., GOUTTENOIRE P.J., LAREDO J.D., DEVERNEJOU M.C., COHEN SOLAL M. et CHAPPARD C. **2016** - Multiscale and multimodality computed tomography for cortical bone analysis. *Phys Med Biol* 61(24):8553-8576.

278. OWSLEY D. et MANN R. **1990** - Medicolegal case involving a bear paw. *Journal of the American Podiatric Medical Association* 80(11):623-625.
279. OWSLEY D.W., MIRES A.M. et KEITH M.S. **1985** - Case involving differentiation of deer and human bone fragments. *Journal of forensic sciences* 30(2):572-578.
280. OWSLEY D.W., ROBERTS E.D. et MANNING E.M. **1992** - Field recovery and analysis of horse skeletal remains. *Journal of forensic sciences* 37(1):163-175.
281. PAJA L., COQUEUGNIOT H., DUTOUR O., WILLMON R., FARKAS G.L., PALKÓ A. et PÁLFI G. **2015** - Knee Ankyloses Associated with Tuberculosis from the Medieval Hungary – Differential Diagnosis Based on Medical Imaging Techniques. *International Journal of Osteoarchaeology* 25(3):352-360.
282. PALES L. **1971** - Atlas ostéologique pour servir à L'identification des Mammifères Du Quaternaire 1 : Les membres: Herbivores, Carnivores, Paris: Éditions du Centre national de la recherche scientifique.
283. PALES L. **1981** - Atlas ostéologique pour servir à l'identification des Mammifères du Quaternaire 2 : Tête, rachis, ceintures scapulaire et pelvienne, membres : Herbivores, Carnivores, Homme., Centre National de la Recherche Scientifique.
284. PARFITT A.M. **1996** - Hormonal influences on bone remodeling and bone loss: application to the management of primary hyperparathyroidism. *Annals of internal medicine* 125(5):413-415.
285. PARTICELLI F., MECOZZI L., BERAUDI A., MONTESI M., BARUFFALDI F. et VICECONTI M. **2012** - A comparison between micro-CT and histology for the evaluation of cortical bone: effect of polymethylmethacrylate embedding on structural parameters. *Journal of microscopy* 245(3):302-310.
286. PATSCH J.M., BURGHARDT A.J., YAP S.P., BAUM T., SCHWARTZ A.V., JOSEPH G.B. et LINK T.M. **2013** - Increased cortical porosity in type 2 diabetic postmenopausal women with fragility fractures. *Journal of bone and mineral research* 28(2):313-324.
287. PAVELKA J., KOVAČIKOVÁ L. et ŠMEJDA L. **2011** - The determination of domesticated animal species from a Neolithic sample using the ELISA test. *Comptes Rendus Palevol* 10(1):61-70.
288. PAZZAGLIA U., ZARATTINI G., GIACOMINI D., RODELLA L., MENTI A. et FELTRIN G. **2010** - Morphometric Analysis of the Canal System of Cortical Bone: An Experimental Study in the Rabbit Femur Carried Out with Standard Histology and Micro-CT. *Anatomia, histologia, embryologia* 39(1):17-26.
289. PERILLI E., BALA Y., ZEBAZE R., REYNOLDS K.J. et SEEMAN E. **2015** - Regional heterogeneity in the configuration of the intracortical canals of the femoral shaft. *Calcified tissue international* 97(4):327-335.
290. PESQUERO M.D., ASCASO C., ALCALÁ L. et FERNÁNDEZ-JALVO Y. **2010** - A new taphonomic bioerosion in a Miocene lakeshore environment. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 295(1-2):192-198.
291. PETER Z.-A. et PEYRIN F. **2011** - Synchrotron radiation micro-CT imaging of bone tissue. *Theory and applications of CT imaging and analysis*: InTech.
292. PETRTÝL M., HEŘT J. et FIALA P. **1996** - Spatial organization of the haversian bone in man. *Journal of biomechanics* 29(2):161-169.

293. PEYRIN F. **2009** - Investigation of bone with synchrotron radiation imaging: from micro to nano. *Osteoporosis International* 20(6):1057-1063.
294. PEYRIN F., SALOME M., CLOETENS P., LAVAL-JEANTET A., RITMAN E. et RÜEGSEGGER P. **1998** - Micro-CT examinations of trabecular bone samples at different resolutions: 14, 7 and 2 micron level. *Technology and Health Care* 6(5, 6):391-401.
295. PEYRIN F., ZSOLT P., LARRUE A., ALEXANDRA B. et DOMINIQUE A. **2007** - LOCAL GEOMETRICAL ANALYSIS OF 3D POROUS NETWORKS BASED ON THE MEDIAL AXIS: APPLICATION TO BONE MICROARCHITECTURE MICROTOMOGRAPHY IMAGES. *Image Analysis and Stereology* 26(3):179-185.
296. PFEIFFER S. **1998** - Variability in osteon size in recent human populations. *American journal of physical anthropology* 106(2):219-227.
297. PFEIFFER S., CROWDER C., HARRINGTON L. et BROWN M. **2006** - Secondary osteon and Haversian canal dimensions as behavioral indicators. *American journal of physical anthropology* 131(4):460-468.
298. PFEIFFER S., HEINRICH J., BERESHEIM A. et ALBLAS M. **2016** - Cortical bone histomorphology of known-age skeletons from the K irsten collection, S tellenbosch university, S outh A frica. *American journal of physical anthropology* 160(1):137-147.
299. PICKERING R.B. et BACHMAN D. **2009** - The Use of Forensic Anthropology, CRC Press. 184 p.
300. PIERRE M.A., ZURAKOWSKI D., NAZARIAN A., HAUSER-KARA D.A. et SNYDER B.D. **2010** - Assessment of the bilateral asymmetry of human femurs based on physical, densitometric, and structural rigidity characteristics. *Journal of Biomechanics* 43(11):2228-2236.
301. PINA M., ALBA D.M., ALMÉCIJA S., FORTUNY J. et MOYÀ-SOLÀ S. **2012** - Brief communication: Paleobiological inferences on the locomotor repertoire of extinct hominoids based on femoral neck cortical thickness: The fossil great ape hispanopithecus laietanus as a test-case study. *American journal of physical anthropology* 149(1):142-148.
302. PLOCHOCKI J.H. **2004** - Bilateral variation in limb articular surface dimensions. *American Journal of Human Biology* 16(3):328-333.
303. PLOUGONVEN E. **2009** - Link between the microstructure of porous materials and their permeability. Thèse de doctorat: Université Sciences et Technologies - Bordeaux I.
304. PLOUGONVEN E. et BERNARD D. **2011** - Optimal removal of topological artefacts in microtomographic images of porous materials. *Advances in Water Resources* 34(6):731-736.
305. POKINES J.T. **2015** - Identification of Nonhuman Remains Received in a Medical Examiner Setting. *Journal of Forensic Identification* 65(3).
306. PRATT I.V. et COOPER D.M.L. **2017** - A method for measuring the three-dimensional orientation of cortical canals with implications for comparative analysis of bone microstructure in vertebrates. *Micron* 92:32-38.
307. PRATT I.V., JOHNSTON J.D., WALKER E. et COOPER D.M. **2018** - Interpreting the three-dimensional orientation of vascular canals and cross-sectional geometry of cortical bone in birds and bats. *Journal of anatomy* 232(6):931-942.
308. PRITCHARD J.J. **1956** - The osteoblast. *The biochemistry and physiology of bone* 1.
309. PUDNEY C. **1998** - Distance-Ordered Homotopic Thinning: A Skeletonization Algorithm for 3D Digital Images. *Computer Vision and Image Understanding* 72(3):404-413.

310. PUYMERRAIL L. **2013** - The functionally-related signatures characterizing the endostructural organisation of the femoral shaft in modern humans and chimpanzee. *Comptes Rendus Palevol* 12(4):223-231.
311. PYKA G., KERCKHOFS G., SCHROOTEN J. et WEVERERS M. **2014** - The effect of spatial micro-CT image resolution and surface complexity on the morphological 3D analysis of open porous structures. *Materials Characterization* 87:104-115.
312. QUATREHOMME G., BEAUTHIER J.P. et LEFEVRE P. **2015** - Traité d'anthropologie médico-légale, Paris: De Boeck. 1861 p.
313. QUEKETT J. **1849** - On the Intimate Structure of Bone, as composing the Skeleton, in the four great Classes of Animals, viz., Mammals, Birds, Reptiles, and Fishes, with some Remarks on the great Value of the Knowledge of such Structure in determining the Affinities of Minute Fragments of Organic Remains. *Transactions of the Microscopical Society of London* 2(1):46-58.
314. RABEY K.N., GREEN D.J., TAYLOR A.B., BEGUN D.R., RICHMOND B.G. et MCFARLIN S.C. **2015** - Locomotor activity influences muscle architecture and bone growth but not muscle attachment site morphology. *Journal of human evolution* 78:91-102.
315. RAISZ L.G. **1999** - Physiology and pathophysiology of bone remodeling. *Clinical chemistry* 45(8):1353-1358.
316. RAJTOVÁ V. **1995** - Lamellar bone structure in small ruminants. *Folia Vet* 39:59-64.
317. RATNASINGHAM S. et HEBERT P.D.N. **2007** - bold: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular Ecology Notes* 7(3):355-364.
318. REID R.E.H. **1996** - Bone histology of the Cleveland-Lloyd dinosaurs and of dinosaurs in general, Part I: Introduction: Introduction to bone tissues. 25-72 p.
319. RICHARDS G.D., JABBOUR R.S., HORTON C.F., IBARRA C.L. et MACDOWELL A.A. **2012** - Color changes in modern and fossil teeth induced by synchrotron microtomography. *American journal of physical anthropology* 149(2):172-180.
320. RITTEMARD C., COLOMBO A., DESBARATS P., DUTAILLY B., DUTOUR O. et COQUEUGNIOT H. **2019** - The periosteum dilemma in bioarcheology: Normal growth or pathological condition? – 3D discriminating microscopic approach. *Journal of Archaeological Science: Reports* 24:236-243.
321. ROBLING A.G. et STOUT S.D. **1999** - Morphology of the drifting osteon. *Cells Tissues Organs* 164(4):192-204.
322. ROBLING A.G. et STOUT S.D. **2007** - Histomorphometry of Human Cortical Bone: Applications to Age Estimation. In: KATZENBERG M.A. et SAUNDERS S.R. *Biological Anthropology of the Human Skeleton*: John Wiley & Sons, Inc. p 149-182.
323. ROCHEFORT G.Y. **2014** - The osteocyte as a therapeutic target in the treatment of osteoporosis. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease* 6(3):79-91.
324. ROTHAEER X., DELILLE R., MORVAN H., BENNANI B., MARKIEWICZ E. et FONTAINE C. **2018** - A three-dimensional geometric quantification of human cortical canals using an innovative method with micro-computed tomographic data. *Micron* 114:62-71.
325. RUCHONNET C.E.L. **2019** - Bone histopathology: the effects of pathology on bone microstructure and implications for histological age estimation. PhD thesis: University of Edinburgh. 283 p.

326. RUFF C.B. **2002** - Long bone articular and diaphyseal structure in old world monkeys and apes. I: Locomotor effects. *American journal of physical anthropology* 119(4):305-342.
327. RUFF C.B. et JONES H.H. **1981** - Bilateral asymmetry in cortical bone of the humerus and tibia-sex and age factors. *Human biology* 53(1):69-86.
328. RYAN T.M. et SHAW C.N. **2012** - Unique Suites of Trabecular Bone Features Characterize Locomotor Behavior in Human and Non-Human Anthropoid Primates. *PloS one* 7(7):e41037.
329. SAHA P.K., BORGEFORS G. et SANNITI DI BAJA G. **2016** - A survey on skeletonization algorithms and their applications. *Pattern Recognition Letters* 76:3-12.
330. SAINT-PIERRE C. **2010** - Millau, La Granède (Aveyron): une église paléochrétienne anonyme sur un éperon barré. *Archéologie du Midi Médiéval* 28(1):181-191.
331. SAINT-PIERRE C. **2013** - Un maillon de l'occupation du territoire millavois au haut Moyen Âge : le site de hauteur de la Granède (Millau), une agglomération entre *Condatomagos* et *Amiliavus*? . *Cahiers d'archéologie aveyronnaise* 26:128-140.
332. SAKAUE K. **1997** - Bilateral Asymmetry of the Humerus in Jomon People and Modern Japanese. *Anthropological Science* 105(4):231-246.
333. SCHAFFLER M.B. et BURR D.B. **1984** - Primate cortical bone microstructure: Relationship to locomotion. *American journal of physical anthropology* 65(2):191-197.
334. SCHLECHT S.H., PINTO D.C., AGNEW A.M. et STOUT S.D. **2012** - Brief communication: the effects of disuse on the mechanical properties of bone: what unloading tells us about the adaptive nature of skeletal tissue. *American journal of physical anthropology* 149(4):599-605.
335. SCHNEIDER P., MEIER M., WEPF R. et MÜLLER R. **2010** - Towards quantitative 3D imaging of the osteocyte lacuno-canalicular network. *Bone* 47(5):848-858.
336. SERET A. et HOEBEKE M. **2008** - Imagerie médicale, Editions de l'ULG. 234 p.
337. SHAH F.A., STOICA A., CARDEMIL C. et PALMQUIST A. **2018** - Multiscale characterization of cortical bone composition, microstructure, and nanomechanical properties in experimentally induced osteoporosis. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 106(4):997-1007.
338. SHAW C.N. et RYAN T.M. **2012** - Does skeletal anatomy reflect adaptation to locomotor patterns? cortical and trabecular architecture in human and nonhuman anthropoids. *American journal of physical anthropology* 147(2):187-200.
339. SHELTON S.Y. et BUCKLEY J.S. **1990** - Observations on enzyme preparation effects on skeletal material. *Collection Forum*. p 76-81.
340. SHIMANO M. et VOLPON J. **2009** - Biomechanics and structural adaptations of the rat femur after hindlimb suspension and treadmill running. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 42(4):330-338.
341. SIMONSEN K.P., RASMUSSEN A.R., MATHISEN P., PETERSEN H. et BORUP F. **2011** - A Fast Preparation of Skeletal Materials Using Enzyme Maceration. *Journal of forensic sciences* 56(2):480-484.
342. SIMS M.E. **2007** - Comparison of Black Bear paws to human hands and feet. *Identification Guides for Wildlife Law Enforcement*(11):3.
343. SINGH I.J. et GUNBERG D.L. **1970** - Estimation of age at death in human males from quantitative histology of bone fragments. *American journal of physical anthropology* 33(3):373-381.

344. SINGH I.J., TONNA E.A. et GANDEL C.P. **1974** - A comparative histological study of mammalian bone. *Journal of morphology* 144(4):421-437.
345. SIRIS E.S. et ROODMAN D.G. **2013** - Paget's Disease of Bone. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. p 659-668.
346. SKEDROS J.G. **2011** - Interpreting Load History in Limb-Bone Diaphyses: Important Considerations and Their Biomechanical Foundations. In: PRESS C. *Bone Histology: An Anthropological Perspective*.
347. SKEDROS J.G. et BAUCOM S.L. **2007** - Mathematical analysis of trabecular 'trajectories' in apparent trajectorial structures: the unfortunate historical emphasis on the human proximal femur. *Journal of theoretical biology* 244(1):15-45.
348. SKEDROS J.G., KISER C.J., KEENAN K.E. et THOMAS S.C. **2011** - Analysis of osteon morphotype scoring schemes for interpreting load history: evaluation in the chimpanzee femur. *Journal of Anatomy* 218(5):480-499.
349. SKEDROS J.G., MASON M.W. et BLOEBAUM R.D. **1994** - Differences in osteonal micromorphology between tensile and compressive cortices of a bending skeletal system: indications of potential strain-specific differences in bone microstructure. *Anat Rec* 239(4):405-413.
350. SKEDROS J.G., MENDENHALL S.D., KISER C.J. et WINET H. **2009** - Interpreting cortical bone adaptation and load history by quantifying osteon morphotypes in circularly polarized light images. *Bone* 44(3):392-403.
351. SKEDROS J.G., SU S.C. et BLOEBAUM R.D. **1997** - Biomechanical implications of mineral content and microstructural variations in cortical bone of horse, elk, and sheep calcanei. *The Anatomical Record* 249(3):297-316.
352. SKEDROS J.G., SYBROWSKY C.L., PARRY T.R. et BLOEBAUM R.D. **2003** - Regional differences in cortical bone organization and microdamage prevalence in Rocky Mountain mule deer. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 274A(1):837-850.
353. SMITH J. **1960** - Collagen fibre patterns in mammalian bone. *Journal of anatomy* 94(Pt 3):329.
354. SPARACELLO V.S., VILLOTTE S., SHACKELFORD L.L. et TRINKAUS E. **2017** - Patterns of humeral asymmetry among Late Pleistocene humans. *Comptes Rendus Palevol* 16(5):680-689.
355. SPOOR C.F., ZONNEVELD F.W. et MACHO G.A. **1993** - Linear measurements of cortical bone and dental enamel by computed tomography: applications and problems. *American journal of physical anthropology* 91(4):469-484.
356. STAUBER M. et MÜLLER R. **2006** - Volumetric spatial decomposition of trabecular bone into rods and plates—A new method for local bone morphometry. *Bone* 38(4):475-484.
357. STEADMAN D.W., DIANTONIO L.L., WILSON J.J., SHERIDAN K.E. et TAMMARIELLO S.P. **2006** - The Effects of Chemical and Heat Maceration Techniques on the Recovery of Nuclear and Mitochondrial DNA from Bone\*. *Journal of forensic sciences* 51(1):11-17.
358. STEELE J. et MAYS S. **1995** - Handedness and directional asymmetry in the long bones of the human upper limb. *International Journal of Osteoarchaeology* 5(1):39-49.
359. STEVENS A. et LOWE J.S. **2006** - Histologie humaine, 3ème édition Elsevier. p 480.
360. STEWART T.D. **1959** - Bear paw remains cmosely resemble human bones. *FBI Law Enforcement Bulletin* 28(11):18-22.

361. STOUT S.D., DIETZE W., IŞCAN M. et LOTH S.R. **1994** - Estimation of age at death using cortical histomorphometry of the sternal end of the fourth rib. *Journal of Forensic Science* 39(3):778-784.
362. STOUT S.D. et PAINE R.R. **1992** - Histological age estimation using rib and clavicle. *American journal of physical anthropology* 87(1):111-115.
363. STOUT S.D., PORRO M.A. et PEROTTI B. **1996** - Brief communication: a test and correction of the clavicle method of Stout and Paine for histological age estimation of skeletal remains. *American journal of physical anthropology* 100(1):139-142.
364. STREETER M. **2011** - Histological age-at-death estimation. In: CROWDER C. et STOUT S. *Bone Histology: An Anthropological Perspective*: CRC Press. p 151-168.
365. STREETER M., STOUT S., TRINKAUS E. et BURR D. **2010** - Brief communication: Bone remodeling rates in Pleistocene humans are not slower than the rates observed in modern populations: A reexamination of Abbott et al. (1996). *American journal of physical anthropology* 141(2):315-318.
366. SUKHDEO S., PARSONS J., NIU X.M. et RYAN T.M. **2019** - Trabecular Bone Structure in the Distal Femur of Humans, Apes, and Baboons. *The Anatomical Record* (à venir).
367. SYMES S.A., L'ABBÉ E.N., POKINES J.T., YUZWA T., MESSER D., STROMQUIST A. et KEOUGH N. **2013** - Thermal alteration to bone. In: POKINES J.T. et SYMES S.A. *Manual of forensic taphonomy* CRC Press. p 367-402.
368. TAFFOREAU P. et SMITH T.M. **2008** - Nondestructive imaging of hominoid dental microstructure using phase contrast X-ray synchrotron microtomography. *Journal of Human Evolution* 54(2):272-278.
369. TERSIGNI M.A. **2007** - Frozen human bone: a microscopic investigation. *Journal of forensic sciences* 52(1):16-20.
370. THOMAS C.D.L., FEIK S.A. et CLEMENT J.G. **2006** - Increase in pore area, and not pore density, is the main determinant in the development of porosity in human cortical bone. *Journal of anatomy* 209(2):219-230.
371. THOMPSON D. **1979** - The core technique in the determination of age at death in skeletons. *Journal of Forensic Science* 24(4):902-915.
372. THOMPSON D. et GUNNESS-HEY M. **1981** - Bone mineral-osteon analysis of Yupik-inupiaq skeletons. *American journal of physical anthropology* 55(1):1-7.
373. TOBE S.S. et LINACRE A. **2010** - DNA typing in wildlife crime: recent developments in species identification. *Forensic science, medicine, and pathology* 6(3):195-206.
374. TORRES-DEL-PLIEGO E., VILAPLANA L., GÜERRI-FERNÁNDEZ R. et DIEZ-PÉREZ A. **2013** - Measuring bone quality. *Current rheumatology reports* 15(11):373.
375. TORTORA G.J. et DERRICKSON B. **2017** - Manuel d'anatomie et de physiologie humaines, De Boeck Supérieur. 458 p.
376. TRINKAUS E., CHURCHILL S.E. et RUFF C.B. **1994** - Postcranial robusticity in Homo. II: Humeral bilateral asymmetry and bone plasticity. *American journal of physical anthropology* 93(1):1-34.
377. TURNER-WALKER G., NIELSEN-MARSH C., SYVERSEN U., KARS H. et COLLINS M. **2002** - Sub-micron spongiform porosity is the major ultra-structural alteration occurring in archaeological bone. *International Journal of Osteoarchaeology* 12(6):407-414.

378. UBELAKER D., LOWENSTEIN J. et HOOD D. **2004** - Use of Solid-Phase Double-Antibody Radioimmunoassay to Identify Species from Small Skeletal Fragments. *J Forensic Sci* 49(5):924-929.
379. UBELAKER D.H. **2009** - The forensic evaluation of burned skeletal remains: a synthesis. *Forensic science international* 183(1-3):1-5.
380. ULRICH D., VAN RIETBERGEN B., LAIB A. et RUEGSEGGER P. **1999** - The ability of three-dimensional structural indices to reflect mechanical aspects of trabecular bone. *Bone* 25(1):55-60.
381. URAL A. et VASHISHTH D. **2006** - Interactions between microstructural and geometrical adaptation in human cortical bone. *Journal of Orthopaedic Research* 24(7):1489-1498.
382. URBANOVÁ P. et NOVOTNÝ V. **2005** - Distinguishing between human and non-human bones: histometric method for forensic anthropology. *Anthropologie* 43(1):77-85.
383. VAN DOORN N.L. **2014** - Zooarchaeology by mass spectrometry (ZooMS). *Encyclopedia of global archaeology*. p 7998-8000.
384. VAN OERS R.F., RUIJMERMAN R., TANCK E., HILBERS P.A. et HUISKES R. **2008** - A unified theory for osteonal and hemi-osteonal remodeling. *Bone* 42(2):250-259.
385. VERZELETTI A., CORTELLINI V., CISANA S., PRETTO S., CERRI N. et DE FERRARI F. **2015** - Genetic approach for species identification: Forensic application of DNA barcoding. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 5:e576-e578.
386. VIEIRA O., COELHO D.B. et TEIXEIRA L.A. **2014** - Asymmetric balance control between legs for quiet but not for perturbed stance. *Experimental Brain Research* 232(10):3269-3276.
387. VIGNE J.-D., ZAZZO A., SALIÈGE J.-F., POPLIN F., GUILAINE J. et SIMMONS A. **2009** - Pre-Neolithic wild boar management and introduction to Cyprus more than 11,400 years ago. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(38):16135-16138.
388. VILLA C., FROHLICH B. et LYNNERUP N. **2019** - Chapter 7 - The Role of Imaging in Paleopathology. In: BUIKSTRA J.E. *Ortner's Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains (Third Edition)*. San Diego: Academic Press. p 169-182.
389. WALKER M.M., STREET E.M., PITFIELD R., MISZKIEWICZ J.J., BRENNAN-OLSEN S.L. et MAHONEY P. **2019** - Ancient human bone microstructure case studies from medieval England. *Bone Health: Springer*. p 35-52.
390. WALKER P.L., MILLER K.W. et RICHMAN R. **2008** - Time, temperature, and oxygen availability: an experimental study of the effects of environmental conditions on the color and organic content of cremated bone. *The analysis of burned human remains*: Elsevier. p 129-xi.
391. WALSH-HANEY H., FREAS L. et WARREN M. **2008** - The working forensic anthropology laboratory. In: WARREN M., WALSH-HANEY H. et FREAS L. *The Forensic Anthropology Laboratory*. New York: CRC Press. p 195–212.
392. WEDL C. **1864** - Ueber einen Zahnbein und Knochen keimenden *Sitzungsbericht der Mathematische Naturwissenschaftliche Classe der Kaiserliche Akademie der Wissenschaften Wien* 1(50):171-193.
393. WEINER S., TRAUB W. et WAGNER H.D. **1999** - Lamellar bone: structure-function relations. *J Struct Biol* 126(3):241-255.
394. WHITE T., BLACK M. et FOLKENS P. **2016** - *Traité d'ostéologie humaine*, De Boeck Superieur. 720 p.

395. WOJDA S.J., WEYLAND D.R., GRAY S.K., MCGEE-LAWRENCE M.E., DRUMMER T.D. et DONAHUE S.W. **2013** - Black Bears With Longer Disuse (Hibernation) Periods Have Lower Femoral Osteon Population Density and Greater Mineralization and Intracortical Porosity. *The Anatomical Record* 296(8):1148-1153.
396. YAMADA S., TADANO S. et FUJISAKI K. **2011** - Residual stress distribution in rabbit limb bones. *Journal of biomechanics* 44(7):1285-1290.
397. ZEBAZE R. et SEEMAN E. **2015** - Cortical Bone: A Challenging Geography. *Journal of Bone and Mineral Research* 30(1):24-29.
398. ZEDDA M., BRITSD., GIUA S. et FARINA V. **2019** - Distinguishing domestic pig femora and tibiae from wild boar through microscopic analyses. *Zoomorphology* 138(1):159-170.
399. ZEDDA M., LEPORE G., BIGGIO G.P., GADAU S., MURA E. et FARINA V. **2014** - Morphology, Morphometry and Spatial Distribution of Secondary Osteons in Equine Femur. *Anatomia, Histologia, Embryologia*:n/a-n/a.
400. ZEDDA M., LEPORE G., MANCA P., CHISU V. et FARINA V. **2008** - Comparative Bone Histology of Adult Horses (*Equus caballus*) and Cows (*Bos taurus*). *Anatomia, Histologia, Embryologia* 37(6):442-445.
401. ZEHBE R., HAIBEL A., RIESEMEIER H., GROSS U., KIRKPATRICK C.J., SCHUBERT H. et BROCHHAUSEN C. **2010** - Going beyond histology. Synchrotron micro-computed tomography as a methodology for biological tissue characterization: from tissue morphology to individual cells. *Journal of The Royal Society Interface* 7(42):49-59.
402. ZHAO F. et TANG X. **2007** - Preprocessing and postprocessing for skeleton-based fingerprint minutiae extraction. *Pattern Recognition* 40(4):1270-1281.
403. ZHOU S.-A. et BRAHME A. **2008** - Development of phase-contrast X-ray imaging techniques and potential medical applications. *Physica Medica: European Journal of Medical Physics* 24(3):129-148.
404. ZIMMERMANN E.A., KÖHNE T., BALE H.A., PANGANIBAN B., GLUDOVATZ B., ZUSTIN J., HAHN M., AMLING M., RITCHIE R.O. et BUSSE B. **2015** - Modifications to nano-and microstructural quality and the effects on mechanical integrity in Paget's disease of bone. *Journal of Bone and Mineral Research* 30(2):264-273.
405. ZOETIS T., TASSINARI M.S., BAGI C., WALTHALL K. et HURTT M.E. **2003** - Species comparison of postnatal bone growth and development. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology* 68(2):86-110.

## RÉSUMÉ

---

La distinction entre des restes humains et animaux ou entre différentes espèces animales est une étape fondamentale de l'identification de restes osseux retrouvés en contexte archéologique ou forensique. Cependant, l'état de fragmentation des ossements rend souvent difficile leur identification à l'œil nu. L'utilisation de critères d'identification plus précis est alors nécessaire. L'analyse du réseau canalaire de l'os cortical (RCC) apparaît discriminante car il s'organise différemment selon les espèces. Cette thèse a pour objectif la définition de paramètres du RCC permettant de déterminer l'espèce d'origine de fragments osseux à partir de l'analyse d'images 3D provenant d'os humains, de porc et de bœuf. Cette méthode non-invasive permet d'identifier 100% des individus humains, 86.2% des échantillons de porc et 79.51% des échantillons de bœuf. Elle se révèle prometteuse pour la distinction d'espèce, notamment en cas de spécimens rares ou fragiles.

## MOTS CLÉS

---

Distinction d'espèces, os cortical, réseau canalaire cortical,  $\mu$ CT, reconstruction 3D, fragments osseux.

## ABSTRACT

---

The distinction between human and animal remains or between different animal species is one of the most fundamental steps in the identification of bone remains discovered in archaeological and forensic contexts. Unfortunately, the frequent bone fragmentation makes this identification difficult only based on anatomical observation. The use of new identification criteria is then necessary. The analysis of the canal cortical network (CCN) appears discriminating as its organization varies among species. This Ph.D. dissertation aims to define CCN microstructural parameters allowing the determination of the species of origin of bone fragments based on the analysis of 3D images of bones from human, pig and cow. This non-invasive method results in the correct identification of 100% of the human individuals, 86.6% of pig samples and 79.51% of cow samples. It proved to be a promising method for species identification, appropriate for the study of fragile specimens.

## KEYWORDS

---

Species distinction, cortical bone, cortical bone canal network,  $\mu$ CT, 3D reconstruction, bone fragments.