



HAL
open science

Loi de Wolff et terrestrialisation : adaptation structure / fonction

Martial Plasse

► **To cite this version:**

Martial Plasse. Loi de Wolff et terrestrialisation : adaptation structure / fonction. Paléontologie. Sorbonne Université, 2019. Français. NNT : 2019SORUS303 . tel-03510380

HAL Id: tel-03510380

<https://theses.hal.science/tel-03510380>

Submitted on 4 Jan 2022

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.



Sorbonne Université

Ecole doctorale 227 : Science de la Nature et de l'Homme : Écologie et Évolution

UMR 7207 : Centre de Recherche en Paléontologie - Paris

Équipe 'FOSFO' Formes, Structures et Fonctions

Loi de Wolff et terrestrialisation : adaptation structure / fonction

Par Martial PLASSE

Thèse de doctorat de Paléontologie

Dirigée par Damien Germain & Quentin Grimal

Présentée et soutenue publiquement le 26 novembre 2019

Devant un jury composé de :

- **Sophie SANCHEZ**, Senior lecturer (Uppsala University) : Rapporteur
- **Jean-François GANGHOFFER**, Professeur (Université de Lorraine) : Rapporteur
- **Alexandra HOUSSAYE**, Chargée de Recherches (Muséum national d'Histoire naturelle) : Examineur
- **Jorge CUBO**, Professeur (Sorbonne Université) : Examineur
- **Pascal GODEFROIT**, Professeur (Institut royal des Sciences naturelles de Belgique) : Examineur
- **Christine CHAPPARD**, Chargée de Recherches (Université Paris Diderot) : Examineur
- **Damien GERMAIN**, Maître de conférences (Muséum national d'Histoire naturelle) : Co-directeur
- **Quentin GRIMAL**, Professeur (Sorbonne Université) : Co-directeur

Tout là-bas, au fin fond des tréfonds inexplorés et mal famés du bout du bras occidental de la Galaxie, traîne un petit soleil jaunâtre et minable.

En orbite autour de celui-ci, à la distance approximative de cent cinquante millions de kilomètres, se trouve une petite planète bleu-vert totalement négligeable dont les habitants – descendus du singe – sont primitifs au point de croire encore que les montres à quartz numériques sont plutôt une chouette idée.

Cette planète a – ou plutôt avait – un problème : la plupart de ses habitants étaient malheureux la plupart du temps.

Bien des solutions avaient été suggérées mais la plupart d'entre elles faisaient largement intervenir la mise en circulation de petits bouts de papier vert, chose curieuse puisque en définitive ce n'étaient pas les petits bouts de papier vert qui étaient malheureux.

Et donc le problème subsistait ; des tas de gens se sentaient minables et la plupart étaient effectivement misérables – y compris les possesseurs de montres à quartz numériques.

Un nombre croissant d'entre eux partageaient cette opinion selon laquelle leur plus grosse erreur aurait été dès le début de descendre des arbres. D'aucuns affirmaient que même avec les arbres, déjà... et qu'en définitive on aurait mieux fait de ne jamais quitter les océans.

Salut, et encore merci pour le poisson
(Le Guide du voyageur galactique, tome IV)
Douglas Adams, 1994

Remerciements

J'adresse tout d'abord mes remerciements à l'ensemble des personnes du Centre de Recherche en Paléontologie – Paris (CR2P) et à l'équipe Formes, Structures et Fonctions (FOSFO) pour m'avoir réservé un accueil aussi chaleureux. Mes remerciements vont également à tout le personnel du Laboratoire d'Imagerie Biomédicale (LIB), pour leur excellent accueil, pour m'avoir hébergé pendant ces trois années et pour m'avoir permis d'utiliser Apoline, qui travaillait lors de mes week-ends.

Je remercie bien évidemment mes directeurs de thèse : le paléontologue Damien pour l'aide qu'il m'a apporté depuis le début et le temps qu'il m'a toujours consacré, Quentin pour la patience dont il a fait preuve à mon égard, malgré une compréhension difficile au début à cause de nos différences linguistiques et de raisonnements.

Je remercie les membres du jury (Sophie Sanchez, Jean-François Ganghoffer, Alexandra Houssaye, Jorge Cubo, Pascal Godefroit et Christine Chappard) pour avoir accepté d'évaluer mon travail.

Un grand merci également à Eli pour son aide régulière et rapide lors de ce premier papier et qui aurait clairement pu être considéré comme mon troisième encadrant. Merci aussi à Jérémie pour son aide lors des analyses statistiques, malgré les chansons (beaucoup trop) fréquentes de Céline Dion.

Merci aussi aux différents chargés de collections : Salvador Bailon (anatomie comparée), Ronan Allain et Nour-Eddine Jalil (paléontologie), Laure Pierre-Huyet (reptiles et amphibiens). Merci également à Maïté Adam, Marta Bellato et Patricia Wils pour les acquisitions de spécimens (UMS 2700 2AD, AST-RX). Merci aussi à Florent Goussard pour son apport technique en segmentation.

Je remercie également tous les membres de l'équipe "Géosciences" du Palais de la découverte (Arnaud, Emmanuelle, Olivier, Vincent, Monica et Nathalie), pour m'avoir intégré dans leur équipe de médiation. Ces exposés et ces ateliers ont vraiment été des pauses de discussion au cours de ce doctorat... donc encore merci! Merci aussi à Anne-Sophie pour m'avoir permis de participer à deux livres de vulgarisation.

Un grand merci aussi à Nathalie Bardet et Eric Buffetaut, qui m'ont permis de découvrir le milieu de la recherche paléontologique en m'encadrant au cours de mes deux stages de Master.

Merci aussi à mes amis paléontologues du master à Poitiers, que j'ai rencontrés au cours de cette année difficile : Andréas, Antoine « Chaton », Eudes « Dodounet », Myriam et Sam le brave! Aux autres amis paléontologues parisiens et montpellierains : Caro, Damien « Pilip », Jules, Kevinou, Laura, Mick, Rémi.

Merci à ceux, qui m'ont supporté au cours de mon master S.E.P (et non sèp...) à Paris : Aurélie, Benjamin, Cédric, Cindy, Constance, Jean-Christophe, Romain et Valentin.

A tous ceux, que j'ai rencontrés au cours de mes diverses (mais pas assez nombreuses...) campagnes de fouilles : Aliénor, Audrey, Fabien, Hélène, Jocelyn, John, Joti, Julien, Léa, Lee, Paupau, Paquita, Sandra, Tony et Yohan.

Aux Stéphanois, que je ne vois malheureusement pas assez souvent : Aymeric, Elizabeth, Benjamin, Marie, Serge et Vanessa!

Je remercie bien évidemment les membres de la section Montagne Escalade de l'Union Sportive d'Ivry pour m'avoir accueilli, puis formé comme encadrant d'escalade, afin que je puisse traumatiser et martyriser les débutants, au cours d'échauffements probablement trop longs : la présidente Florence et ma conscience Romane, Jean-Marc, Cédric, Stela...

mais aussi, les encadrants et assimilés avec qui, j'ai fait beaucoup trop de week-ends jeux et titres : Mélo & Clément chevelu, Rémi (avec moins de cheveux), Jojo (je compte sur toi pour ta mission), Rohan, Rosa Chouquette, Clément le grand... Merci aussi à mes camarades alpinistes (Alice, Clothilde, Mathieu et Quentin) pour toutes ces aventures en Haute-Maurienne. Il est fort probable que j'aurais craqué, si je n'avais pas été inscrit dans ce club, donc encore un immense merci !

Je remercie les amies, qui ont eu l'ineffable courage de relire cette thèse dans son intégralité : Natacha qui m'a énormément soutenu moralement au cours de ces trois dernières années, même si l'archéologie c'est pas ~~vraiment une science~~ si mal... mais aussi Romane (et Pablo au passage) qui, en plus de relire ce manuscrit, s'est proposée pour organiser mon pot de thèse avec sa mère (j'espère qu'il y a du Margeriaz!).

Un grand merci à Alix et à Nathalie, qui m'ont aussi soutenu (ou supporté) au cours de cette thèse et qui m'ont encouragé à faire des pauses...

Je remercie également le clan des Semi-aquatiques : le crocodile Clarac (chargé... déchargé...), Thomas Chapeau ex-chancelier que j'ai harcelé de CielMonDoctorat et qui m'a fait découvrir la plus fabuleuse trilogie en 5 volumes "H2G2", Morgane qui fut une stagiaire plus que motivée voire acharnée et son inestimable *Ctrl + H*, Alfred le roux et Diane, ainsi que celles qui se sont affranchies du milieu terrestre avec leurs poulpies : Louise (toujours ouverte pour ses collègues) et Marjorie.

Merci aussi à ma famille, à mon frère, à mes parents qui m'ont toujours incité et encouragé à faire le métier que je voulais. L'ironie étant que mon père ne comprend pas ce que je fais et que ma mère préférerait que je ne voyage pas, alors que j'adore ça...

Enfin, je remercie aussi ma couleuvre Apophis, pour m'avoir appris à relativiser et pour m'avoir montré que des membres valides n'étaient pas si importants pour faire de l'escalade !

Table des matières

Introduction	1
1 Architecture trabéculaire et mode de vie : volumes d'intérêt dans les métaphyses humérales des reptiles non-aviens (Plasse et al. 2019)	9
2 Méthode d'estimation des charges articulaires : méthodologie	27
2.1 Introduction	27
2.1.1 La méthode des éléments finis	27
2.1.2 Propriétés mécaniques	28
2.1.3 La naissance de l'algorithme d'estimation des charges : hypothèse et objectif	29
2.1.4 Algorithme d'estimation des charges	30
2.1.5 Tests exploratoires sur des vertèbres de souris	31
2.1.6 Estimation des chargements articulaires à partir de têtes fémorales de mammifères	33
2.2 Historique des recherches liées à cette méthode	35
2.2.1 Christen et al. (2013a). Subject-specific bone loading estimation in the human distal radius	35
2.2.2 Christen et al. (2013b). Validation of a bone loading estimation algorithm for patient-specific bone remodelling simulations	37
2.2.3 Christen et al. (2014). Bone remodelling in humans is load-driven but not lazy	37
2.2.4 Christen et al. (2016). Voxel size dependency, reproducibility and sensitivity of an in vivo bone loading estimation algorithm	38
2.2.5 Synek & Pahr (2018). Plausibility and parameter sensitivity of micro-finite element-based joint load prediction at the proximal femur	38
2.2.6 Synek et al. (2019). Inverse remodelling algorithm identifies habitual manual activities of primates based on metacarpal bone architecture	41
2.2.7 Synthèse de la littérature	43
2.3 Description détaillée de la méthode	44
2.3.1 Segmentation	44
2.3.2 Discrétisation et conditions aux limites	44
2.3.3 Script matlab "surface.m"	45
2.3.4 Script python "Jarvis.py"	46
2.3.5 Script matlab "load_estimation.m"	47
2.4 Volumes d'intérêt	49
2.5 Tests exploratoires : Validation de l'algorithme et sensibilités de certains paramètres	52

2.5.1	Validation de la méthode : utilisation de modèles contrôlés sphériques	52
2.5.2	Influence des conditions aux limites de fixation	56
2.5.3	SED : Compartiment trabéculaire vs Enveloppe corticale vs Les deux	58
2.5.4	Nombre de cas de charges : 13, 26 ou 52 ?	72
2.5.5	Homogénéité des cas de charges	75
2.6	Conclusion : Avantages et limitations de la méthode	76
2.7	Références bibliographiques	79
3	Méthode d'estimation des charges articulaires : application aux têtes humérales de tortues	81
3.1	Introduction	81
3.2	Matériels et méthodes	84
3.2.1	Taxonomie	84
3.2.2	Locomotion	84
3.2.3	Génération des modèles d'éléments finis	86
3.3	Résultats	91
3.4	Discussion	96
3.4.1	Comparaison entre tortues actuelles	96
3.4.2	Inférence sur <i>Hylaeochelys</i>	98
3.4.3	Inférence sur <i>Trionyx stiriacus</i>	99
3.4.4	Limitations de l'étude	100
3.5	Conclusion	101
3.6	Références bibliographiques	101
	Conclusion et perspectives	104
	Conclusion	104
	Perspectives	106
	Méthode d'estimation des charges	106
	Taxons supplémentaires	106
	Références bibliographiques	107
A	Plasse et al. 2019 - Additional Files	109
B	Script matlab "surface.m"	124
C	Script python "Jarvis.py"	125
C.1	Importer les modules Python	125
C.2	Créer la boucle	125
C.3	Importer du fichier d'entrée	126
C.4	S'assurer de la connectivité	126
C.5	Générer un maillage d'éléments finis	127
C.6	Enregistrer la géométrie dans un fichier .vtu	127
C.7	Définir les matériaux	127
C.8	Créer une table des matériaux	127
C.9	Créer le modèle d'éléments finis	127
C.10	Créer les ensembles de nœuds et d'éléments	128
C.11	Conditions aux limites : fixations	128
C.12	Conditions aux limites : charge appliquée	129
C.13	Paramètres de post-traitement	130

C.14 Créer le fichier .n88model	130
C.15 Résoudre le modèle avec FAIM	130
C.16 Extraire les densités d'énergie de déformation	130
D Script matlab "load_estimation.m"	131
E Tests préliminaires avec <i>Tiliqua scincoides</i>	133
Résumé - Abstract	137

Introduction

L'os est un tissu capable de s'adapter à son environnement mécanique externe. Ce concept, nommé "adaptation fonctionnelle de l'os", a été décrit à l'origine par Wilhelm Roux (Roux 1885). Des analyses de la structure interne de l'os, c'est-à-dire de l'enveloppe corticale compacte et du compartiment trabéculaire spongieux trouvé sous les articulations, soutiennent cette idée (Kivell 2016, Figure 1). L'idée que l'os s'adapte à son environnement mécanique au cours de la vie et que les différences morphologiques peuvent être utilisées pour étudier les environnements mécaniques du passé est largement acceptée par les paléontologues et les archéologues (Ruff et al. 2006, Kivell 2016). Ce concept général de l'adaptation fonctionnelle de l'os est aussi souvent appelé "loi de Wolff".

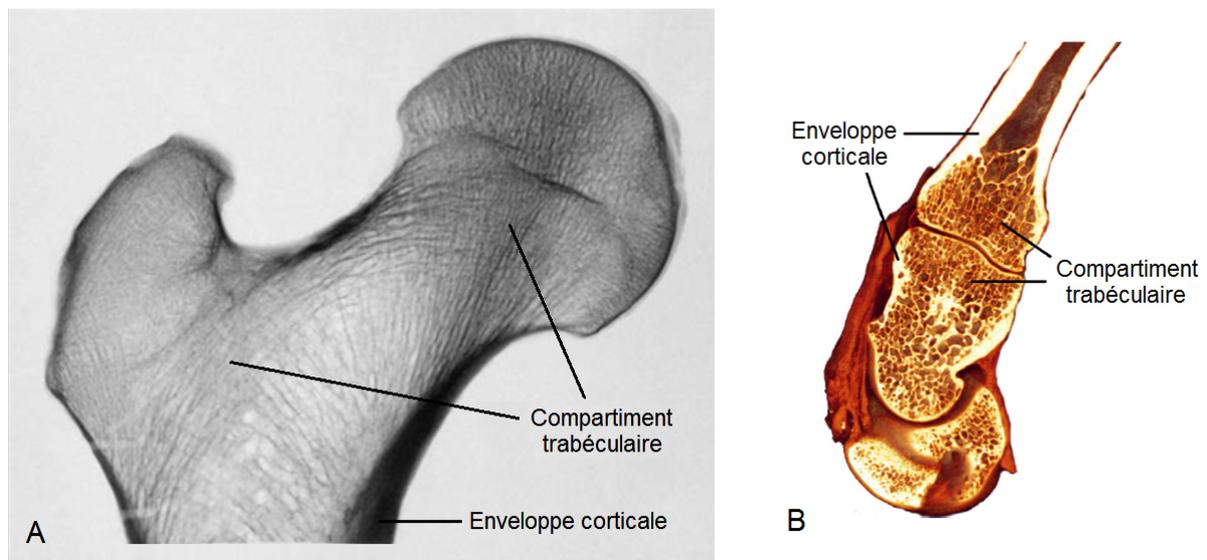


FIGURE 1 – Structure d'os cortical (externe) et trabéculaire (interne). A, coupe sagittale de fémur proximal humain (modifiée d'après Skedros & Baucom 2007). B, coupe sagittale d'une main de chimpanzée (modifiée d'après Kivell 2016).

En 1867, l'anatomiste Georg Hermann von Meyer a présenté un dessin montrant la structure d'os trabéculaire qu'il a observée dans une extrémité proximale de fémur. Peu de temps après, l'ingénieur Karl Culmann a été frappé par la similarité entre les croquis de von Meyer et les trajectoires de contraintes principales d'une grue courbée qu'il était en train de concevoir (von Meyer 1867, Cowin 2001, Figure 2). Toutefois, il n'existe aucune publication de Culmann sur l'adaptation fonctionnelle de l'os, bien qu'il ait publié un grand nombre d'articles en mécanique.

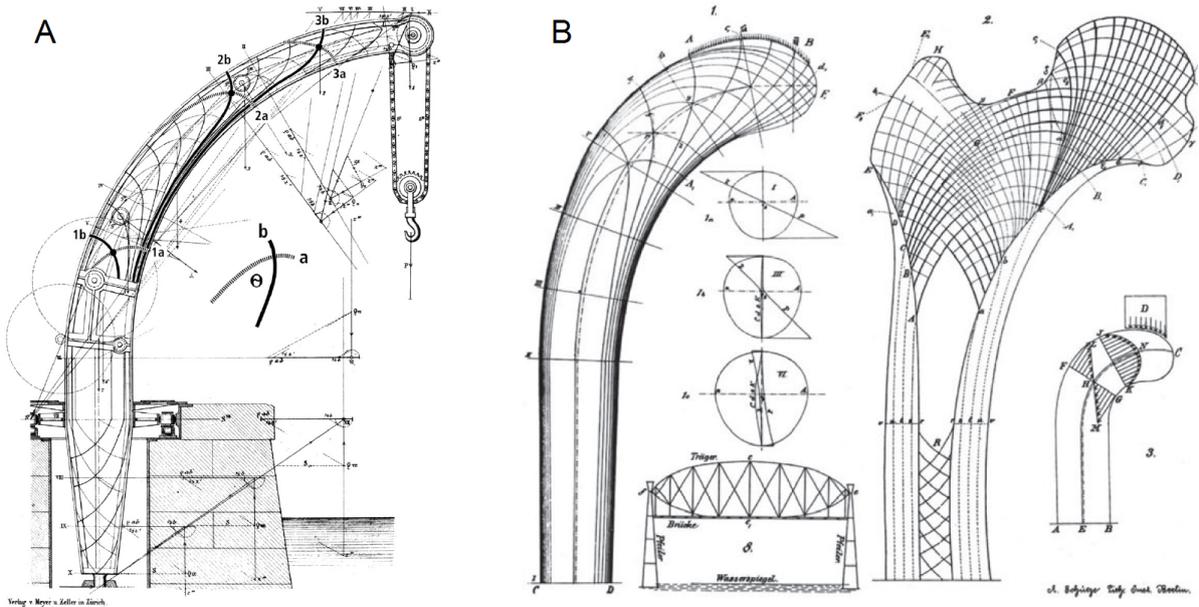


FIGURE 2 – A, illustration d’une grue de type Fairbairn par Culmann (1866). B, dessins de Culmann et von Meyer (von Meyer 1867), incluant les patrons de contraintes en traction et en compression de la poutre en porte-à-faux de Culmann (à gauche) et la similarité avec le patron trabéculaire d’un fémur proximal (à droite).

Julius Wolff n’est pas évoqué dans la création de ces dessins, dont il prendra connaissance par la suite et qu’il publiera en 1870 (Wolff 1870, Cowin 2001). En revanche, contrairement à Culmann, Wolff a été très efficace en matière de communication sur ce sujet et il a fourni un résumé honnête d’idées de son temps, provenant surtout d’autres chercheurs, à travers un grand nombre d’articles et un livre (Cowin 2001).

En réalité, Wolff avait quelque chose de beaucoup plus précis en tête, à savoir la formulation de règles mathématiques strictes gouvernant ce processus, en particulier en ce qui concerne le développement de l’orientation trabéculaire dans les os longs (Cowin 2001, Ruff et al. 2006). Il suggérait que la représentation de von Meyer était incorrecte (Figure 2), parce que les travées se croisent en angles obliques et que, selon lui, elles devraient se croiser en angles droits (Wolff 1892, Cowin 2001). A partir des observations de Culmann, il a présenté sa théorie selon laquelle chaque travée correspondait à une seule ligne de contrainte. En comparant l’architecture trabéculaire d’un os défini et les lignes de contrainte d’un objet homogène, isotropique et linéairement élastique de même forme, il supposait qu’il y ait une correspondance entre chaque ligne de contrainte et chaque travée si l’objet est chargé de la même façon que l’os (Cowin 2001).

Sa théorie admet que l’os est linéairement élastique, homogène et isotropique, alors que l’os trabéculaire n’est ni homogène, ni isotropique (Triepel 1922, Roesler 1987). De plus, il est impossible d’avoir une correspondance entre chaque ligne de contrainte et chaque travée, car il y a une infinité de lignes de contrainte et un nombre fini de travées (Triepel 1922). Enfin, les travées ne se croisent pas en angles droits (Murray 1936, Cowin 1997).

Cowin (2001) qualifie la comparaison visuelle entre les dessins de Culmann et von Meyer (Figure 2) d’ "illusion d’optique" entre deux choses incomparables. Beaucoup d’au-

teurs ont critiqué cette loi de Wolff dans sa forme mathématique (Murray 1936, Martin et al. 1998, Cowin 2001), contrairement à la théorie générale de l'adaptation fonctionnelle de l'os de Roux, qui est largement acceptée par la communauté scientifique. Il y a donc une confusion fréquente entre la loi de Wolff et la théorie générale de Roux, qui sont souvent utilisées comme synonymes. Certains auteurs recommandent donc tout simplement d'abandonner le terme "Loi de Wolff" et de garder uniquement l'expression "adaptation fonctionnelle de l'os" (Martin et al. 1998, Cowin 2001, Ruff et al. 2006). Cette thèse s'intéressera principalement à l'adaptation fonctionnelle de l'os (sensu Roux).

A l'intérieur des os, l'architecture trabéculaire est très sensible et malléable aux chargements externes (Kivell 2016). Au cours du modelage osseux, les ostéocytes intégrés dans la matrice osseuse agissent comme des capteurs de force et transmettent des signaux liés aux pressions, aux autres cellules (Huiskes et al. 2000). Ils recrutent des ostéoblastes, qui créent de l'os et des ostéoclastes, qui le résorbent, et ce processus mène à l'adaptation fonctionnelle de l'os (Gerhard et al. 2009, Martin et al. 2015).

Beaucoup d'études ont tenté de trouver des liens entre l'architecture trabéculaire et le comportement locomoteur. En analysant les travées des têtes fémorales de primates, certaines études ont pu détecter des différences selon le comportement locomoteur (Ryan & Ketcham 2002a, Ryan & Shaw 2012, 2014). Mais ce lien n'est pas toujours évident et d'autres analyses ont révélé des structures trabéculaires similaires pour des comportements locomoteurs différents (Fajardo et al. 2007, Ryan & Walker 2010). Cependant, des comportements locomoteurs ont pu être inférés chez des primates fossiles à partir d'architectures trabéculaires issues de primates actuels (Ryan & Ketcham 2002b, Barak et al. 2013).

Contrairement au comportement locomoteur, la relation entre l'architecture trabéculaire et le mode de vie des vertébrés a été très peu explorée. Dans cette thèse, on entendra par "mode de vie", l'environnement où l'animal vit habituellement (par exemple : aquatique, amphibie, terrestre...). Plusieurs modes de vie peuvent englober un même comportement locomoteur et vice versa. Par exemple, une espèce quadrupède peut arborer plusieurs modes de vie : sur terre (terrestre), dans des galeries souterraines (fouisseur), dans les arbres (grimpeur) ou aux fonds des lacs (amphibie/aquatique). Les rares articles, ayant étudié ce lien entre mode de vie et architecture trabéculaire, ont focalisé leurs analyses sur des groupes de mammifères exclusivement terrestres au sens large : primates (Fajardo & Müller 2001, Ryan & Shaw 2012), sciuriformes (Mielke et al. 2018) et xé-narthres (Amson et al. 2017, Amson & Nyakatura 2018). Cette relation n'a jamais été analysée au sein de tétrapodes non-mammaliens et entre des espèces aquatiques, amphibiens et terrestres.

La terrestrialisation est une étape évolutive importante, qui représente le passage du milieu aquatique au milieu terrestre. Celle des vertébrés a eu lieu au Dévonien moyen-supérieur, il y a 385 à 365 millions d'années (Ahlberg & Clack 2006, Figure 3). Au cours de cette transition, plusieurs transformations se sont produites, dont celles des articulations et des os au niveau des membres, modifiant en conséquence la locomotion des premiers tétrapodes : le terme "tétrapode" sera utilisé dans cette thèse dans son sens traditionnel, c'est-à-dire, "vertébré portant des membres avec des doigts, plutôt que des nageoires paires" (Ahlberg 2019). L'un des premiers tétrapodes, *Ichthyostega*, a été représenté de différentes façons depuis sa découverte. Interprété à l'origine comme étant un animal terrestre capable de porter son poids avec ses membres, il est maintenant supposé plus

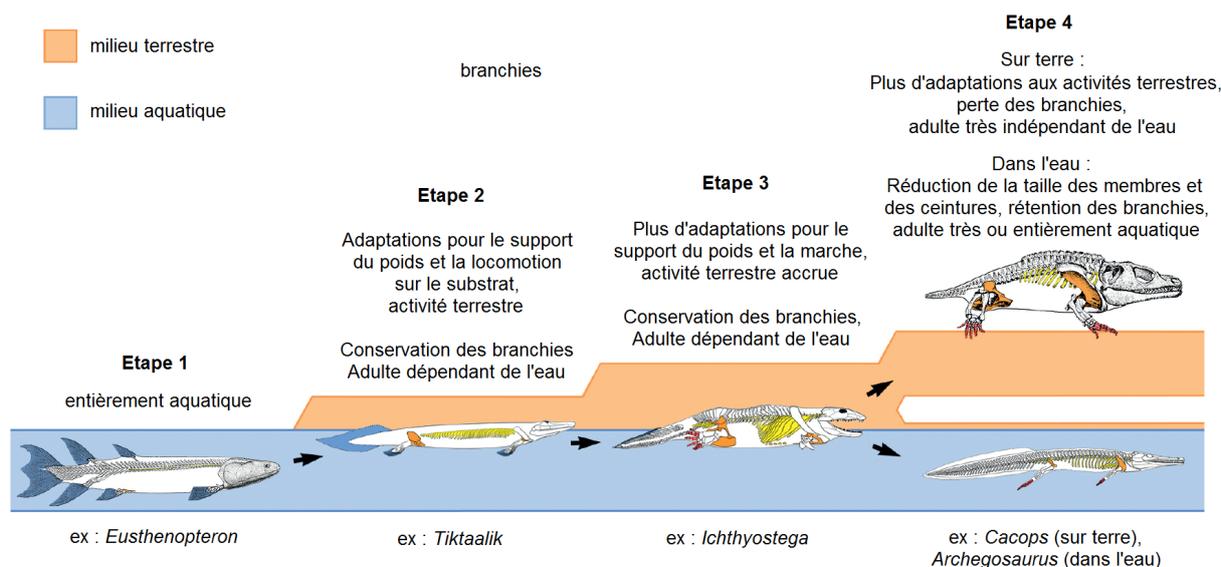


FIGURE 3 – Représentation de la succession des étapes au cours de la terrestrialisation (modifiée d’après Ahlberg 2019).

aquatique avec un déplacement possible sur la terre plus proche de celui d’un phoque (Pierce et al. 2012).

Alors que la terrestrialisation serait un événement unique chez les tétrapodes, le retour au milieu aquatique s’est produit de nombreuses fois chez différentes lignées de vertébrés (par exemple : cétacés, crocodiles, serpents, tortues, plusieurs reptiles marins fossiles...), en s’accompagnant de modifications micro-anatomiques propres à l’intérieur de leurs os (Houssaye et al. 2016, Ahlberg 2019).

L’objectif de cette thèse est de rechercher des relations entre les architectures trabéculaires des vertébrés et leurs modes de vie. A posteriori, ces analyses pourront aider à préciser les modes de vie des vertébrés fossiles, qui ont mené à la terrestrialisation, mais aussi ceux des tétrapodes qui sont retournés au milieu aquatique.

Cette thèse se focalisera uniquement sur l’humérus pour les raisons suivantes. Chez plusieurs groupes de tétrapodes, le membre postérieur est complètement réduit, comme par exemple chez les cétacés actuels ou chez *Bipes biperus* (Amphisbaenia) ; le membre antérieur, en revanche, est plus souvent conservé. De plus, il a été supposé qu’au cours de la terrestrialisation, le membre antérieur a été le premier à être utilisé dans un rôle locomoteur, comme c’est le cas chez *Ichthyostega* (Pierce et al. 2012). Le membre postérieur aurait obtenu cette fonction plus tard dans l’évolution des tétrapodes.

Grâce au développement de la microtomographie à rayons X, l’architecture trabéculaire peut maintenant être étudiée en trois dimensions. De plus, il s’agit d’une technique non destructive, permettant ensuite de pouvoir conserver les os ou les fossiles contrairement à d’autres méthodes. Les humérus échantillonnés ont été scannés en utilisant ce procédé grâce au plateau technique AST-RX (Accès Scientifique à la Tomographie à Rayons X, UMS 2700 Acquisition et Analyse de Données pour l’Histoire naturelle) au Muséum national d’Histoire naturelle.

L'échantillonnage étudié au cours de cette thèse sera composé uniquement de reptiles non-aviens : crocodiles (Crocodylia), "lézards" (Squamata) et tortues (Testudines). Chez ces différents groupes, on trouve des espèces actuelles et fossiles qui montrent les trois modes de vie d'intérêt (aquatique, amphibie et terrestre). De plus, ces groupes ont une posture terrestre avec des membres transversaux, c'est-à-dire qu'ils se trouvent sur les côtés du corps et cette position serait proche de celle des premiers tétrapodes (Russell & Bels 2001).

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour analyser le compartiment trabéculaire à partir d'images, provenant de scans d'os actuels et fossiles. Traditionnellement, l'étude des travées s'effectue selon une approche statistique. Dans un premier temps, plusieurs volumes d'intérêt sphériques ou cubiques sont extraits à partir de ces images. Puis, grâce à des logiciels de traitement d'images comme Fiji, différents paramètres trabéculaires y sont mesurés : épaisseur et longueur des travées, degré d'anisotropie, fraction volumique osseuse... Dans un second temps, ces paramètres sont comparés entre les spécimens, selon la problématique associée. Cette méthode traite uniquement une partie de l'os interne, sans tenir compte de la forme globale de l'os.

D'autres méthodes traitent de l'architecture trabéculaire et prennent également en considération la forme globale de l'os. Christen et al. (2012, 2015) ont développé une nouvelle approche capable d'estimer les chargements articulaires, à partir de modèles d'éléments finis basés sur des micro-structures osseuses interne et externe. Cependant, cette technique n'a été testée sur aucun tétrapode non-mammaliens, comme par exemple, les tortues, qui arborent d'autres formes d'articulation, et elle n'a jamais été appliquée sur des problématiques en paléontologie.

Dans le premier chapitre, la relation statistique entre l'architecture trabéculaire et le mode de vie sera étudiée chez les trois groupes de reptiles. Pour cela, des volumes d'intérêt sphériques ont été extraits à l'intérieur des humérus proximaux. Différents paramètres trabéculaires ont été analysés et comparés entre les modes de vie. Des informations concernant les allométries des travées et leurs signaux phylogénétiques (liés aux relations de parenté entre espèces) ont été également obtenues. Ces résultats ont pu être comparés avec ceux provenant d'autres groupes de tétrapodes, essentiellement mammaliens. L'ensemble de ces données a fait l'objet d'un article dans la revue *Journal of Morphology*.

Dans les deuxième et troisième chapitres, la relation entre l'architecture trabéculaire et les chargements externes sera étudiée selon une démarche mécanistique, dans laquelle la physique sera prise en compte. Les approches statistique et mécanistique sont deux moyens différents, mais complémentaires pour analyser l'adaptation fonctionnelle de l'os.

Dans le deuxième chapitre, l'accent sera porté sur une méthode capable d'estimer les chargements articulaires, à partir de modèles d'éléments finis, provenant de diverses micro-structures osseuses. Étant donné que l'os s'adapte aux chargements externes, auxquels il est soumis, il semble possible de retrouver ces chargements à partir d'une micro-structure osseuse donnée. Ici, cette technique prend en considération toute la forme de l'articulation : le compartiment trabéculaire et l'enveloppe corticale. Cette méthode a été traduite sous la forme d'un algorithme au cours de cette thèse et les différents programmes créés sont disponibles en annexes. Cette approche sera décrite en détail et certains paramètres, tels que les conditions limites de fixation et les cas de charge, seront analysés à travers des tests exploratoires.

Enfin, dans le troisième chapitre, cette méthodologie précédemment développée sera utilisée sur des modèles, provenant de spécimens de collections anatomiques. Ici, quatre tortues actuelles (avec deux locomotions différentes) et deux tortues fossiles (avec des locomotions inconnues) seront étudiées. Les chargements articulaires des tortues actuelles seront déterminés et comparés. Finalement, la locomotion des tortues fossiles sera inférée, à partir de leurs chargements articulaires estimés.

Références bibliographiques

Ahlberg, P. E. (2019). Follow the footprints and mind the gaps : a new look at the origin of tetrapods. *Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 109(1-2), 115-137.

Ahlberg, P. E., & Clack, J. A. (2006). Palaeontology : a firm step from water to land. *Nature*, 440(7085), 747.

Amson, E., Arnold, P., van Heteren, A. H., Canoville, A., & Nyakatura, J. A. (2017). Trabecular architecture in the forelimb epiphyses of extant xenarthrans (Mammalia). *Frontiers in Zoology*, 14(1), 52.

Amson, E. & Nyakatura, J.A., (2018). Palaeobiological inferences based on long bone epiphyseal and diaphyseal structure - The forelimb of xenarthrans (Mammalia). *bioRxiv*, 318121, ver. 5. DOI : <https://doi.org/10.1101/318121>

Barak, M. M., Lieberman, D. E., Raichlen, D., Pontzer, H., Warrener, A. G., & Hublin, J. J. (2013). Trabecular evidence for a human-like gait in *Australopithecus africanus*. *PLoS One*, 8(11), e77687.

Christen, P., van Rietbergen, B., Lambers, F. M., Müller, R., & Ito, K. (2012). Bone morphology allows estimation of loading history in a murine model of bone adaptation. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 11(3-4), 483-492.

Christen, P., Ito, K., Galis, F., & van Rietbergen, B. (2015). Determination of hip-joint loading patterns of living and extinct mammals using an inverse Wolff's law approach. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 14(2), 427-432.

Cowin, S. C. (1997). The false premise of Wolff's law of trabecular architecture, *FORMA*, 12, 247-262.

Cowin, S. C. (2001). The false premise in Wolff's law. In : SC Cowin, editor. *Bone mechanics handbook*, 2nd ed. Boca Raton : CRC Press. p 30-1-32-5.

Culmann, K. (1866). *Die Graphische Statik*. Verlag Von Meyer & Zeller, Zurich, Switzerland, p. 633.

Fajardo, R. J., & Müller, R. (2001). Three-dimensional analysis of nonhuman primate trabecular architecture using micro-computed tomography. *American Journal of Physical Anthropology : The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists*, 115(4), 327-336.

Fajardo, R. J., Müller, R., Ketcham, R. A., & Colbert, M. (2007). Nonhuman anthropoid primate femoral neck trabecular architecture and its relationship to locomotor mode. *The Anatomical Record*, 290(4), 422-436.

Gerhard, F. A., Webster, D. J., Van Lenthe, G. H., & Müller, R. (2009). In silico biology of bone modelling and remodelling : Adaptation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367(1895), 2011-2030.

Houssaye, A., Sander, M., & Klein, N. (2016). Adaptive patterns in aquatic amniote bone microanatomy—more complex than previously thought. *Integrative and comparative biology*, 56(6), 1349–1369.

Huiskes, R., Ruimerman, R., Van Lenthe, G. H., & Janssen, J. D. (2000). Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone. *Nature*, 405(6787), 704–706.

Kivell, T. L. (2016). A review of trabecular bone functional adaptation : what have we learned from trabecular analyses in extant hominoids and what can we apply to fossils?. *Journal of Anatomy*, 228(4), 569–594.

Martin, R. B., Burr, D. B., Sharkey, N. A., & Fyhrie, D. P. (2015). Growth, modeling and remodeling of bone. In *Skeletal tissue mechanics* (pp. 95–173). New York : Springer, New York.

von Meyer, G. H. (1867) . Die Architektur der Spongiosa, *Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med. Reichert DuBois-Reymonds Arch.*, 34, 615–628.

Martin, R. B., Burr, D.B., & Sharkey, N.A. (1998). *Skeletal tissue mechanics*. New York : Springer.

Mielke, M., Wölfer, J., Arnold, P., van Heteren, A. H., Amson, E., & Nyakatura, J. A. (2018). Trabecular architecture in the sciuriform femoral head : Allometry and functional adaptation. *Zoological Letters*, 4(1), 10.

Murray, P. D. F. (1936). *Bones-A Study of the Development and Structure of the Vertebrate Skeleton*, Cambridge University Press, Cambridge.

Pierce, S. E., Clack, J. A., & Hutchinson, J. R. (2012). Three-dimensional limb joint mobility in the early tetrapod *Ichthyostega*. *Nature*, 486 (7404), 523–526.

Roesler, H. (1987). The history of some fundamental concepts in bone biomechanics. *J. Biomech.*, 20, 1025–1034.

Roux, W. (1885). Beitrage zur Morphologie der funktionellen Anpassung. *Archives of Anatomy and Physiology*, 9, 120–185.

Ruff, C., Holt, B., & Trinkaus, E. (2006). Who’s afraid of the big bad Wolff? : “Wolff’s law” and bone functional adaptation. *American Journal of Physical Anthropology : The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists*, 129(4), 484–498.

Russell, A. P., & Bels, V. (2001). Biomechanics and kinematics of limb-based locomotion in lizards : Review, synthesis and prospectus. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Molecular & Integrative Physiology*, 131(1), 89–112.

Ryan, T. M., & Ketcham, R. A. (2002a). The three-dimensional structure of trabecular bone in the femoral head of strepsirrhine primates. *Journal of Human Evolution*, 43(1), 1–26.

Ryan, T. M., & Ketcham, R. A. (2002b). Femoral head trabecular bone structure in two omomyid primates. *Journal of Human Evolution*, 43(2), 241–263.

Ryan, T. M., & 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.

Ryan, T. M., & Shaw, C. N. (2014). Gracility of the modern *Homo sapiens* skeleton is the result of decreased biomechanical loading. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(2), 372–377.

Ryan, T. M., & Walker, A. (2010). Trabecular bone structure in the humeral and femoral heads of anthropoid primates. *The Anatomical Record*, 293 (4), 719–729.

Skedros, J. G., & Baucom, S. L. (2007). Mathematical analysis of trabecular ‘trajec-

tories' in apparent trajectorial structures : the unfortunate historical emphasis on the human proximal femur. *Journal of theoretical biology*, 244(1), 15-45.

Triepel, H. (1922). *Die Architekturen der menschlichen Knochenspongiosa*, Verlag der J. F. Bergmann, Munich.

Wolff, J. (1870). Über die innere Architektur der Knochen und ihre Bedeutung für die Frage vom Knochenwachstum, *Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med. (Virchow's Arch.)*, 50, 389-453.

Wolff, J. (1892). *Das Gesetz der Transformation der Knochen*. Berlin : A. Hirschwald.

Chapitre 1

Architecture trabéculaire et mode de vie : volumes d'intérêt dans les métaphyses humérales des reptiles non-aviens (Plasse et al. 2019)

Ce chapitre traite de la relation entre l'architecture trabéculaire et le mode de vie chez trois groupes de reptiles actuels (crocodiles, "lézards" et tortues). Des volumes d'intérêt sphériques ont été extraits à l'intérieur des humérus proximaux. Douze paramètres trabéculaires (épaisseur, longueur, fraction volumique osseuse...) ont été calculés et comparés entre les modes de vie. L'hypothèse suivante est également avancée : les espèces terrestres auraient une orientation préférentielle des travées, plus que celles qui sont amphibiennes et davantage que les aquatiques. Des informations concernant les allométries des travées et leurs signaux phylogénétiques (liés aux relations de parenté entre espèces) ont été également obtenues.

Toutes ces données ont été publiées dans l'article suivant :

Plasse, M., Amson, E., Bardin, J., Grimal, Q., & Germain, D. (2019). Trabecular architecture in the humeral metaphyses of non-avian reptiles (Crocodylia, Squamata and Testudines) : Lifestyle, allometry and phylogeny. *Journal of Morphology*, 280, 982-998.

Trabecular architecture in the humeral metaphyses of non-avian reptiles (Crocodylia, Squamata and Testudines): Lifestyle, allometry and phylogeny

Martial Plasse^{1,2}  | Eli Amson³ | Jérémie Bardin⁴ | Quentin Grimal² | Damien Germain¹

¹Muséum national d'Histoire naturelle, UMR 7207 – CR2P-CNRS-MNHN-Sorbonne Université, Paris, France

²INSERM UMR S 1146, CNRS UMR 7371, Laboratoire d'Imagerie Biomédicale, Sorbonne Université, Paris, France

³Museum für Naturkunde, Leibniz-Institut für Evolutions- und Biodiversitätsforschung, Berlin, Germany

⁴UMR 7207 – CR2P-CNRS-MNHN- Sorbonne Université, Université Pierre et Marie Curie, Paris Cedex 05, France

Correspondence

Martial Plasse, UMR 7207 – CR2P-CNRS-MNHN-Sorbonne Université, Muséum national d'Histoire naturelle, 43 rue Buffon, 75005 Paris, France.
Email: martial.plasse@mnhn.fr

Funding information

Muséum National d'Histoire Naturelle; Université Pierre et Marie Curie; German Research Council

Abstract

The lifestyle of extinct tetrapods is often difficult to assess when clear morphological adaptations such as swimming paddles are absent. According to the hypothesis of bone functional adaptation, the architecture of trabecular bone adapts sensitively to physiological loadings. Previous studies have already shown a clear relation between trabecular architecture and locomotor behavior, mainly in mammals and birds. However, a link between trabecular architecture and lifestyle has rarely been examined. Here, we analyzed trabecular architecture of different clades of reptiles characterized by a wide range of lifestyles (aquatic, amphibious, generalist terrestrial, fossorial, and climbing). Humeri of squamates, turtles, and crocodylians have been scanned with microcomputed tomography. We selected spherical volumes of interest centered in the proximal metaphyses and measured trabecular spacing, thickness and number, degree of anisotropy, average branch length, bone volume fraction, bone surface density, and connectivity density. Only bone volume fraction showed a significant phylogenetic signal and its significant difference between squamates and other reptiles could be linked to their physiologies. We found negative allometric relationships for trabecular thickness and spacing, positive allometries for connectivity density and trabecular number and no dependence with size for degree of anisotropy and bone volume fraction. The different lifestyles are well separated in the morphological space using linear discriminant analyses, but a cross-validation procedure indicated a limited predictive ability of the model. The trabecular bone anisotropy has shown a gradient in turtles and in squamates: higher values in amphibious than terrestrial taxa. These allometric scalings, previously emphasized in mammals and birds, seem to be valid for all amniotes. Discriminant analysis has offered, to some extent, a distinction of lifestyles, which however remains difficult to strictly discriminate. Trabecular architecture seems to be a promising tool to infer lifestyle of extinct tetrapods, especially those involved in the terrestrialization.

KEYWORDS

bone functional adaptation, bone volume fraction, degree of anisotropy, epiphysation, histology

1 | INTRODUCTION

Bone is a tissue able to adapt to its external mechanical environment. This seminal insight, commonly referred to as “bone functional adaptation,” has been originally described by Wilhelm Roux (Roux, 1885). Within the bones, trabecular architecture is more responsive and malleable to external loads (for a review see Cowin, 1998, Kivell, 2016). During bone modeling, osteocytes embedded in the bone matrix act as mechano-sensors and send strain-related signals to other cells (Huiskes, Ruimerman, Van Lenthe, & Janssen, 2000). They recruit osteoblasts, which create bone, and osteoclasts, which resorb bone (Gerhard, Webster, Van Lenthe, & Müller, 2009), processes which result in bone functional adaptation (Martin, Burr, Sharkey, & Fyhrie, 2015).

A change of loading regimes on bone can modify the trabecular architecture. Many experimental studies support this hypothesis. For instance, macaques trained to walk bipedally have shown significantly different shape of femur and ilium than wild (quadrupedal) ones (Volpato, Viola, Nakatsukasa, Bondioli, & Macchiarelli, 2008). Therefore, different locomotor behaviors may leave different signatures inside bones. Indeed, in the above-cited bipedally trained macaque, the trabecular architecture of the iliac body became more anisotropic, thicker, and more structured vertically oriented (Volpato et al., 2008). In the same way, sheep exercised daily to trot on inclined treadmills have developed thicker trabeculae with a higher bone volume fraction in their distal radius (Barak, Lieberman, & Hublin, 2011). A similar adaptation in trabecular architecture has been shown in rabbits by the application of in vivo cyclic loading on the hind limbs (van der Meulen et al., 2006).

Many studies have attempted to test for correlations between trabecular architecture and locomotor behavior. In primates, trabecular architecture can be different in the femoral head according to the locomotor behavior: between leaping and nonleaping strepsirrhines (Ryan & Ketcham, 2002a), among locomotor behaviors (quadruped, climber, biped, quadrumanous, brachiator) of anthropoids (Ryan & Shaw, 2012), between hunter-gatherer populations and agricultural societies (Ryan & Shaw, 2014). In contrast, other studies found that trabecular structures are highly similar among the proximal femoral necks of anthropoid locomotor behaviors, but also between their humeral and femoral head (Fajardo, Müller, Ketcham, & Colbert, 2007; Ryan & Walker, 2010). Other studies, focused on extant primates, have attempted to infer the locomotor behavior of extinct primates, for example, omomyids (Ryan & Ketcham, 2002b) or *Australopithecus* (Barak et al., 2013).

Lifestyle represents the environment where the animal usually lives (e.g., terrestrial, fossorial, climber, aquatic or amphibious). Many lifestyles can be encompassed by a same locomotor behavior and vice versa. For instance, species walking quadrupedally can have various lifestyles such as on land (terrestrial), underground (fossorial), in trees (climber) or at the bottom of lakes (aquatic/amphibious). In contrast to locomotor behavior, the link between trabecular architecture and lifestyle has been little studied and research in this field is scarce. In an

analysis focused on the humeral and femoral head of four primates species, terrestrial taxa have shown more anisotropic trabecular architecture in comparison to arboreal ones (Fajardo & Müller, 2001). In another broader study on anthropoid primates, trabecular architecture from the humeral and femoral heads was found to be similar in arboreal and terrestrial locomotor groups (Ryan & Shaw, 2012). In a study focused on the fore limb epiphyses of xenarthrans, trabeculae have shown the clearest functional signal through their anisotropy: armadillos, fully terrestrial and fossorial, have the most anisotropic trabecular architecture in xenarthrans (Amson, Arnold, van Heteren, Canoville, & Nyakatura, 2017). In a study focused on the sciuriform femoral head, four trabecular parameters have shown functional signals related to the various lifestyles found in this clade (Mielke et al., 2018).

Thanks to the development of X-ray computed microtomography, 3D trabecular architecture could be extensively studied in birds (e.g., Bishop et al., 2018; Doube, Kłosowski, Wiktorowicz-Conroy, Hutchinson, & Shefelbine, 2011; Fajardo, Hernandez, & O'Connor, 2007; Pontzer et al., 2006) and mammals (e.g., many orders [Doube et al., 2011], bovids [Mittra, Rubin, & Qin, 2005, Sode, Burghardt, Nissenson, & Majumdar, 2008], lagomorphs [Marchand, Chen, Buschmann, & Hoemann, 2011, van der Meulen et al., 2006], primates [Barak, Lieberman, Raichlen, et al., 2013, Cunningham & Black, 2009, Kivell, Skinner, Lazenby, & Hublin, 2011, Lazenby, Skinner, Kivell, & Hublin, 2011, Sode et al., 2008], rodents [Carlson, Lublinsky, & Judex, 2008, Lambers et al., 2013, Sode et al., 2008], sciuriforms [Mielke et al., 2018], suids [Ben-Zvi, Reznikov, Shaha, & Weiner, 2017], and xenarthrans [Amson et al., 2017]). In comparison, 3D trabecular architecture of nonavian reptiles has received little attention. The extensive sampling of Doube et al. (2011) includes a single femur of *Crocodylus niloticus*. Recently, another study focused on the trabeculae of avian hind limb bones (femur, tibia, tibiotarsus, and fibula) to infer dinosaurian locomotion and these observations were compared to those made on crocodylians and lizards, that is, two species of *Crocodylus* and three of *Varanus* (Bishop et al., 2018). One should note that the latter study only analyzed trabecular direction. Thus, few data exist about taxa using a sprawling posture.

The purpose of this article is to highlight relations between humeral trabecular architecture and lifestyle within various clades of reptiles (Crocodylia, Squamata, and Testudines). These groups exhibit a broad variability of lifestyles: aquatic, amphibious, generalist terrestrial, fossorial, or climbing. According to the paradigm of the bone functional adaptation, we predict: a terrestrial tetrapod will show trabeculae with a well-marked main orientation (mainly subject to gravity), while an aquatic tetrapod will show a more isotropic trabecular architecture (the gravity effect being strongly decreased). For an amphibious tetrapod, we expect its trabecular structure to be intermediate in that regard. A similar interpretation has allowed the inference that the stem-tetrapod *Ossinodus* spent considerable time on land, on the basis of essentially parallel trabeculae in its radius (Bishop et al., 2015). Our expectations are herein tested in statistical framework taking into account both allometric and phylogenetic effects.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 | Specimens and functional categories

The humerus was selected for this study for several reasons. While the hind limb has been completely reduced in various taxa, for example, in *Bipes biporus* (Amphisbaenia), the fore limb is more commonly retained. Also, during tetrapod evolution, the fore limb is hypothesized to have been the first to gain a role in land/substrate locomotion, as suggested for *Ichthyostega* (Pierce, Clack, & Hutchinson, 2012). The hind limb exapted only later in the evolution of the clade to walk on land. We sampled 10 squamates, eight turtles and two crocodylians (Table 1). Ideally, we tried to encompass most of the reptilian diversity choosing one specimen per family among the most disparate ones (except for the two species of the genus *Varanus*). All sampled specimens of squamates still possess an epiphyseal plate, except for *Tiliqua*, which ended its growth. Turtles and crocodylians do not develop epiphyseal plates. The specimen MNHN-ZA-AC-1889-384, from Gabon, belongs to the species *Trionyx cryptopus*, which is not valid anymore. It could be *Cyclanorbis senegalensis* (= *Cryptopus senegalensis* Dumeril & Bibron, 1835), which is not reported in Gabon for the moment (S. Bailon, pers. comm.).

We selected species in order to cover a broad spectrum of lifestyles: aquatic, amphibious, generalist terrestrial, fossorial and climber. Lifestyle is difficult to assess, because it is a somewhat continuous variable. We defined as terrestrial a species that generally lives on the ground, although it might be able to occasionally dig underground or climb. A climbing species will be found most of the time on plants (arboreal) or on rocks (saxicolous). A fossorial species is able to dig burrows with claws or with the head. An amphibious species spends a considerable amount of time both on the ground and in the water. An aquatic species spends most its time in water and can show special aquatic adaptations such as swimming paddles. Lifestyle for each taxon with associated bibliographic references is given in Table 1. Within reptiles, similar lifestyles have been acquired many times independently (Figure 1). Squamates are mainly terrestrial, but fossorial and climbing lifestyles appear to have been convergently acquired on several instances (see Figure 1). *Amblyrhynchus* is the only sampled amphibious taxon among extant squamates. Sampled crocodylians are only amphibious. Testudines are mainly amphibious, but the aquatic lifestyle was convergently acquired in *Chelus* and *Caretta*. *Centrochelys* is the only fossorial turtle in our sampling. Therefore, the sampled phylogeny and lifestyles do not perfectly correlate. Nevertheless, a two-block partial least squares analysis (Adams & Collyer, 2018) suggests that the lifestyles groups are aggregated on the phylogeny (Figure 1) to some extent (r-PLS: 0.7224; *p*-value: .0162, see script in Supporting Information, file 1).

In addition to lifestyles, we also took into account locomotor postures (and associated bibliographic references, Table 1), which have already been correlated to the trabecular architecture. Extant tetrapods show two main types of limb posture: a “sprawling” posture in salamanders and lizards, in which the limbs project laterally from the body and an “erect” posture in mammals and birds, in which the limbs

are held under the body (Russell & Bels, 2001). Extant crocodylians are generally defined as semi-erect with the body held halfway between the positions of the two other limbs postures (Reilly & Elias, 1998). Squamates can show two “sprawling” postures: a “belly-dragging” sprawling posture (e.g., *Tiliqua scincoides*) in which the animal's weight partially rests on the trunk with a direct contact to the substrate or a “raised” sprawling posture (e.g., *Iguana iguana*) without ventral trunk-ground contact and in which the shoulder/hip and elbow/knee joints bear the animal's weight (Nyakatura et al., 2014). We also noted when the species is able to practice bipedalism, either involved in an escape behavior (e.g., *Basiliscus*) or in defensive posturing (e.g., many species of *Varanus*). In turtles, we distinguished two groups according to the locomotor preference: the “bottom-walkers” and the “good swimmers.” Thus, inside the same locomotor behavior (e.g., quadrupedal locomotor behavior), many locomotor postures can be observed among tetrapods (“belly-dragging” sprawling, “raised” sprawling, or “erect” postures). Each clade of reptiles is characterized by its own locomotor postures (Figure 1). Squamates are all sprawlers, but belly dragging sprawling posture and/or raised sprawling posture were convergently acquired several times, which is also the case for occasional bipedalism. Testudines are either bottom walkers or good swimmers, but at least one of these postures appeared twice independently. As for lifestyles, postures do not perfectly aggregate on the phylogeny (Figure 1), but there is nevertheless a correlation (r-PLS: 0.8375, *p*-value: .001, see script in Supporting Information, file 1).

2.2 | Data acquisition

Left or right humeri, depending on the availability, were X-rayed using a computed tomography (CT) imaging system (AST-RX platform and Ge Sensing and Inspection Technologies phoenix-ray v|tome|x L240-180 CT scanner) at the Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN), with nanofocus RX source 180 kV/15 W and detector 400 × 400 mm with a matrix of 2,024 pixels (pixel size: 200 × 200 μm). The images were acquired with different scan parameters (exposure time, voltage, current and filter; see Supporting Information, file 2) according to the specimens and the voxel sizes ranged from 13.604 to 113.825 μm. The micro-CT data were processed utilizing *datos|x* reconstruction software (Phoenix|x-ray, release 2.0) and then exported as a 16 bits TIFF image stack.

Volumes of interest (VOIs) were selected with the software CT-Analyser (CTAnalyser Software V 1.16, Skyscan NV, Kontich, Belgium). We chose spherical VOIs centered in the proximal metaphysis, at the location where the pectoral process is the most developed, because this part is present across the whole dataset (Figure 2). We defined the VOIs to be as large as possible to sample as many trabeculae as possible, but without including cortical bone. This trabecular extraction was preferred to other traditional methods (same size VOIs or VOIs proportional to the epiphysis size) to obtain a maximum of trabeculae from small specimens. The rest of the process was performed with the Fiji package (Schindelin et al., 2012) and the BoneJ plugin (Doube et al., 2010). The extracted VOIs were binarized with

TABLE 1 List of specimens included in the analyses with corresponding clades, species, catalogue number, and locomotor postures (and their associated bibliographic references). The epiphyseal degree is indicated in the column “epiphyseal plate”: “Present” if the epiphysis shows an epiphyseal plate, due to the presence of secondary centers of ossification and “absent,” if the epiphysis does not show an epiphyseal plate

Clade	Species	Catalogue number	Epiphyseal plate	Lifestyle	Lifestyle's reference	Locomotor posture	Locomotor posture's reference
Crocodylia	<i>Alligator mississippiensis</i>	MNHN-ZA-AC-1876-282	Absent	Amphibious	Clarac, De Buffrénil, Brochu, & Cubo, 2017	All possible postures	Gatesy 1991, Reilly & Elias, 1998
	<i>Crocodylus niloticus</i>	MNHN-ZA-AC-2005-71	Absent	Amphibious	Clarac et al., 2017	semi-erect	Reilly & Elias, 1998
Squamata	<i>Amblyrynchus cristatus</i>	Michel Laurin's Personal collection	Present	Amphibious	Trillimich & Trillimich, 1986	Swimmer, diver	Bartholomew et al. 1976, Gleeson 1979
	<i>Basiliscus vittatus</i>	MNHN-ZA-AC-1883-1830	Present	Climbing	Campbell, 1998, Vitt & Caldwell, 2014	Raised sprawler, occasional biped	Snyder 1949, Russell & Bels, 2001
	<i>Heloderma suspectum</i>	MNHN-ZA-AC-1950-174	Present	Fossorial	Bogert & Martin del Campo 1956, Vitt & Caldwell, 2014	Belly-dragging or raised sprawler	Bogert & Martin del Campo 1956
	<i>Smaug giganteus</i>	MNHN-ZA-AC-1964-53	Present	Terrestrial	Branch, 1998, Vitt & Caldwell, 2014	Raised sprawler	Ruddock, 2000
	<i>Tiliqua scincoides</i>	MNHN-ZA-AC-1898-285	Absent	Terrestrial	Vitt & Caldwell, 2014, Wilson & Swan, 2013	Belly-dragging sprawler	Nyakatura, Andrada, Curth, & Fischer, 2014
	<i>Trioceros johnstoni</i>	MNHN-ZA-AC-2004-2	Present	Climbing	Vitt & Caldwell, 2014	Raised sprawler	Russell & Bels, 2001
	<i>Tupinambis teguixin</i>	MNHN-ZA-AC-1967-96	Present	Terrestrial	Vitt & Caldwell, 2014	Raised sprawler, occasional biped	Urban, 1965, Nyakatura et al., 2014
	<i>Uromastyx acanthinura</i>	MNHN-ZA-AC-1909-2	Present	Fossorial	Wilms & Böhme, 2007, Vitt & Caldwell, 2014	Belly-dragging sprawler	Cunningham & Black, 2009, Ramesh & Sankaran 2013
	<i>Varanus niloticus</i>	MNHN-ZA-AC-1968-152	Present	Terrestrial	Vitt & Caldwell, 2014	Raised sprawler, occasional biped	Schuett, Reiserer, & Earley, 2009, Ciliberti, 2011
	<i>Varanus salvator</i>	MNHN-ZA-AC-1977-4	Present	Terrestrial	Vitt & Caldwell, 2014	Raised sprawler, occasional biped	Russell & Bels, 2001, Schuett et al., 2009, Ciliberti, 2011
Testudines	<i>Caretta caretta</i>	MNHN-ZA-AC-1975-21	Absent	Aquatic	Vitt & Caldwell, 2014	Good swimmer	Limpus et al., 1992
	<i>Chelus fimbriatus</i>	MNHN-ZA-AC-1930-365	Absent	Aquatic	Vitt & Caldwell, 2014	Bottom walker	Wyneken et al. 2008
	<i>Emys orbicularis</i>	MNHN-ZA-AC-2014-2	Absent	Amphibious	Vitt & Caldwell, 2014	Bottom walker	Ficetola et al., 2004
	<i>Centrochelys sulcata</i>	MNHN-ZA-AC-1974-68	Absent	Fossorial	Stearns, 1989, Vitt & Caldwell, 2014	Bottom walker	Wyneken et al. 2008
	<i>Kinosternon leucostomum</i>	MNHN-ZA-AC-1911-309	Absent	Amphibious	Legler & Vogt, 2013	Good swimmer	Davenport et al. 1984
	<i>Mauremys leprosa</i>	MNHN-ZA-AC-1885-418	Absent	Amphibious	Bertolero & Busack, 2017	Good swimmer	Davenport et al. 1984
	<i>Pelusios gabonensis</i>	MNHN-ZA-AC-1934-373	Absent	Amphibious	Chirio & LeBreton, 2007, Vitt & Caldwell, 2014	Bottom walker	Vitt & Caldwell, 2014
	<i>Cyclanorbis senegalensis</i>	MNHN-ZA-AC-1889-384	Absent	Amphibious	Vitt & Caldwell, 2014, Diagne et al., 2016	Bottom walker	Vitt & Caldwell, 2014

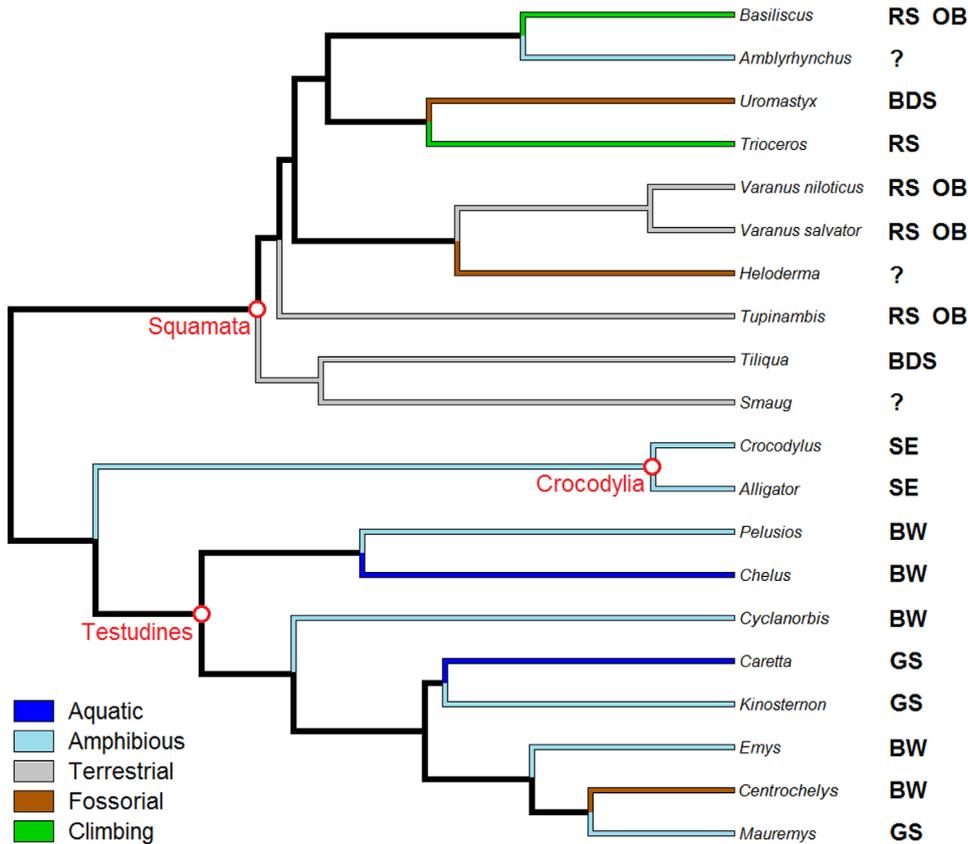


FIGURE 1 Phylogeny of studied specimens, modified from Zheng and Wiens (2016) and Shaffer, McCartney-Melstad, Near, Mount, and Spinks (2017). Color represents the different lifestyles. Locomotor postures are indicated on the right. A question mark indicates an unclear posture. BDS, belly-dragging sprawler; BW, bottom walker; GS, good swimmer; OB, occasional biped; RS, raised sprawler; SE, semi-erect [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

“Optimize Threshold > Threshold Only” and their isolated particles was removed with “Purify.”

Then eight trabecular parameters were measured with BoneJ (raw measurements given in Table 2, means for each lifestyle in Table 3, for Squamata and Testudines in Table 4, see Fiji Macro in Supporting Information, file 3). These parameters were often used by others authors, except for average branch length (Av.Br.Len, only measured by Amson et al., 2017). Thickness (Tb.Th) and Av.Br.Len are expressed in mm; bone surface (BS) in mm²; bone volume (BV) in mm³; connectivity (Conn) is approximately the number of trabeculae in the VOI; connectivity density (Conn.D) in number/mm³; number (Tb.N) in number/mm. Degree of anisotropy (DA) has no unit, its scale ranges from 0 (trabeculae have no preferential orientation) to 1 (trabeculae are perfectly aligned). As the DA algorithm is a heuristic, we ran it 10 times for each VOI and averaged the obtained values. Two other trabecular parameters, spacing (Tb.Sp) in mm and the total volume of VOI (TV) in mm³, could not be correctly measured from a spherical VOI by BoneJ, which requires a cuboid stack (the option “use ROI Manager” was not used). We therefore devised a custom script to calculate them. After VOI extraction with CTAn and thresholding with BoneJ, we obtained a spherical VOI of trabecular bone (bone in white, void in black) inside a cubic stack with black background. If one would measure Tb.Sp of this stack with BoneJ, the plugin would also consider the spacing between the sphere and the cube vertices. This external space was excluded from the calculation to measure a reliable value of Tb.Sp (Table 2). In the same way, BoneJ will calculate TV from the cubic stack and not

from the spherical VOI. Thus, we calculated the spherical TV from its radius r (its diameter can be extracted with CTAn).

Body mass could not have been used as a body size proxy, as it was unknown for all specimens. The average body weight was also unknown for the great majority of the sampled species. Doube et al. (2011) used femoral head radius for that purpose. In our dataset, the shape of humeral head varies greatly among the main clades: in articular view, it is subrectangular in Crocodylia, subovate in Squamata, and subcircular in Testudines. Defining a size proxy with an external measure would therefore be unreliable with such a diversity of humeral shapes. We hence favored TV as a body size proxy, which is directly measured on the specimens.

2.3 | Statistical analyses

All the computations were performed with R version 3.4.4 (R Core Team, 2013). The eight following trabecular parameters were included in the analyses: Av.Br.Len, Tb.Th, Tb.Sp, BS/TV, BV/TV, Conn.D, DA, and Tb.N. We calculated size-corrected trabecular parameters, which are the residuals of linear regressions (lm function) of the original parameters against the size proxy TV (in this case, the “size-corrected” parameter name is preceded by “sc”). We performed various comparisons among these parameters depending on lifestyles or locomotor postures. We checked the normality of the distribution (shapiro.test function) and the homogeneity of variance (bartlett.test function). If these conditions were met, we perform a traditional analysis of

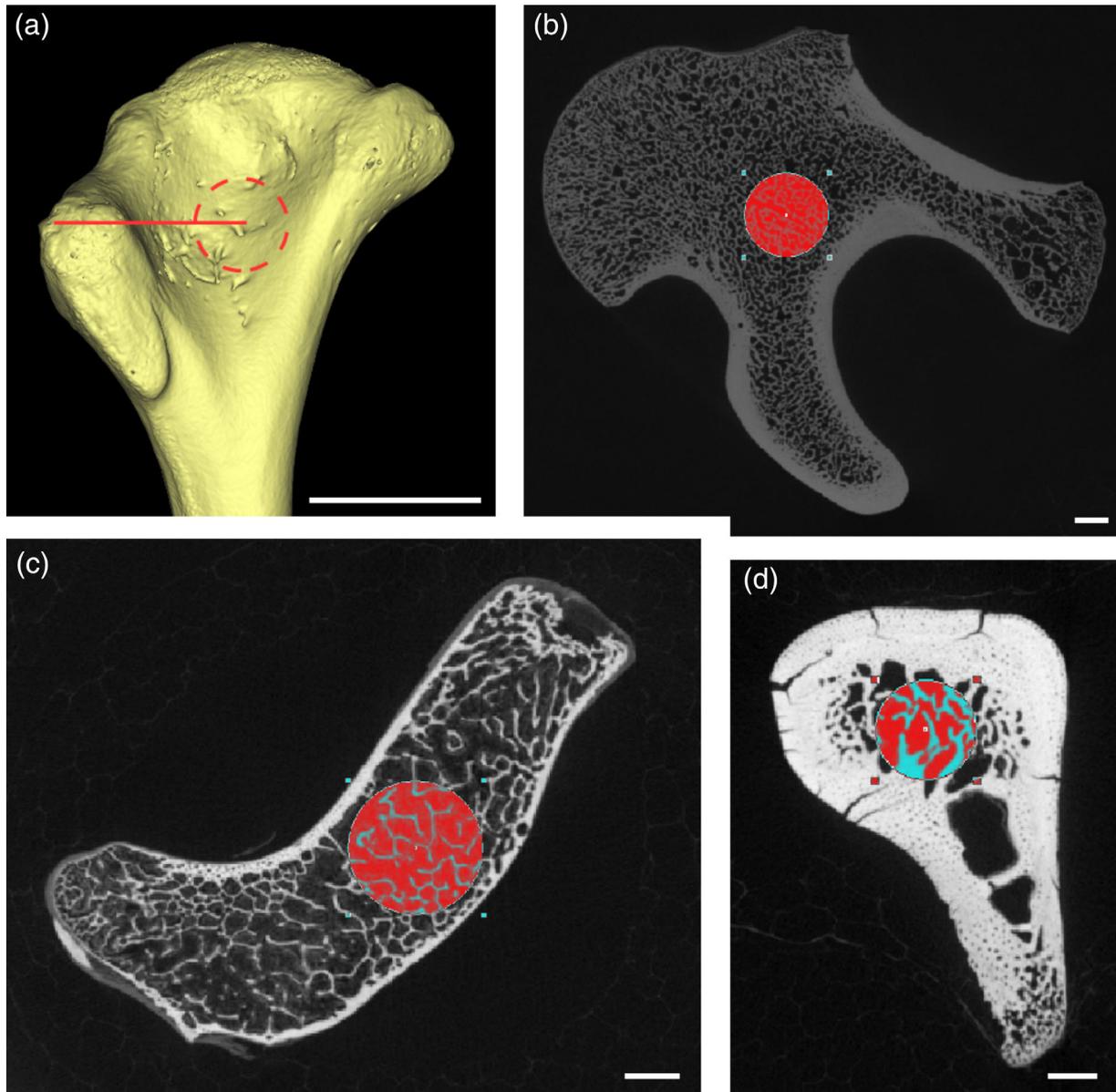


FIGURE 2 Selection of volume of interest (VOI). (a) 3D reconstruction (ventral view) of the proximal epiphysis and metaphysis of the humerus of *Tiliqua scincoides* (MNHN-ZA-AC-1898-285). (b, c and d) transverse sections in the proximal metaphysis of humerus of *Centrochelys sulcata* (MNHN-ZA-AC-1974-68), *Varanus salvator* (MNHN-ZA-AC-1977-4) and *Crocodylus niloticus* (MNHN-ZA-AC-2005-71), respectively. The red circle represents the place of extraction of VOI, at the location where the pectoral process is the most developed. Scale bars = 2 mm [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

variance (ANOVA, `avov` function) for a comparison of more than two lifestyles (followed by a Tukey's honestly significant test, `TukeyHSD` function) or a Student's *t*-test (`t.test` function) for pairwise comparisons. If at least one of these conditions were missing, we performed a Kruskal-Wallis rank sum test (`kruskal.test` function) to compare population medians.

Phylogeny: To test whether phylogeny influences the trabecular architecture, we used the Testudines phylogenetic tree topology and the divergence times from Shaffer et al. (2017) and data from Zheng and Wiens (2016) for Crocodylia and Squamata. To measure the phylogenetic signal of each trabecular parameter, we calculated Pagel's lambda (Pagel, 1999, Table 5), with the `phylosig` function of the "phytools" package (Revell, 2012). The parameter λ is a measure of the

terminal taxa covariance compared to the covariance expected under a Brownian motion given the topology and the branch lengths. A value of 0 means the phylogenetic independence of the terminal taxa, while a value of 1 means that the values are in direct proportion to their shared evolutionary history. With the `contMap` and `phenogram` functions of the "phytools" package (Revell, 2012), we represented the evolution of the BV/TV continuous trait on the tree of reptiles (see mapping in Supporting Information, file 4). Distribution of this trait is also represented with phenograms for squamates (Figure 3) and turtles (Figure 4).

Structural scaling of trabeculae: All variables were log-transformed and allometry was investigated with linear regression of each parameter against the body size proxy, TV. In Mielke et al. (2018), the

TABLE 2 Raw measurements

Species	Lifestyle	Av.Br.Len (mm)	Tb.Th (mm)	Tb.Sp (mm)	Connectivity (number)	Conn.D (number/mm ³)	BV (mm ³)	TV (mm ³)	BS (mm ²)	BS/TV (mm ⁻¹)	BV/TV (no unit)	DA (no unit)	Tb.N (number/mm)
<i>Alligator</i>	Amphibious	0.369	0.217	0.338	579	11.844	20.598	48.884	109.367	2.237	0.421	0.78	1.940
<i>Crocodyllus</i>	Amphibious	0.419	0.310	0.596	232	5.714	14.527	40.599	64.595	1.591	0.358	0.45	1.155
<i>Amblyrynchus</i>	Amphibious	0.309	0.173	0.439	122.5	7.872	4.206	15.562	54.845	3.524	0.270	0.84	1.561
<i>Basiliscus</i>	Climbing	0.169	0.075	0.406	10.5	15.464	0.056	0.679	0.744	1.096	0.083	0.51	1.107
<i>Trioceros</i>	Climbing	0.158	0.090	0.247	26	36.061	0.162	0.721	2.401	3.330	0.224	0.73	2.489
<i>Heloderma</i>	Fossorial	0.257	0.145	0.346	18	10.727	0.503	1.678	6.977	4.158	0.300	0.63	2.069
<i>Uromastix</i>	Fossorial	0.208	0.088	0.279	30	27.548	0.251	1.089	1.388	1.275	0.231	0.81	2.625
<i>Smaug</i>	Terrestrial	0.154	0.075	0.204	15	39.578	0.100	0.379	2.303	6.078	0.264	0.71	3.520
<i>Tiliqua</i>	Terrestrial	0.217	0.100	0.352	16.5	19.009	0.213	0.868	2.123	2.446	0.246	0.60	2.460
<i>Tupinambis</i>	Terrestrial	0.302	0.143	0.449	66.5	10.492	1.132	6.338	12.404	1.957	0.179	0.50	1.252
<i>Varanus niloticus</i>	Terrestrial	0.228	0.095	0.373	91.5	19.460	0.760	4.702	2.274	0.484	0.162	0.70	1.705
<i>Varanus salvator</i>	Terrestrial	0.376	0.167	0.563	556.5	7.820	15.584	71.164	12.518	0.176	0.219	0.63	1.311
<i>Caretta</i>	Aquatic	0.605	0.321	0.697	4,823.5	3.802	372.628	1,268.667	151.116	0.119	0.294	0.44	0.916
<i>Chelus</i>	Aquatic	0.322	0.149	0.235	153	21.564	3.108	7.095	20.438	2.881	0.438	0.78	2.940
<i>Cyclanorbis</i>	Amphibious	0.335	0.216	0.305	213	16.281	5.721	13.083	24.280	1.856	0.437	0.66	2.023
<i>Emys</i>	Amphibious	0.145	0.084	0.180	233	214.154	0.522	1.088	8.908	8.188	0.479	0.57	5.702
<i>Kinosternon</i>	Amphibious	0.140	0.076	0.160	64	147.806	0.132	0.433	2.782	6.425	0.304	0.61	4.000
<i>Mauremys</i>	Amphibious	0.168	0.098	0.222	255.5	96.342	0.804	2.652	6.774	2.554	0.303	0.58	3.092
<i>Pelusios</i>	Amphibious	0.271	0.175	0.268	290.5	29.249	4.279	9.932	31.378	3.159	0.431	0.63	2.463
<i>Centrochelys</i>	Fossorial	0.524	0.336	0.534	2,413.5	5.504	182.495	438.848	351.954	0.803	0.416	0.45	1.238

Abbreviations: Av.Br.Len, average branch length; BS, bone surface; BV, bone volume; Conn.D, connectivity density; DA, degree of anisotropy; Tb.N, trabecular number; Tb.Sp, trabecular spacing; Tb.Th, trabecular thickness; TV, total volume (TV represents the size of the VOI).

TABLE 3 Means of raw measurements for each lifestyle

Lifestyle	Av.Br.Len (mm)	Tb.Th (mm)	Tb.Sp (mm)	Conn.D (number/mm ³)	BS/TV (mm ⁻¹)	BV/TV (no unit)	DA (no unit)	Tb.N (mm ⁻¹)
Aquatic	0.463	0.235	0.466	13	1.50	0.37	0.61	1.93
Amphibious	0.270	0.169	0.313	66	3.69	0.38	0.64	2.74
Terrestrial	0.255	0.116	0.388	19	2.23	0.21	0.63	2.05
Fossorial	0.330	0.190	0.386	15	2.08	0.32	0.63	1.98
Climbing	0.163	0.083	0.326	26	2.21	0.15	0.62	1.80

Note: See Table 2 for abbreviations.

TABLE 4 Means of raw measurements in Squamata and in Testudines (standard deviation in brackets)

Clade	Av.Br.Len (mm)	Tb.Th (mm)	Tb.Sp (mm)	Conn.D (number/mm ³)	BS/TV (mm ⁻¹)	BV/TV (no unit)	DA (no unit)	Tb.N (mm ⁻¹)
Squamata	0.238 (0.073)	0.115 (0.038)	0.366 (0.106)	19 (11.5)	2.45 (1.84)	0.22 (0.06)	0.66 (0.11)	2.0 (0.76)
Testudines	0.314 (0.174)	0.182 (0.102)	0.325 (0.190)	67 (78)	3.25 (2.75)	0.39 (0.07)	0.59 (0.11)	2.8 (1.54)

Note: See Table 2 for abbreviations.

TABLE 5 Pagel's lambda and associated *p*-values for each trabecular parameter

	Pagel's lambda	Lambda <i>p</i> -value
Av.Br.Len	0.000	1.000
Tb.Th	0.140	0.524
Tb.Sp	0.000	1.000
BS/TV	0.000	1.000
Conn.D	0.166	0.486
BV/TV	0.705	0.003
DA	0.001	0.996
Tb.N	0.000	1.000

Note: See Table 2 for abbreviations.

Significant results are in bold (*p*-value < .05).

observed scaling (a_{obs}) of the regression between each trabecular parameter and VOI edge length (both log-transformed) was compared with an expected scaling under isometry (a_{iso}). As TV is a volume (unit: mm³), the a_{iso} in our analysis will be equal to the third of values from Mielke et al. (2018), because its VOI edge length was expressed in mm. BV/TV and DA are dimensionless ratios for which $a_{iso} = 0$ (see Table 6, Supporting Information, file 5). Av.Br.Len, Tb.Th, and Tb.Sp are expressed in mm (unit: length¹) and would increase under isometry with $a_{iso} = 1/3$ (length divided by volume). BS/TV (a surface divided by a volume) and Tb.N (a number divided by a length) are expressed in mm⁻¹ and will have an $a_{iso} = -1/3$. Conn.D, expressed in number per mm³ (unit: length⁻³), will have an $a_{iso} = -1$. For each regression, we calculated the confidence intervals to 95% (confint function) of the observed slope (a_{obs}) to test a possible significant deviation between both scalings. An a_{iso} significantly lower than a_{obs} and absent from the a_{obs} confidence intervals indicates positive allometry. An a_{iso} significantly higher than a_{obs} and absent from the a_{obs} confidence intervals indicates negative allometry. An a_{obs} nonsignificantly

different to a_{iso} (i.e., a_{iso} in the a_{obs} confidence intervals) indicates an isometry.

Lifestyles: We used the "lda" function (Venables & Ripley, 2002) from the MASS package to perform several linear discriminant analyses to obtain the best discrimination of various lifestyles. A linear discriminant analysis (LDA) maximizes the variance between groups and minimizes the variance inside each group. We used a leave-one-out cross-validation (CV) to determine the posterior probability for each taxon to belong to a functional group: each specimen is successively removed, then both the model and the prediction for this specific specimen are calculated. We chose to run the LDA according to different modalities (see Table 7, Supporting Information, files 6 and 8): with the raw data or with the size-corrected parameters (to investigate the influence of size in the discrimination) and with or without CV (to compare the predictive ability of the model and the discrimination within the morphological space). In each modality, we calculated the percentage of well-predicted lifestyles, which fit to the number of well-classified specimens divided by the number of specimens. In a first LDA (referred to as "basic"), we used the eight trabecular parameters and the five different lifestyles (aquatic, amphibious, terrestrial, fossorial, and climbing). To investigate the effect of BV/TV, which showed a significant phylogenetic signal (see Table 5), we chose to remove this parameter from a second one. We a priori performed linear correlations between trabecular parameters and we found that BS/TV was highly correlated to Conn.D and Tb.N ($R^2 = .5957$, p -value = 6.72×10^{-5} , and $R^2 = .7542$, p -value = $6.88 \cdot 10^{-7}$, respectively) and Tb.Sp was highly correlated to Av.Br.Len and Tb.Th ($R^2 = .6891$, p -value = $5.93 \cdot 10^{-6}$, and $R^2 = .561$, p -value = $1.45 \cdot 10^{-4}$, respectively). To exclude highly correlated variables, we deleted BS/TV and Tb.Sp in a third one. For the fourth LDA, we performed a principal component analysis (PCA) with the function PCA from the package FactoMineR (Lê, Josse, & Husson, 2008) and used the extracted scores for the individuals, always in the purpose to obtain a better discrimination with a minimum of variables. Three lifestyles

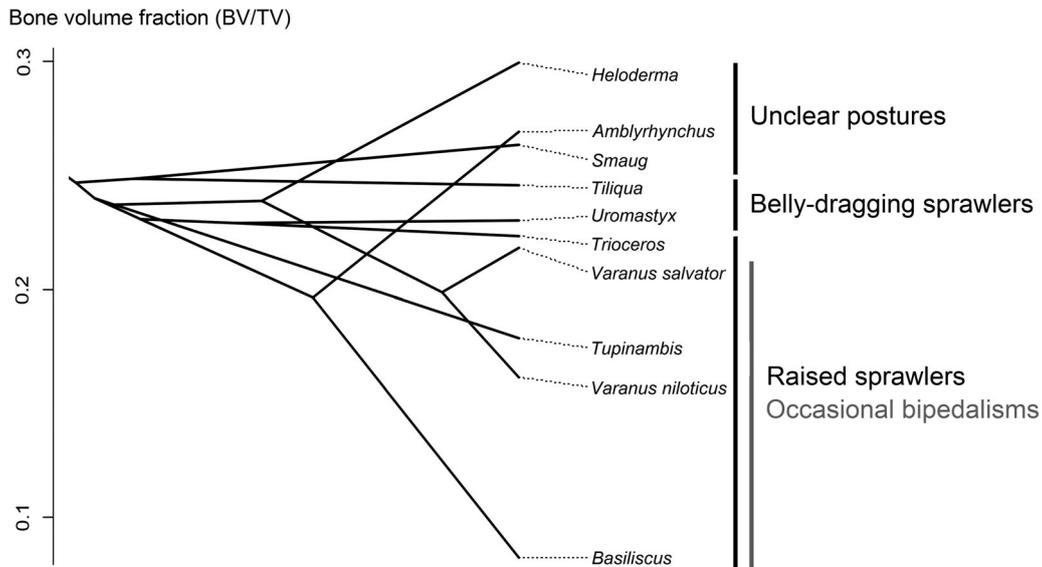


FIGURE 3 Phenogram of squamates defined by the BV/TV parameter. Locomotor postures are indicated on the right part

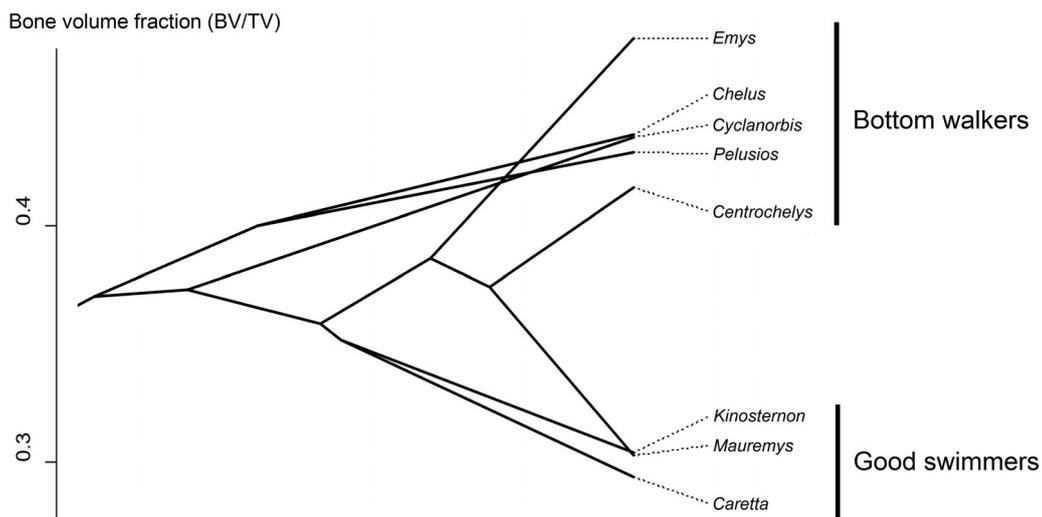


FIGURE 4 Phenogram of turtles defined by the BV/TV parameter. Locomotor postures are indicated on the right part

include only two or three specimens. To avoid lifestyles overlap in the morphological spaces and to increase the discriminating power of LDAs, we reduced the number of categories by gathering them in the last LDAs. In a fifth LDA, we used the eight variables, but we gathered the aquatic and amphibious lifestyles in a “water” category, while we gathered the three other lifestyles in a “ground” category. In a sixth LDA, we used three lifestyle categories: aquatic, amphibious and “ground” (the latter grouping the same three lifestyles). We also performed a phylogenetic Flexible Discriminant Analysis (pFDA; Motani & Schmitz, 2011) with the “mda” package (Hastie, Tibshirani, & Buja, 1994) to take into account the phylogeny, but this analysis did not give an improved discrimination of lifestyles as the best discrimination was obtained with a Pagel's lambda equals to zero.

To test our hypotheses on relationships between trabecular anisotropy and lifestyles, we performed additional statistical analyses, where we compared DA according to lifestyles. We do not need to compare scDA, because p -value of the linear regression of DA against TV (both log-transformed) is not significant ($R^2 = .1537$, p -value = .087). In the first comparison, all specimens were included. In the second comparison, specimens for which the corresponding VOI comprised less than 50 trabeculae were excluded. Indeed, calculating the degree of anisotropy from a VOI containing few trabeculae is not really reliable. Thus, by using a histogram on the Connectivity parameter, we chose to determine the lower limit to 50 trabeculae (We cannot determine this limit from Tb.N or Conn.D, which are average numbers of trabeculae). In the last comparisons, we also compared VOIs with more than 50 trabeculae but independently in

TABLE 6 Allometry in the proximal humeral metaphysis. Trabecular parameters scaling against TV (Total volume) for all reptiles, only squamates and only turtles. The two variables were log-transformed. a_{iso} represents the expected scaling exponent under isometry, a_{obs} the observed scaling exponent, CI 95% represents the confidence intervals to 95% of the observed slope (a_{obs}) and Allo, the corresponding allometry (–for negative allometry, 0 for isometry and + for positive allometry)

Parameters	a_{iso}	All			Squamata			Testudines		
		a_{obs}	CI 95%	Allo	a_{obs}	CI 95%	Allo	a_{obs}	CI 95%	Allo
Av.Br.Len	0.33	0.1796	0.1482; 0.2109	–	0.1691	0.1119; 0.2264	–	0.1935	0.1348; 0.2521	–
Tb.Th	0.33	0.2031	0.1601; 0.2460	–	0.1637	0.0767; 0.2506	–	0.1985	0.1351; 0.2618	–
Tb.Sp	0.33	0.1363	0.0776; 0.1951	–	0.1514	0.0666; 0.2362	–	0.1839	0.1660; 0.2018	–
BS/TV	–0.33	–0.335	–0.5091; –0.1609	0	–0.4104	–0.8267; 0.0058	0	–0.4503	–0.6214; –0.2792	0
BV/TV	0	0.06044	–0.0268; 0.1477	0	0.02427	–0.1574; 0.2059	0	–0.007963	–0.0799; 0.0640	0
Conn.D	–1	–0.3436	–0.5046; –0.1826	+	–0.2892	–0.4639; –0.1145	+	–0.5066	–0.6742; –0.3390	+
DA	0	–0.03439	–0.0743; 0.0056	0	0.0038	–0.0829; 0.0905	0	–0.04601	–0.0969; 0.0049	0
Tb.N	–0.33	–0.1426	–0.2200; –0.0652	+	–0.1394	–0.2871; 0.0083	+	–0.2064	–0.2683; –0.1446	+

Note: See Table 2 for abbreviations of trabecular parameters.

TABLE 7 List of different linear discriminant analyses (LDA). More details in the material and methods section. Percentages correspond to the correct predictions of the LDAs (i.e., number of correctly classified specimens divided by the number of specimens)

Linear discriminant analyzes	Raw data no CV	Raw data with CV	Size-corrected data no CV	Size-corrected data with CV
Basic	95%	45%	95%	50%
BV/TV removal	95%	40%	90%	45%
Two correlated variables (BS/TV + Tb.Sp) removal	95%	60%	85%	55%
On PCA scores	100%	55%	95%	50%
Two groups: Water and ground	90%	65%	95%	75%
Three groups: Aquatic, amphibious and ground	100%	70%	95%	70%

Testudines and in Squamata. For all of these comparisons, we performed the following protocol. As involved specimens change for each comparison, we checked the normality of the distribution of DA, the homogeneity of variance and we compared lifestyles with an ANOVA, a Student's *t*-test or a Kruskal-Wallis rank sum test (see above for test conditions). Before performing Bartlett's test or a comparison test, we removed lifestyles containing only one specimen from the analysis.

3 | RESULTS

3.1 | Histomorphometric results

Within reptiles, on average, climbers have shorter trabeculae than members of others lifestyles (see Tables 2 and 3). On average, aquatic reptiles show thicker and more spaced trabeculae. Depending on Conn.D and Tb.N, on average, trabeculae are more densely packed in amphibious reptiles. On average, amphibious reptiles show a higher BS/TV and a higher BV/TV. BV/TV is significantly lower in squamates than in the crocodylian-turtle clade (mean = 0.22 and 0.39, respectively; ANOVA: p -value = 1.17×10^{-4} ; Tukey's test between Squamata and Testudines: p -value = 1.50×10^{-4} ; Tukey's test between Squamata and Crocodylia: p -value = .011; Tukey's test

between Testudines and Crocodylia: p -value = .99). On average, the degree of anisotropy is similar between the lifestyles.

In Squamata, trabeculae of the proximal humeral metaphysis have an average length of 238 μm , an average thickness of 115 μm and an average spacing of 366 μm (see Tables 2 and 4). VOIs include an average Conn.D of 19 trabeculae/ mm^3 and an average Tb.N of 2 trabeculae/mm. The average BS/TV is 2.45 mm^{-1} and the average DA is 0.66. In squamates (Figure 3), BV/TV shows a wide range of variation (from 0.083 in *Basiliscus* to 0.3 in *Heloderma*) and the average BV/TV is 0.22.

In Testudines, trabeculae of the proximal humeral metaphysis have an average length of 314 μm , an average thickness of 182 μm and an average spacing of 325 μm (see Tables 2 and 4). VOIs include an average Conn.D of 67 trabeculae/ mm^3 and an average Tb.N of 2.80 trabeculae/mm. The average BS/TV is 3.25 mm^{-1} and the average DA is 0.59. In turtles (Figure 4), BV/TV shows two well-distinct categories (Kruskal-Wallis chi-squared = 5, p -value = .02535) and the average BV/TV is 0.39.

3.2 | Phylogenetic signal

Pagel's lambda for each parameter are presented in Table 5. A significant phylogenetic signal is present for the parameter "BV/TV" (Pagel's

$\lambda = 0.705$; p -value $< .03$, see mapping in Supporting Information, file 4). BV/TV shows a wide variation in squamates (from 0.083 to 0.300, Figure 3). In contrast, this parameter is separated into two well-distinct categories in turtles (from 0.294 to 0.304 and from 0.416 to 0.479, Figure 4). Other parameters do not show any significant phylogenetic signal.

3.3 | Structural scaling of trabeculae

To test the allometries of trabecular parameters in reptiles (all specimens, only Squamata and only Testudines), we calculated the slope (a_{obs}), the confidence intervals to 95% of the slope, the coefficient of determination (R^2) and p -value of the regressions of each trabecular parameter against the size proxy TV (Table 6, Supporting Information, file 5).

Av.Br.Len, Tb.Th, and Tb.Sp show a significant negative allometric scaling in reptiles generally, but also in squamates and turtles. Larger reptiles have shorter, thinner, and more densely packed trabeculae than expected under geometric scaling. Conn.D and Tb.N show a significant positive allometric scaling in reptiles generally, in squamates and in turtles. Larger reptiles have more trabeculae per volume unit than expected under geometric scaling. BS/TV, BV/TV, and DA show no significant allometric scaling in reptiles, squamates, and turtles. Larger reptiles do not have more trabecular bone per unit of volume or more (or less) aligned trabeculae.

3.4 | Lifestyles

While the classic LDA allows to accurately separate the different lifestyles (85–100% of the taxa are closer to the center of gravity of their own lifestyle), using a leave-one-out cross-validation procedure strongly decreases the performance of the discriminant analysis (well-predicted lifestyle: 40–75%, Table 7, Supporting Information, files 6 and 8). The analysis of residuals rather than raw data does not necessarily give a better discrimination. The removal of the correlated variables (BS/TV and Tb.Sp) enables a better discrimination, contrary to the exclusion of BV/TV (Figure 5). Using the PCA scores for the individuals, a better class-separation is found for the analysis with raw data, but not with size-corrected data. Gathering lifestyles into two groups enables a better discrimination with a LDA using CV (not in the case of a LDA without CV). Gathering lifestyles into three groups (Figure 6) gives a better discrimination (or the same discrimination in the case of a LDA without CV on size-corrected data).

Using CV, the best separation (60%) of the five lifestyles is maximized in the LDA on the raw data with the removal of two correlated variables (Table 7 and Figure 5). In the Figure 5, morphological spaces of different lifestyles do not overlap. Reducing into three groups of lifestyles, we obtained the highest discrimination of 70% with CV and no overlaps of the lifestyles (Figure 6).

To summarize all these linear discriminant analyses (Supporting Information, file 6), we have a poor prediction of lifestyles with CV for aquatic (well-predicted lifestyle to 8.33%), fossorial (34.6%) and

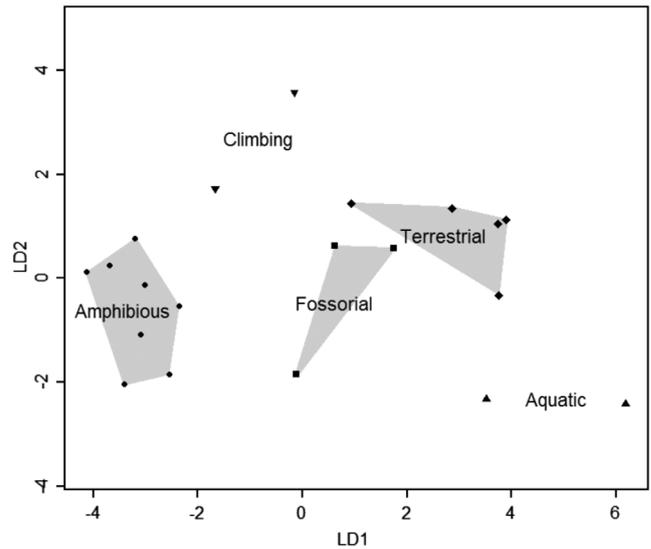


FIGURE 5 LDA on the raw data with removal of two correlated variables (BS/TV and Tb.Sp). The analysis is performed on the five groups of lifestyle: Aquatic (filled triangle point-up), amphibious (filled circle), climbing (filled triangle point-down), fossorial (filled square), and terrestrial (filled diamond)

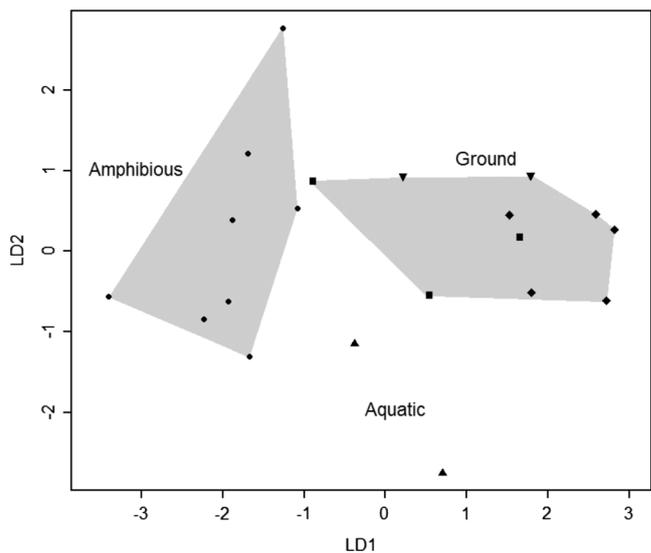


FIGURE 6 LDA on the size-corrected data. The analysis is performed on three lifestyle groups: Aquatic (filled triangle point-up), amphibious (filled circle) and a ground category, which brings together climbing (filled triangle point-down), fossorial (filled square) and terrestrial (filled diamond) lifestyles. The categories corresponding to five-lifestyle scheme (see text) are nevertheless indicated

climbing lifestyles (25%) and a well-predicted lifestyle in amphibious (79.17%) and terrestrial lifestyles (66.67%). Specimens from lifestyles with too few specimens failed to be correctly recognized. Among them, turtles that are not amphibious (*Centrochelys*, *Caretta*, *Chelus*) led to the worst predictions (less than 17%). The amphibious group with specimens from all main clades is generally subject to good prediction (79.17%).

For the comparison of the DA, the ANOVA suggests that there is no significant differences among the lifestyles (Shapiro–Wilk test: $W = 0.95501$, p -value = .4495; Bartlett's test: $K^2 = 2.1955$, p -value = .6998; ANOVA: p -value = .999). The same conclusion is reached when specimens for which VOIs with less than 50 trabeculae and lifestyles with less than two specimens are excluded (Shapiro–Wilk test: $W = 0.93941$, p -value = .4108; Bartlett's test: $K^2 = 1.0333$, p -value = .5965; ANOVA: p -value = .925). Amphibious specimens show the widest range of variation of DA (from 0.448 to 0.841); aquatic specimens have two different values of DA (0.444 and 0.779), while the fossorial specimen shows a low DA (0.445); terrestrial specimens have an intermediate DA (from 0.497 to 0.699). For the comparison between DA in Testudines, there is no significant difference between the amphibious and aquatic lifestyles (Shapiro–Wilk test: $W = 0.93398$, p -value = .553; Bartlett's test: $K^2 = 5.4335$, p -value = .01975; Kruskal–Wallis chi-squared: $t = 0$, p -value = 1). Aquatics turtles have two distant values (0.444 and 0.779). Values of DA are intermediate with a limited range in amphibious turtles (from 0.574 to 0.662), but higher than the one of the fossorial *Centrochelys* (0.445). No test could be performed to compare DA in squamates according to the lifestyles due to a small number of included taxa. Nevertheless, the amphibious *Amblyrhynchus* shows a higher DA value (0.841) than the terrestrial squamates (from 0.497 to 0.699).

4 | DISCUSSION

4.1 | Phylogenetic signal

BV/TV is the only trabecular parameter that yields a significant Pagel's lambda (0.705, p -value = .003), and it is significantly lower in squamates than in the crocodylian-turtle clade. We propose a physiological explanation related to the limb bone extremities about this phenomenon. Turtles and crocodylians develop cartilaginous limb bone extremities without secondary ossification centers (Haines, 1942). In contrast, squamates show secondary ossification centers, which strengthen the limb bone extremities (Haines, 1942).

In squamates, the wide range of BV/TV variation could be linked to the various locomotor postures (Figure 3). Squamates with the lowest BV/TV values (*Basiliscus*, *Tupinambis* and *Varanus*) are able to practice occasional bipedalism. Squamates that use a “raised” sprawling posture (*Trioceros*, *Varanus*, *Tupinambis* and *Basiliscus*) have low BV/TV values (0.083–0.224). *Uromastix* and *Tiliqua*, with higher BV/TV values (0.231 and 0.246 respectively) show a “belly-dragging” sprawling posture. The three other squamates (*Smaug*, *Heloderma*, and *Amblyrhynchus*) have unclear locomotor postures. *Smaug* has a high BV/TV value (0.264): it can raise itself off the ground by extending its legs during display (Ruddock, 2000), but this posture could be only practiced during this behavior. The sampled specimen of *Heloderma* has the highest BV/TV value and both sprawling postures seem to be used depending on the individuals. *Amblyrhynchus* has a high BV/TV value (0.27), which might be associated with the high compactness values especially found in its fore limb (Hugi & Sánchez-Villagra, 2012). A higher compactness in fore limb bones counteracts lung

buoyancy and facilitates diving and long-lasting underwater stays (de Ricqlès & de Buffrénil, 2001; Hugi & Sánchez-Villagra, 2012).

In contrast, BV/TV shows two well-distinct categories in turtles (Figure 4). Turtles with lowest BV/TV values (0.294–0.304) have high swimming abilities (*Caretta*, *Kinosternon*, and *Mauremys*). A significant reduction of body mass would improve locomotor performance of aquatic animals, especially their acceleration abilities and maneuverability (de Ricqlès & de Buffrénil, 2001). Turtles with highest BV/TV values (0.416–0.479) walk on land (*Centrochelys*) or at the bottom of lakes (*Pelusios*, *Cyclanorbis*, *Chelus*, and *Emys*). As in the marine iguana *Amblyrhynchus*, heavier bones may act as ballast and allow the animal to stay immersed on the bottom (de Ricqlès & de Buffrénil, 2001).

4.2 | Structural scaling of trabeculae

Allometric scaling of trabecular architecture has been analyzed in different bones (femur, humerus, lumbar, and thoracic vertebrae) in various taxa of mammals and birds. Thus, we could compare the observed scaling (a_{obs}) of the regression between different trabecular parameters and their size proxies (which is always a length or the body mass) from others studies with an expected scaling under isometry (a_{iso}).

Average branch length (Av.Br.Len) scales with a significant negative allometry in squamates and in turtles. This parameter has rarely been used in other studies focused on allometries to our knowledge, but it was significantly correlated to body size in the fore limb epiphyses of extant xenarthrans (Amson et al., 2017).

Trabecular thickness (Tb.Th) and spacing (Tb.Sp) scales with a significant negative allometry in squamates and in turtles. This same significant allometry was also widely found in mammals (Barak, Lieberman, & Hublin, 2013; Cotter, Simpson, Latimer, & Hernandez, 2009; Doube et al., 2011; Fajardo et al., 2013; Ryan & Shaw, 2013) and in birds (Doube et al., 2011).

Bone surface density (BS/TV) scales with isometry in squamates and in turtles, while it has shown positive allometry in mammalian and avian femora (see Table 1 in Doube et al., 2011).

Bone volume fraction (BV/TV) shows no dependence with size in squamates and in turtles. BV/TV was also reported to be independent of body size in mammals, through various sampled bones in a wide variety of taxa (Barak, Lieberman, & Hublin, 2013), but also in more restricted samplings: in thoracic vertebrae of hominoids (Cotter et al., 2009) or in fore limb epiphyses of xenarthrans (Amson et al., 2017). However, other analyses have found that BV/TV had a positive allometry in the femoral epiphyses of mammals and birds (Doube et al., 2011), in the lumbar vertebrae of strepsirrhine primates (Fajardo et al., 2013), in the humeral and femoral heads of primates (Ryan & Shaw, 2013) and in the femoral heads of sciuriforms (Mielke et al., 2018). For BV/TV, isometry or positive allometry do not seem to be associated to a particular bone (both present in vertebrae and limbs bones) or clade (both present throughout mammals), but this parameter might be correlated to other characteristics, such as locomotor postures.

Connectivity density (Conn.D) scales with significant positive allometry in squamates and in turtles. This parameter has also shown

a same significant allometry in mammals (Barak, Lieberman, & Hublin, 2013; Doube et al., 2011; Fajardo et al., 2013; Ryan & Shaw, 2013) and in birds (Doube et al., 2011).

The degree of anisotropy (DA) shows no correlation with size in squamates and in turtles, like in the thoracic vertebrae of hominoids (Cotter et al., 2009). In mammals, DA has shown a negative allometry in epiphyses: in the femora of many clades of mammals (see Table 1 in Doube et al., 2011), in the femoral heads of sciuriforms (Mielke et al., 2018), in the humeral and femoral heads of primates (Ryan & Shaw, 2013) and in various VOIs of mammals (Barak, Lieberman, & Hublin, 2013). In birds, DA has shown a negative allometry in the femoral condyle, but a positive allometry in the femoral head (Doube et al., 2011). It is unexpected that DA shows a negative allometry in mammals and avian epiphyses, but no correlation with size in non-avian reptiles metaphyses (this could be linked to the different location of the sampled VOI).

Trabecular number (Tb.N) scales with a positive allometry in squamates and in turtles. This parameter has shown a significant positive allometry in mammals (Barak, Lieberman, & Hublin, 2013; Cotter et al., 2009; Fajardo et al., 2013; Ryan & Shaw, 2013).

To summarize, within amniotes, BS/TV, BV/TV, and DA have different allometric (or isometric) scalings depending on the VOI location and the sampled clade. In contrast, the positive allometries (Tb.Th, Tb.Sp) and negative allometries (Conn.D, Tb.N) seems to be relatively conserved in mammals, birds, turtles and squamates. We can suppose that these allometric scalings, previously emphasized in mammals and birds, could be generalized to amniotes. Additional studies in other clades like crocodylians and sphenodontians, but also lissamphibians, will be necessary to confirm this statement.

4.3 | Lifestyles

The exclusion of BV/TV (which showed a significant phylogenetic signal) for the parameters included in the LDA leads to a decrease of the discriminating power. Within reptiles, BV/TV seems to be a complex trabecular parameter correlated to the phylogeny, but also to lifestyles and locomotor postures (see above). Conversely, BS/TV and Tb.Sp, which are highly correlated to other parameters, show no link to the phylogeny or the lifestyle. In our study, the coordinates of the individuals from principal component axes does not give better discrimination. Gathering lifestyles into two or three groups is a good compromise to obtain a clearer separation (65–75%) because the probability of misidentifications of CV decreases. Nevertheless, on the raw data, the analysis with three groups of lifestyles yields a better discrimination than the analysis with two groups. These results are encouraging: morphological spaces of lifestyle rarely overlapped, even if predictions with CV reached 70%. Nevertheless, it seems important to notice that more specimens should be added in the poorly represented lifestyles, especially aquatic and climber. As highlighted in this study, considering multiple architectural parameters together can prove more informative in elucidating lifestyles than by studying a single variable in isolation. This result had also been found by other

studies in the case of locomotor behavior in primates (Amson & Nyakatura, 2018; Hébert, Lebrun, & Marivaux, 2012; Ryan & Shaw, 2012; Scherf, Harvati, & Hublin, 2013).

4.4 | Degree of anisotropy versus lifestyle

We compared the degree of anisotropy according to the lifestyle. Comparing all the specimens, there is no clear distinction of lifestyles. Indeed, the small size of some squamates implies that the corresponding VOI only comprise a few trabeculae (as in *Smaug* or *Basiliscus*). Large specimens would give more reliable results in the analysis of the degree of anisotropy.

Using only specimens with more than 50 trabeculae, we obtain a poor separation of lifestyles. Amphibious specimens show a wide range of variation of DA, because this group consists of three distantly related clades. Indeed, this variation is lower in turtles. Aquatic specimens tend to have distant values of DA, and the fossorial specimens a low DA. However, the small sample size makes any further interpretation difficult to draw.

In turtles, the degree of anisotropy tends to be higher in amphibious taxa than in the fossorial *Centrochelys*. In large squamates, there is a similar gradient with a higher degree of anisotropy in the amphibious *Amblyrhynchus* than in terrestrial relatives. We hypothesized that terrestrial tetrapods may have a more defined orientation of their trabeculae than aquatic ones, and that amphibious taxa may have an intermediate state. We can refute this hypothesis as our results based on the proximal metaphysis of the humerus of reptiles tend to show the opposite trend for amphibious and terrestrial taxa. However, for aquatic species, we cannot validate or refute our hypothesis and we need more sampled taxa. We propose that this opposite trend could be explained by the location of the VOI extraction, in the middle of the metaphysis. Whether this gradient of trabecular orientation according to the lifestyle is also present at other locations, such as epiphyses or in other bones remains to be tested. In the radial head of xenarthrans, the degree of anisotropy of trabeculae have also showed another gradient: highest values in fully terrestrial and fossorial armadillos, intermediate values in intermediate anteaters and lowest values in fully arboreal sloths (Amson et al., 2017).

4.5 | Potential limitations

Some possible limitations should be noted for this study. First, the scan resolution can induce possible bias because some trabecular parameters are sensitive to this acquisition parameter (Isaksson et al., 2011; Sode et al., 2008). For instance, the relative resolution (i.e., mean trabecular thickness/voxel size, see Sode et al., 2008, Kivell et al., 2011) ranges between 1.53 in *Chelus* and 20.53 in *Centrochelys*. Conversely, we only could sample one specimen per species and hence did not take into account the intraspecific variation, which has been highlighted in several trabecular parameters, like the degree of anisotropy (Ryan & Ketcham, 2005). However, the addition of additional specimens will certainly improve the models. Moreover, we scanned the left or right humerus depending on the availability, which

could be another bias, but we do not think that the results are influenced by the humerus laterality.

Moreover, the placement of volumes of interest may create a bias in the results. We extracted VOIs from the proximal metaphysis, at the location where the pectoral process was the most developed, in order to compare homologous areas between the sampled specimens and to avoid the presence of epiphyseal plates in squamates. The regions directly adjacent to the articular condyles, directly exposed to mechanical loadings, may show stronger lifestyle discrimination. However, in our case, these regions could not be sampled in squamates because of their epiphyseal plates.

The choice of a VOI of maximal size, rather than a scaled VOI, can be also bias the trabecular parameters. However, most of the studied parameters (bone volume fraction, trabecular thickness, number, and spacing) were not influenced by VOI size in other studies (Kivell et al., 2011; Lazenby et al., 2011). In contrast, degree of anisotropy could be more sensitive to VOI size change, when studying a more heterogeneous structure (Kivell et al., 2011; Lazenby et al., 2011). Furthermore, VOIs are not scaled and do not have the same size for all specimens: the extracted volume can be small in some specimens (e.g., 0.433 mm³ in *Kinosternon*) or large in other ones (e.g., 1,268.667 mm³ in *Caretta*). Moreover, a larger pectoral process, related to the anatomy or the lifestyle of a small animal, could give a larger VOI and potentially change the allometric scaling of trabecular parameters. Our choice of VOI selection could skew the results, but to our knowledge, it was the only procedure that facilitated sampling of enough trabeculae from small specimens (of which the metaphyses include only few trabeculae).

Using TV as a proxy for body size could be another limitation. We could not use other size proxies like humeral length or minimal diaphyseal circumference, because the sampled specimens have a wide variety of morphologies.

Finally, we also tried to take into account potential phylogenetic effects thanks to the use of pFDA and the measure of Pagel's lambda for each trabecular parameter. However, the fact that our sampling is uneven could involve a strong phylogenetic bias.

4.6 | Conclusion

This study is the first to present 3D-trabecular architecture of the humeral proximal metaphysis in various clades of extant reptiles (Crocodylia, Squamata, and Testudines) through a μ CT-scan dataset. Thanks to the analyses of trabecular parameters, we are able to highlight allometries, most of which were also found in mammals and birds. These parameters do not show a significant phylogenetic signal, except for the bone volume fraction (BV/TV), which can be strongly correlated to the epiphysation degree. The various linear discriminant analyses show that lifestyle discrimination seems possible. We also find a tendency for the degree of anisotropy to differ between terrestrial and amphibious lifestyles, but further analyses including greater sampling will be required to confirm this statement.

Moreover, this study provides other useful data to perform further trabecular anisotropy analyses concerned with lifestyle signals. It is

preferable to focus at the rank order rather than larger clades, where the anisotropic signals could be mixed. Furthermore, larger specimens should be studied in order to recover a reliable degree of anisotropy. It would not be surprising if other studies also recover a gradient in the trabecular anisotropy values among lifestyles (rather than a clear discrimination), because lifestyles often describe a continuum from strictly terrestrial to strictly aquatic ones. In the same way that some studies were able to predict locomotor behavior of extinct primates (Ryan & Ketcham, 2002b), studies on relationships between lifestyle and trabecular architecture could help to determine accurately the lifestyle of other extinct tetrapods (see e.g., Amson & Nyakatura, 2018).

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the PhD program "Interface pour le Vivant (IPV)" for research funding, the German Research Council (DFG AM 517/1-1) which funded Eli Amson and the Action Thématique du Muséum (ATM) for CT-scan funding. We also acknowledge Maité Adam, Marta Bellato and Patricia Wils (UMS 2700 OMSI, AST-RX) for the CT-scanning procedure. We also want to thank Natacha Catz and Audrey Pofis for their invaluable help in this project. We want to thank Salvador Bailon for the access to the collection of comparative anatomy and Michel Laurin for the loan of the humerus of *Amblyrhynchus cristatus*. Finally, we thank the two anonymous reviewers for their particularly useful comments.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

MP, QG and DG conceived the study. MP, DG and QG conceived the methodology for image processing. MP acquired and analyzed the raw data, and drafted the manuscript. EA drafted the Fiji script. All authors performed the analyses. All authors reviewed the manuscript and gave their final approval.

ORCID

Martial Plasse  <https://orcid.org/0000-0002-8397-4948>

REFERENCES

- Adams, D. C., & Collyer, M. L. (2018). Phylogenetic ANOVA: Group-clade aggregation, biological challenges, and a refined permutation procedure. *Evolution*, 72(6), 1204–1215.
- Amson, E., Arnold, P., van Heteren, A. H., Canoville, A., & Nyakatura, J. A. (2017). Trabecular architecture in the forelimb epiphyses of extant xenarthrans (Mammalia). *Frontiers in Zoology*, 14(1), 52.
- Amson, E. & Nyakatura, J.A., (2018). Palaeobiological inferences based on long bone epiphyseal and diaphyseal structure - The forelimb of xenarthrans (Mammalia). *bioRxiv*, 318121, ver. 5. DOI: <https://doi.org/10.1101/318121>
- Barak, M. M., Lieberman, D. E., & Hublin, J. J. (2011). A Wolff in sheep's clothing: Trabecular bone adaptation in response to changes in joint loading orientation. *Bone*, 49(6), 1141–1151.

- Barak, M. M., Lieberman, D. E., & Hublin, J. J. (2013). Of mice, rats and men: Trabecular bone architecture in mammals scales to body mass with negative allometry. *Journal of Structural Biology*, 183(2), 123–131.
- Barak, M. M., Lieberman, D. E., Raichlen, D., Pontzer, H., Warrener, A. G., & Hublin, J. J. (2013). Trabecular evidence for a human-like gait in *Australopithecus africanus*. *PLoS One*, 8(11), e77687.
- Bartholomew, G. A., Bennett, A. F., & Dawson, W. R. (1976). Swimming, diving and lactate production of the marine iguana, *Amblyrhynchus cristatus*. *Copeia*, 709–720.
- Ben-Zvi, Y., Reznikov, N., Shahar, R., & Weiner, S. (2017). 3D architecture of trabecular bone in the pig mandible and femur: Inter-trabecular angle distributions. *Frontiers in Materials*, 4, 29.
- Bertolero, A. & Busack, S.D. (2017). *Mauremys leprosa* (Schoepff in Schweigger 1812) – Mediterranean pond turtle, Spanish terrapin, Mediterranean stripe-necked terrapin. In: Rhodin, A.G.J., Iverson, J.B., van Dijk, P.P., Buhlmann, K.A., Pritchard, P.C.H., and Mittermeier, R.A. (Eds.). *Conservation biology of freshwater turtles and tortoises: A compilation project of the IUCN/SSC tortoise and freshwater turtle specialist group*. Lunenburg, MA, USA: Chelonian Research Monographs 5(10): 102.1–19.
- Bishop, P. J., Hocknull, S. A., Clemente, C. J., Hutchinson, J. R., Farke, A. A., Beck, B. R., ... Lloyd, D. G. (2018). Cancellous bone and theropod dinosaur locomotion. Part I—An examination of cancellous bone architecture in the hindlimb bones of theropods. *PeerJ*, 6, e5778.
- Bishop, P. J., Walmsley, C. W., Phillips, M. J., Quayle, M. R., Boisvert, C. A., & McHenry, C. R. (2015). Oldest pathology in a tetrapod bone illuminates the origin of terrestrial vertebrates. *PLoS One*, 10(5), e0125723.
- Bogert, C. M., & Martín del Campo, R. (1956). The gila monster and its allies: the relationships, habits, and behavior of the lizards of the family Helodermatidae. *Bulletin of the AMNH*, 109, article 1.
- Branch, W. R. (1998). *Field guide to the snakes and other reptiles of southern Africa* (3rd ed.). Cape Town: Ralph Curtis Publishing.
- Campbell, J. A. (1998). *Amphibians and reptiles of northern Guatemala, the Yucatán, and Belize* (Vol. 4). Norman: University of Oklahoma Press.
- Carlson, K. J., Lublinsky, S., & Judex, S. (2008). Do different locomotor modes during growth modulate trabecular architecture in the murine hind limb? *Integrative and Comparative Biology*, 48(3), 385–393.
- Chirio, L., & LeBreton, M. (2007). *Atlas des Reptiles du Cameroun*. *Muséum National d'Histoire Naturelle* (p. 688). Paris: IRD.
- Ciliberti, A. (2011). *Le varan du Nil (Varanus niloticus) indicateur de la pollution des zones humides d'Afrique sub-saharienne* (p. 158). Lyon: Doctoral dissertation, Université de Lyon.
- Claras, F., De Buffrénil, V., Brochu, C., & Cubo, J. (2017). The evolution of bone ornamentation in Pseudosuchia: Morphological constraints versus ecological adaptation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 121(2), 395–408.
- Cotter, M. M., Simpson, S. W., Latimer, B. M., & Hernandez, C. J. (2009). Trabecular microarchitecture of hominoid thoracic vertebrae. *The Anatomical Record*, 292(8), 1098–1106.
- Cowin, S. C. (1998). The false premise of Wolff's law. *Forma*, 12(3), 247–262.
- Cunningham, C. A., & Black, S. M. (2009). Anticipating bipedalism: Trabecular organization in the newborn ilium. *Journal of Anatomy*, 214(6), 817–829.
- Davenport, J., Munks, S. A., & Oxford, P. J. (1984). A comparison of the swimming of marine and freshwater turtles. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 220(1221), 447–475.
- Diagne, T., Luiselli, L., Trape, J.-F., Rödel, M.-O., Baker, P.J., Chirio, L., Petrozzi, F. & Segniabeto, G. (2016). *Cyclanorbis senegalensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T6005A96447114. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T6005A96447114.en>. Downloaded on 10 May 2019.
- Doube, M., Kłosowski, M. M., Arganda-Carreras, I., Cordelières, F. P., Dougherty, R. P., Jackson, J. S., ... Shefelbine, S. J. (2010). BoneJ: Free and extensible bone image analysis in ImageJ. *Bone*, 47(6), 1076–1079.
- Doube, M., Kłosowski, M. M., Wiktorowicz-Conroy, A. M., Hutchinson, J. R., & Shefelbine, S. J. (2011). Trabecular bone scales allometrically in mammals and birds. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 278, 3067–3073.
- Duméril, A. M. C., & Bibron, G. (1835). *Erpétologie Générale ou Histoire Naturelle Complète des Reptiles*. Tome Second. *Librairie Encyclopédique de Roret, Paris*, ii, 2, 13–24.
- Fajardo, R. J., Desilva, J. M., Manoharan, R. K., Schmitz, J. E., Maclatchy, L. M., & Bouxsein, M. L. (2013). Lumbar vertebral body bone microstructural scaling in small to medium-sized strepsirhines. *The Anatomical Record*, 296(2), 210–226.
- Fajardo, R. J., Hernandez, E., & O'Connor, P. M. (2007). Postcranial skeletal pneumaticity: A case study in the use of quantitative microCT to assess vertebral structure in birds. *Journal of Anatomy*, 211(1), 138–147.
- Fajardo, R. J., & Müller, R. (2001). Three-dimensional analysis of nonhuman primate trabecular architecture using micro-computed tomography. *American Journal of Physical Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists*, 115(4), 327–336.
- Fajardo, R. J., Müller, R., Ketcham, R. A., & Colbert, M. (2007). Nonhuman anthropoid primate femoral neck trabecular architecture and its relationship to locomotor mode. *The Anatomical Record*, 290(4), 422–436.
- Ficetola, G. F., Padoa-Schioppa, E., Monti, A., Massa, R., Bernardi, F. D., & Bottoni, L. (2004). The importance of aquatic and terrestrial habitat for the European pond turtle (*Emys orbicularis*): Implications for conservation planning and management. *Canadian Journal of Zoology*, 82(11), 1704–1712.
- Gatesy, S. M. (1991). Hind limb movements of the American alligator (*Alligator mississippiensis*) and postural grades. *Journal of Zoology*, 224(4), 577–588.
- Gerhard, F. A., Webster, D. J., Van Lenthe, G. H., & Müller, R. (2009). *In silico* biology of bone modelling and remodelling: Adaptation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367(1895), 2011–2030.
- Gleeson, T. T. (1979). Foraging and transport costs in the Galapagos marine iguana, *Amblyrhynchus cristatus*. *Physiological zoology*, 52(4), 549–557.
- Haines, R. W. (1942). The evolution of epiphyses and of endochondral bone. *Biological Reviews*, 17(4), 267–292.
- Hastie, T., Tibshirani, R., & Buja, A. (1994). Flexible discriminant analysis by optimal scoring. *Journal of the American Statistical Association*, 89(428), 1255–1270.
- Hébert, D., Lebrun, R., & Marivaux, L. (2012). Comparative three-dimensional structure of the trabecular bone in the talus of primates and its relationship to ankle joint loads generated during locomotion. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, 295(12), 2069–2088.
- Hugi, J., & Sánchez-Villagra, M. R. (2012). Life history and skeletal adaptations in the Galapagos marine iguana (*Amblyrhynchus cristatus*) as reconstructed with bone histological data—A comparative study of iguanines. *Journal of Herpetology*, 46, 312–324.
- Huiskes, R., Ruimerman, R., Van Lenthe, G. H., & Janssen, J. D. (2000). Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone. *Nature*, 405(6787), 704–706.
- Isaksson, H., Töyräs, J., Hakulinen, M., Aula, A. S., Tamminen, I., Julkunen, P., ... Jurvelin, J. S. (2011). Structural parameters of normal and osteoporotic human trabecular bone are affected differently by microCT image resolution. *Osteoporosis International*, 22(1), 167–177.
- Kivell, T. L. (2016). A review of trabecular bone functional adaptation: What have we learned from trabecular analyses in extant hominoids and what can we apply to fossils? *Journal of Anatomy*, 228(4), 569–594.

- Kivell, T. L., Skinner, M. M., Lazenby, R., & Hublin, J. J. (2011). Methodological considerations for analyzing trabecular architecture: An example from the primate hand. *Journal of Anatomy*, 218(2), 209–225.
- Lambers, F. M., Koch, K., Kuhn, G., Ruffoni, D., Weigt, C., Schulte, F. A., & Müller, R. (2013). Trabecular bone adapts to long-term cyclic loading by increasing stiffness and normalization of dynamic morphometric rates. *Bone*, 55(2), 325–334.
- Lazenby, R. A., Skinner, M. M., Kivell, T. L., & Hublin, J. J. (2011). Scaling VOI size in 3D μ CT studies of trabecular bone: A test of the over-sampling hypothesis. *American Journal of Physical Anthropology*, 144(2), 196–203.
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R package for multi-variate analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18.
- Legler, J. M., & Vogt, R. C. (2013). *The Turtles of Mexico: Land and Freshwater Forms*. Berkeley, California, USA: University of California Press.
- Limpus, C. J., Miller, J. D., Paramenter, C. J., Reimer, D., McLachlan, N., & Webb, R. (1992). Migration of green (*Chelonia mydas*) and loggerhead (*Caretta caretta*) turtles to and from eastern Australian rookeries. *Wild-life Research*, 19(3), 347–357.
- Marchand, C., Chen, H., Buschmann, M. D., & Hoemann, C. D. (2011). Standardized three-dimensional volumes of interest with adapted surfaces for more precise subchondral bone analyses by micro-computed tomography. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 17(4), 475–484.
- Martin, R. B., Burr, D. B., Sharkey, N. A., & Fyhrie, D. P. (2015). Growth, modeling and remodeling of bone. In *Skeletal tissue mechanics* (pp. 95–173). New York: Springer, New York.
- van der Meulen, M. C., Morgan, T. G., Yang, X., Baldini, T. H., Myers, E. R., Wright, T. M., & Bostrom, M. P. (2006). Cancellous bone adaptation to in vivo loading in a rabbit model. *Bone*, 38(6), 871–877.
- Mielke, M., Wölfer, J., Arnold, P., van Heteren, A. H., Amson, E., & Nyakatura, J. A. (2018). Trabecular architecture in the sciuriform femoral head: Allometry and functional adaptation. *Zoological Letters*, 4(1), 10.
- Mittra, E., Rubin, C., & Qin, Y. X. (2005). Interrelationship of trabecular mechanical and microstructural properties in sheep trabecular bone. *Journal of Biomechanics*, 38(6), 1229–1237.
- Motani, R., & Schmitz, L. (2011). Phylogenetic versus functional signals in the evolution of form–function relationships in terrestrial vision. *Evolution*, 65(8), 2245–2257.
- Nyakatura, J. A., Andrada, E., Curth, S., & Fischer, M. S. (2014). Bridging “Romer’s gap”: Limb mechanics of an extant belly-dragging lizard inform debate on tetrapod locomotion during the early carboniferous. *Evolutionary Biology*, 41(2), 175–190.
- Pagel, M. (1999). Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature*, 401(6756), 877–884.
- Pierce, S. E., Clack, J. A., & Hutchinson, J. R. (2012). Three-dimensional limb joint mobility in the early tetrapod *Ichthyostega*. *Nature*, 486(7404), 523–526.
- Pontzer, H., Lieberman, D. E., Momin, E., Devlin, M. J., Polk, J. D., Hallgrímsson, B., & Cooper, D. M. L. (2006). Trabecular bone in the bird knee responds with high sensitivity to changes in load orientation. *Journal of Experimental Biology*, 209(1), 57–65.
- R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Retrieved from <http://www.R-project.org/>
- Ramesh, M., & Sankaran, R. (2013). Natural History Observations on the Indian Spiny-tailed Lizard *Uromastix hardwickii* in the Thar Desert. In *Faunal Heritage of Rajasthan, India* (pp. 295–310). New York, NY: Springer.
- Reilly, S. M., & Elias, J. A. (1998). Locomotion in *Alligator mississippiensis*: Kinematic effects of speed and posture and their relevance to the sprawling-to-erect paradigm. *Journal of Experimental Biology*, 201(18), 2559–2574.
- Revell, L. J. (2012). Phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution*, 3(2), 217–223.
- de Ricqlès, A., & de Buffrénil, V. (2001). Bone histology, heterochronies and the return of tetrapods to life in water: Where are we? In *Secondary adaptation of Tetrapods to life in water* (pp. 289–310). Germany: Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München.
- Roux, W. (1885). Beiträge zur Morphologie der funktionellen Anpassung. *Archives of Anatomy and Physiology*, 9, 120–185.
- Ruddock, L. (2000). *Social structure of the lizard, Cordylus giganteus* (Doctoral dissertation). Stellenbosch University, Stellenbosch.
- Russell, A. P., & Bels, V. (2001). Biomechanics and kinematics of limb-based locomotion in lizards: Review, synthesis and prospectus. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 131(1), 89–112.
- Ryan, T. M., & Ketcham, R. A. (2002a). The three-dimensional structure of trabecular bone in the femoral head of strepsirrhine primates. *Journal of Human Evolution*, 43(1), 1–26.
- Ryan, T. M., & Ketcham, R. A. (2002b). Femoral head trabecular bone structure in two omomyid primates. *Journal of Human Evolution*, 43(2), 241–263.
- Ryan, T. M., & Ketcham, R. A. (2005). Angular orientation of trabecular bone in the femoral head and its relationship to hip joint loads in leaping primates. *Journal of Morphology*, 265(3), 249–263.
- Ryan, T. M., & 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.
- Ryan, T. M., & Shaw, C. N. (2013). Trabecular bone microstructure scales allometrically in the primate humerus and femur. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 280(1758), 20130172.
- Ryan, T. M., & Shaw, C. N. (2014). Gracility of the modern *Homo sapiens* skeleton is the result of decreased biomechanical loading. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(2), 372–377.
- Ryan, T. M., & Walker, A. (2010). Trabecular bone structure in the humeral and femoral heads of anthropoid primates. *The Anatomical Record*, 293(4), 719–729.
- Scherf, H., Harvati, K., & Hublin, J. J. (2013). A comparison of proximal humeral cancellous bone of great apes and humans. *Journal of Human Evolution*, 65(1), 29–38.
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., ... Cardona, A. (2012). Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 676–682.
- Schuetz, G. W., Reiserer, R. S., & Earley, R. L. (2009). The evolution of bipedal postures in varanoid lizards. *Biological Journal of the Linnean Society*, 97(3), 652–663.
- Shaffer, H. B., McCartney-Melstad, E., Near, T. J., Mount, G. G., & Spinks, P. Q. (2017). Phylogenomic analyses of 539 highly informative loci dates a fully resolved time tree for the major clades of living turtles (Testudines). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 115, 7–15.
- Snyder, R. C. (1949). Bipedal locomotion of the lizard *Basiliscus basiliscus*. *Copeia*, 1949(2), 129–137.
- Sode, M., Burghardt, A. J., Nissensohn, R. A., & Majumdar, S. (2008). Resolution dependence of the non-metric trabecular structure indices. *Bone*, 42(4), 728–736.
- Stearns, B. C. (1989). The captive status of the African spurred tortoise *Geochelone sulcata*: Recent developments. *International Zoo Yearbook*, 28(1), 87–98.
- Trillmich, K. G., & Trillmich, F. (1986). Foraging strategies of the marine iguana, *Amblyrhynchus cristatus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 18(4), 259–266.
- Urban, E. K. (1965). Quantitative study of locomotion in teiid lizards. *Animal Behaviour*, 13(4), 513–529.
- Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2002). *Modern applied statistics with S* (4th ed.). New York: Springer.
- Vitt, L. J., & Caldwell, J. P. (2014). *Herpetology: An introductory biology of amphibians and reptiles*. Norman, Oklahoma: University of Oklahoma Press.

- Volpato, V., Viola, T. B., Nakatsukasa, M., Bondioli, L., & Macchiarelli, R. (2008). Textural characteristics of the iliac-femoral trabecular pattern in a bipedally trained Japanese macaque. *Primates*, *49*(1), 16–25.
- Wilms, T., & Böhme, W. (2007). Review of the taxonomy of the spiny-tailed lizards of Arabia (Reptilia: Agamidae: Leiolepidinae: *Uromastyx*). *Fauna of Arabia*, *23*, 435–468.
- Wilson, S. K., & Swan, G. (2013). *A complete guide to reptiles of Australia*. Australia: New Holland.
- Wyneken, J., Godfrey, M. H., & Bels, V. (2008). *Biology of Turtles*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Zheng, Y., & Wiens, J. J. (2016). Combining phylogenomic and supermatrix approaches, and a time-calibrated phylogeny for squamate reptiles (lizards and snakes) based on 52 genes and 4162 species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *94*, 537–547.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Plasse M, Amson E, Bardin J, Grimal Q, Germain D. Trabecular architecture in the humeral metaphyses of non-avian reptiles (Crocodylia, Squamata and Testudines): Lifestyle, allometry and phylogeny. *Journal of Morphology*. 2019; 280:982–998. <https://doi.org/10.1002/jmor.20996>

Chapitre 2

Méthode d'estimation des charges articulaires : méthodologie

2.1 Introduction

Ce chapitre s'intéresse à une méthode récemment développée par Christen et al. (2012, 2015). Celle-ci permet d'estimer les chargements articulaires, à partir d'un modèle d'éléments finis, provenant d'une micro-structure osseuse donnée. Cependant, cette technique comporte encore un certain nombre de biais non résolus, liés notamment aux zones de fixation du modèle et à l'application des cas de charge. Les analyses, à travers différents tests exploratoires, vont tenter d'apporter des solutions à ces problèmes.

2.1.1 La méthode des éléments finis

Avant de décrire le fonctionnement de l'algorithme d'estimation des charges, il est nécessaire d'expliquer la méthode des éléments finis. La méthode des éléments finis est une technique permettant de reconstruire les contraintes et les déformations sur une structure numérique (Rayfield 2007). Une structure complexe continue est découpée en une série de problèmes discrets, qui peuvent être facilement résolus par une analyse mathématique. Bien sûr, cela ne donne pas une résolution exacte du problème, mais on obtient une solution approchée assez fiable. Bien que cette méthode soit utilisée depuis plus de 40 ans en ingénierie et en chirurgie orthopédique, ses applications en zoologie et en paléontologie ont commencé dans les années 90.

A partir d'un système d'intérêt comme un fémur, une structure numérique est créée en utilisant la segmentation 3D (Figure 2.1, A). Cette structure d'intérêt correspond à un continuum avec un nombre infini de degrés de liberté (Rayfield 2007). Au cours de la discrétisation (Figure 2.1, B), la structure est divisée en un nombre fini de sous-régions discrètes, appelées éléments, qui sont reliées entre elles par des nœuds. Cet ensemble d'éléments et de nœuds constitue un maillage d'éléments finis. Des informations supplémentaires doivent être renseignées dans le modèle (Figure 2.1, C), telles que des propriétés mécaniques des matériaux assignées aux différents éléments, mais aussi des charges virtuelles (flèche rouge, Figure 2.1) et des points de fixation (triangles verts, Figure 2.1). Ces charges et ces fixations constituent les conditions aux limites. Enfin, l'analyse en éléments finis est effectuée (Figure 2.1, D). On extrait des représentations graphiques, qui montrent les amplitudes de contraintes et les déplacements, ainsi que des données quantitatives (densités d'énergie de déformation, contraintes de Von Mises...)

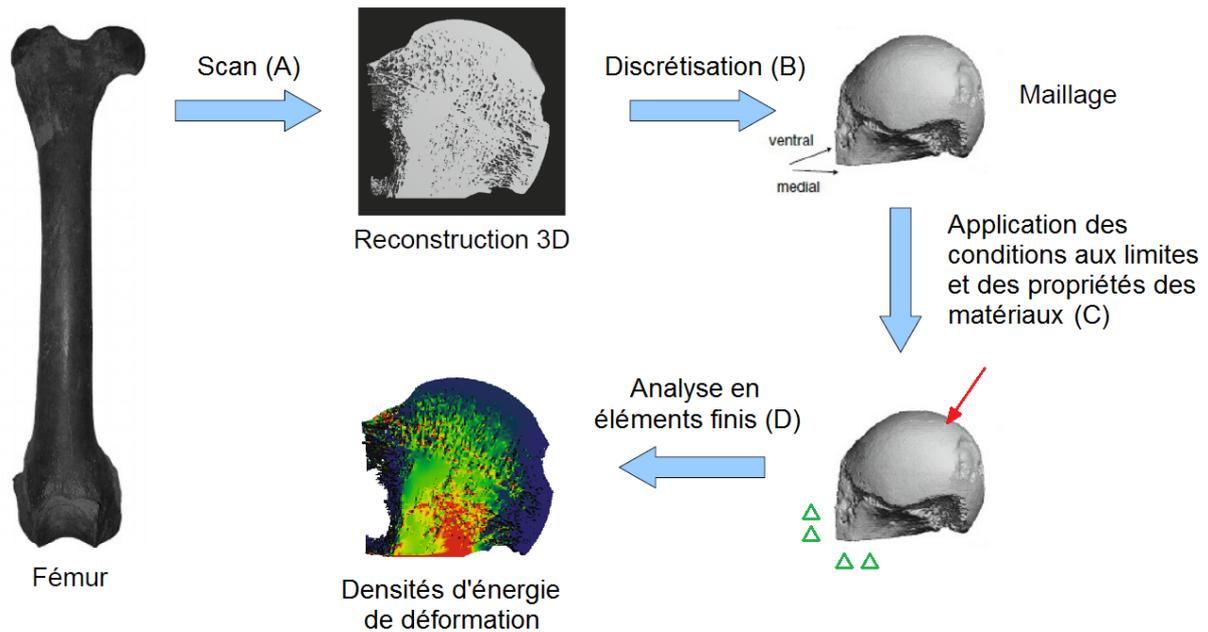


FIGURE 2.1 – Description d’une analyse en éléments finis à partir d’un fémur de lion des cavernes *Panthera leo spelaea*. Une charge est appliquée (flèche rouge) et des points de fixation sont déterminés (triangles verts). Modifiée d’après Diedrich & Rathgeber (2012) et Christen et al. (2015).

2.1.2 Propriétés mécaniques

Afin de pouvoir effectuer des analyses en éléments finis, il est donc indispensable de connaître deux propriétés mécaniques : le module de Young et le coefficient de Poisson.

- **Module de Young (E)** : Cette valeur correspond à la rigidité du matériel sous des conditions de chargement normal de tension ou de compression (Martin et al. 1998). Les valeurs pour l’os sont de l’ordre du gigapascals (GPa). Cette valeur est différente selon le taxon choisi, mais les modules de Young sont également différents entre les os d’une même espèce (Tableau 2.1).

- **Coefficient de Poisson (ν)** : Quand une structure subit un chargement en tension, elle devient plus longue dans la direction chargée et se raccourcit dans les directions transversales. Le ratio entre le rétrécissement transversal et l’allongement longitudinal définit le coefficient de Poisson (Martin et al. 1998). Les valeurs typiques pour l’os sont généralement de 0,3.

Dans les tests méthodologiques suivants, les valeurs des propriétés mécaniques utilisées étaient généralement les mêmes, que celles appliquées pour les fémurs mammaliens dans Christen et al. (2015) : un module de Young de 10 GPa et un coefficient de Poisson de 0,3. D’autres valeurs plus proches des os et des taxons choisis, comme celle de l’humérus de *Geochelone* (Tableau 2.1) pourraient être également employées. Cependant, l’objectif principal des expériences suivantes est de tester l’effet d’un paramètre, en le modifiant ou en le supprimant. En utilisant différents modules de Young, l’algorithme d’estimation des charges modifie uniquement l’amplitude des cas de charge, en les pondérant toutes par

TABLEAU 2.1 – Modules de Young (en GPa) pour différents os longs de tétrapodes

Taxon	Os	Module de Young	Référence
Crocodylia <i>Alligator</i>	Femur	11,9 - 12,3	Currey (1987)
Lissamphibia <i>Ambystoma</i>	Femur	18,1	Erickson (2002)
<i>Cryptobranchus</i>	Femur	22,3	Erickson (2002)
Squamata <i>Varanus</i>	Femur	22,8	Erickson (2002)
Testudines <i>Geochelone</i>	Femur	9,2 - 16,4	Currey (1987)
<i>Geochelone</i>	Fibula	10,7 - 15,2	Currey (1987)
<i>Geochelone</i>	Humerus	10,4	Currey (1987)
<i>Geochelone</i>	Tibia	12,5 - 14,1	Currey (1987)

une même valeur (Synek et al. 2018). Dans ces analyses, on s'intéresse principalement aux patrons de chargement obtenus, qui seront les mêmes qu'importe la valeur du module de Young.

2.1.3 La naissance de l'algorithme d'estimation des charges : hypothèse et objectif

L'hypothèse sous-jacente de cet algorithme est que l'os adapte sa microstructure interne en réponse au chargement local, afin d'atteindre un chargement uniforme du tissu osseux (Christen et al. 2012). La structure osseuse observée est le résultat d'un mécanisme de remodelage : l'os est ajouté ou résorbé. L'ajout et la résorption s'égalisent dans le cas où le stimulus mécanique local atteint un certain équilibre. Ainsi, l'histoire de chargement (c'est à dire, tous les chargements auxquels l'animal a été soumis au cours de sa vie) la plus probable est celle qui se rapproche au mieux de ce niveau d'équilibre de remodelage dans l'os entier.

L'ensemble de l'os devrait être chargé uniformément, produisant une morphologie qui est optimisée pour l'histoire de chargement externe auquel il est soumis (Christen et al. 2012). Bien sûr, la morphologie osseuse est aussi influencée par d'autres facteurs comme l'homéostasie du calcium, l'ontogénie ou la phylogénie. Par conséquent, le tissu osseux ne sera pas chargé de manière parfaitement uniforme.

A partir de cette hypothèse et d'une microarchitecture osseuse donnée, on pourrait retrouver l'histoire du chargement, c'est-à-dire un ensemble de forces externes produisant un chargement uniforme au sein de cette microarchitecture. Le but de cet algorithme est donc d'estimer les chargements articulaires à partir de l'architecture osseuse.

Ce concept avait déjà été exploré dans des études précédentes utilisant des modèles continus d'éléments finis et prenant en compte uniquement la densité osseuse. Fischer et al. (1995) ont développé une approche dans laquelle l'amplitude d'un ensemble de charges plausibles est optimisée pour une contrainte uniforme du tissu osseux. Comme ces modèles continus ne pouvaient pas modéliser l'architecture trabéculaire, les estimations n'ont été calculées qu'à partir du continuum de contraintes et de la densité osseuse. Par la suite, ces

approches ont été appliquées au fémur proximal humain et ont pu déterminer des cas de chargement en accord avec les données expérimentales publiées (Fischer et al. 1998, 1999). Une approche similaire a été utilisée pour prédire les forces de contact dans l'articulation coxo-fémorale avec une fonction linéaire basée sur la densité osseuse (Bona et al. 2006). Néanmoins, ces approches étaient utilisées sur des modèles en deux dimensions basés sur la densité osseuse, les empêchant ainsi de prédire des conditions de chargement plus complexes.

2.1.4 Algorithme d'estimation des charges

Cette hypothèse d'homogénéité du chargement a été traduite mathématiquement dans l'équation suivante :

$$U(\mathbf{x}) - k = 0 \quad (2.1)$$

Le chargement osseux est quantifié en terme de densité d'énergie de déformation, notée U (en anglais, strain energy density, SED). C'est une valeur scalaire définie pour chaque élément fini, qui mesure la quantité d'énergie élastique stockée dans cet élément. Dans le modèle d'éléments finis, il y a donc une valeur U pour chaque élément fini de coordonnée \mathbf{x} . Une valeur d'équilibre physiologique de la SED locale est également définie, notée k .

La valeur d'équilibre physiologique k est fixée à 0,02 MPa. Cette valeur a été déterminée expérimentalement et correspond à la densité moyenne d'énergie de déformation mesurée à proximité des ostéocytes, qui varie de 0 à 0,045 MPa (Mullender & Huiskes 1995).

Si on généralise l'équation (2.1) à l'ensemble du modèle d'éléments finis, on obtient l'équation (2.2), où V est le volume osseux du modèle (La somme des carrés des écarts sur tout le volume permet de quantifier le caractère plus ou moins homogène du modèle.) :

$$\delta = \int \left[\sum_{i=1}^n U(\mathbf{x}) - k \right]^2 dV \quad (2.2)$$

Ainsi, si pour chaque élément fini \mathbf{x} du modèle, la densité d'énergie de déformation $U(\mathbf{x})$ est égale à la valeur d'équilibre k , le chargement sera complètement homogène à l'intérieur du modèle étudié. L'objectif de l'algorithme d'estimation des charges est donc de trouver la combinaison de cas de charge, donnant lieu à un chargement $U(\mathbf{x})$, qui rend δ minimal.

On va chercher le cas où le chargement sera le plus uniforme possible et minimisera les résidus. Avec ce problème d'optimisation (2.3, Christen et al. 2015), on peut trouver pour chaque cas de charge i , les facteurs d'échelle s_i minimisant les résidus $r(s_i)$:

$$\min_{s_i} r(s_i) = \int \left[\sum_{i=1}^n [s_i U_i(\mathbf{x})] - k \right]^2 dV \quad (2.3)$$

Ensuite, l'amplitude α_i de chaque cas de charge est déterminée avec l'équation (2.3) à partir de son facteur d'échelle s_i (calculé dans l'équation (2.3)) et de la force initiale F_{unit} , définie préalablement dans l'analyse en éléments finis.

$$\alpha_i = \sqrt{s_i} F_{unit} \quad (2.4)$$

2.1.5 Tests exploratoires sur des vertèbres de souris

L'algorithme d'estimation des charges de Christen et al. (2012) a été utilisé à l'origine sur des vertèbres caudales de souris. L'objectif était de comparer deux groupes dont les vertèbres avaient été chargées différemment et d'analyser ensuite les résultats fournis par l'algorithme. Les premières avaient subi une compression axiale sur la sixième vertèbre caudale de 8N, les secondes correspondant au groupe témoin, n'avaient reçu aucun chargement supplémentaire.

Ces vertèbres ont permis de générer des modèles d'éléments finis, où chaque voxel a été converti en un élément cubique. Pour chaque modèle d'éléments finis, certains paramètres doivent être spécifiés avant l'analyse. Les propriétés isotropiques linéaires élastiques de chaque matériau sont définies, telles que le module de Young et le coefficient de Poisson (ici fixé à 10 GPa et à 0,3 respectivement, qui sont les valeurs traditionnellement utilisées pour l'os). A chaque extrémité de vertèbre, une couche cartilagineuse a été ajoutée pour représenter les disques intervertébraux (avec un module de Young de 10 MPa et un coefficient de Poisson de 0,3).

Des cas de charge plausibles ont été appliqués successivement sur les extrémités des disques intervertébraux de ces modèles. Chaque cas de charge était représenté par une ou plusieurs force(s) externe(s), agissant simultanément avec une direction et une amplitude données (Figure 2.2). Chaque cas de charge était supposé agir un certain nombre de fois par jour m_i et a donc été pondéré par une durée de chargement journalière m_i/m_{tot} (où m_{tot} est le nombre total de cycles de chargement pour l'ensemble des cas de charge). Ici, le facteur d'échelle du cas de charge s_i représente l'effet combiné de sa durée de chargement journalière m_i/m_{tot} et de son amplitude α_i , par l'équation $s_i = \alpha_i^2 \cdot m_i/m_{tot}$. Il est donc possible de retrouver l'amplitude α_i à partir des deux autres paramètres.

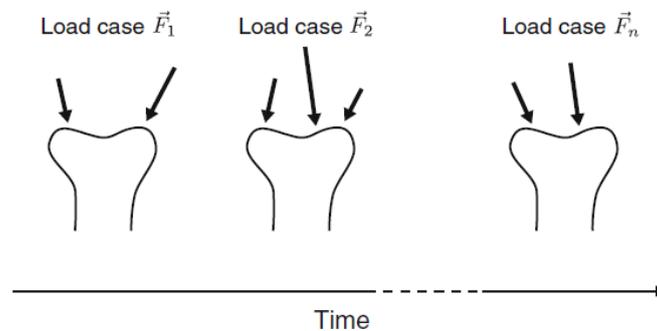


FIGURE 2.2 – Histoire de chargement journalière représentée par un nombre limité de n cas de charge F_i , qui sont appliqués consécutivement sur l'os. Chaque flèche représente une charge avec sa direction et son amplitude. D'après Christen et al. (2012).

Après avoir défini ces cas de charge, les analyses d'éléments finis ont été effectuées pour calculer les SEDs de tous les éléments pour tous les cas de charge (Figure 2.3). Les facteurs d'échelle s_i de chaque cas de charge ont ensuite été calculés par un algorithme d'optimisation des moindres carrés. Après optimisation, afin de quantifier l'homogénéité du chargement local dans le tissu, un coefficient de variation ($CV = \text{Écart-type}_{SED} / \text{Moyenne}_{SED}$) de la distribution des SED a été calculé.

Les facteurs d'échelle ont été calculés pour chaque cas de charge afin d'obtenir un

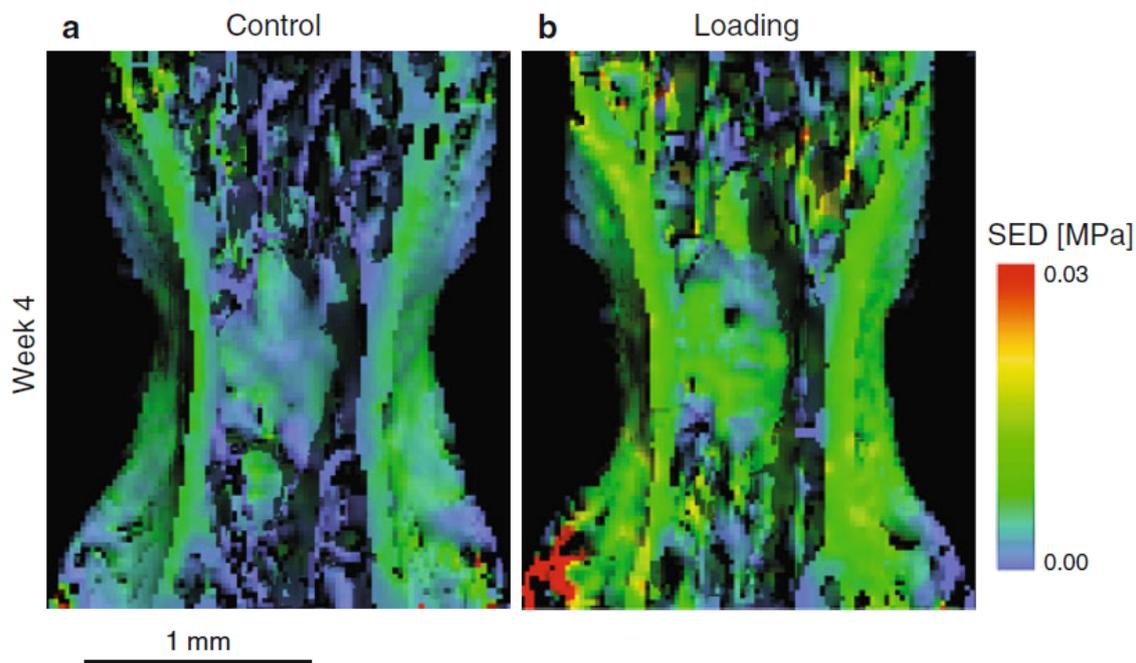


FIGURE 2.3 – Distribution des SED dans les vertèbres caudales de souris, chargées in vivo par 0 N (groupe témoin, a) ou par 8 N (groupe chargé, b). D’après Christen et al. (2012).

chargement uniforme du tissu quand tous les cas de charge mis à l’échelle sont appliqués simultanément. Avant de commencer l’expérience de compression vertébrale, l’algorithme avait détecté le même facteur d’échelle pour les deux groupes ($s_z=16.0$). Après quatre semaines d’expérimentation, l’algorithme a trouvé un facteur d’échelle plus important chez le groupe chargé ($s_z=66.8$) que chez le groupe témoin ($s_z=29.7$). En revanche, les facteurs d’échelle liés à la torsion et à la flexion sont restés inchangés.

Après quatre semaines d’expérimentation, de fortes valeurs du coefficient de variation ont été calculées pour le groupe témoin ($CV=67.12\%$) et pour le groupe chargé ($CV=68.69\%$). Plusieurs phénomènes pourraient expliquer ces valeurs importantes d’inhomogénéité. Les cas de charges ne sont peut-être pas assez diversifiés, alors que d’autres incluant les forces exercées par les ligaments et les muscles sur les processus, pourraient être ajoutés. Il est aussi possible que des facteurs génétiques puissent jouer un rôle important dans le développement de l’os et que l’os ne soit en fait que partiellement adapté aux conditions de chargement. D’autres facteurs biologiques comme l’homéostasie du calcium ou des hormones pourraient également intervenir.

L’algorithme a pu détecter une histoire de chargement différente entre les deux groupes et calculer une amplitude de charge en accord avec le chargement appliqué chez le groupe chargé. Pendant la durée de l’expérience, les forces calculées chez le groupe chargé ont augmenté, révélant une adaptation de l’os par une augmentation du volume osseux. Les forces calculées ont également augmenté chez le groupe témoin de manière inattendue, indiquant que l’animal était toujours en cours de croissance.

Cette étude prouve que l’algorithme est très sensible aux chargements externes et qu’il est capable de détecter une différence de chargement entre deux échantillons, en accord

avec les données déjà disponibles, ainsi qu'une différence de chargement sur un même os à quelques semaines d'intervalle.

2.1.6 Estimation des chargements articulaires à partir de têtes fémorales de mammifères

Bien que l'algorithme d'estimation des charges articulaires ait été généré dans l'article précédent (Christen et al. 2012), l'étude présentée ici (Christen et al. 2015) constitue réellement l'idée directrice de ce chapitre. Ici, les auteurs cherchent à reconstituer le patron du chargement articulaire sur le fémur proximal à partir de la micro-structure osseuse de la tête fémorale.

L'algorithme a été appliqué sur des têtes fémorales provenant de deux humains (un sain et un ostéoporotique) et d'un chien. Les résultats sont comparés directement aux forces mesurées in vivo par des prothèses instrumentées chez d'autres sujets. L'algorithme a été également utilisé sur un taxon éteint du Pleistocène, le lion des cavernes *Panthera leo spelaea*, pour prédire son patron de chargement. Pour ces quatre spécimens, uniquement la tête et le col du fémur ont été scannés et transformés en modèles d'éléments finis. Bien que la zone d'intérêt soit relativement restreinte, ces modèles comportent tout de même entre 26 et 43 millions d'éléments finis (Figure 2.4).

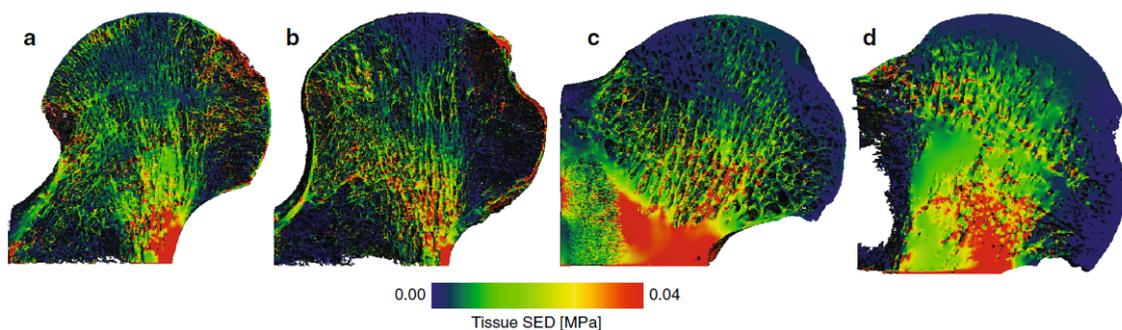


FIGURE 2.4 – Distribution du chargement au niveau microscopique représentée par les densités d'énergie de déformation chez un humain sain (a), un humain ostéoporotique (b), un chien (c) et un lion des cavernes (d). Les distributions sont déterminées à partir du chargement calculé et représentent les meilleures distributions uniformes, selon la procédure d'optimisation. D'après Christen et al. (2015).

Pour l'étude précédemment décrite sur les vertèbres de souris (Christen et al. 2012), la majorité du chargement était directement transmis au niveau des disques intervertébraux. Cela permettait d'appliquer des forces et des moments sur ces disques cartilagineux dans toutes les directions envisageables et d'avoir un maximum de conditions de chargement physiologiques possibles avec un petit nombre de cas de charges. En revanche, pour des situations plus complexes, comme celui d'un fémur proximal, les charges doivent être définies différemment. Puisque les forces agissent perpendiculairement à la surface articulaire, un plus grand nombre de charges unitaires doit être défini et celles-ci doivent être distribuées uniformément sur la surface des articulations complexes. Ainsi, pour ces têtes

fémorales, les charges unitaires étaient normales à la surface articulaire et distribuées de façon homogène pour couvrir l'ensemble des chargements physiologiquement possibles. Plus de trente cas de charges, chacun représentant une résultante de force externe, ont donc été définis et appliqués.

Les propriétés du tissu étaient les mêmes que dans le cas de la vertèbre de souris : un module de Young fixé à 10 GPa et un coefficient de Poisson de 0,3. L'algorithme était le même que celui de Christen et al. 2012, mais la pondération par la durée de chargement journalière, précédemment définie par m_i/m_{tot} , a été supprimée de l'analyse, les auteurs supposant que, dans le cadre de cette étude, les cas de charge agissaient avec la même durée.

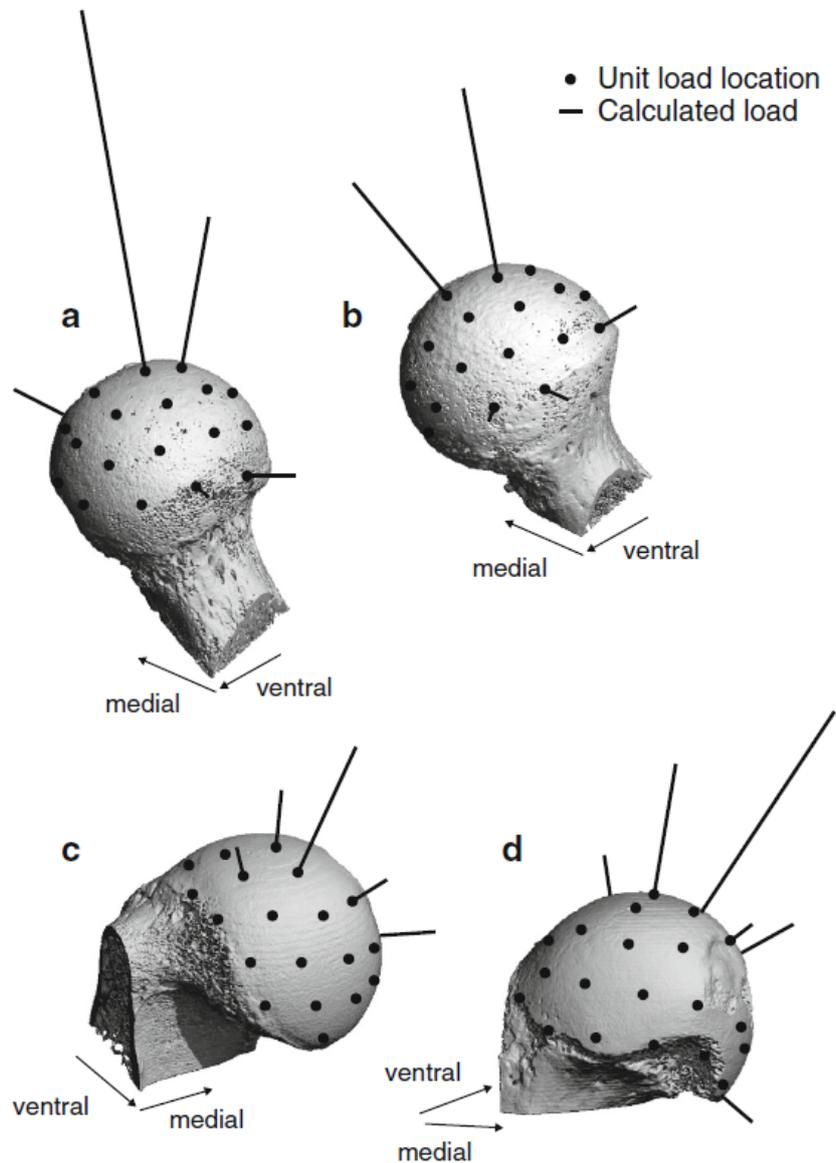


FIGURE 2.5 – Patrons de chargements articulaires calculés pour les têtes fémorales chez un humain sain (a), un humain ostéoporotique, (b), un chien (c) et un lion des cavernes (d). D'après Christen et al. (2015).

Les calculs sont en accord avec les mesures *in vivo* de la marche pour les espèces actuelles, montrant des patrons différents pour la bipédie et la quadrupédie. Pour les humains, les forces principales (avec la plus forte amplitude) sont localisées sur l'extrémité proximale des têtes fémorales (Figure 2.5, a et b). Quelques forces plus faibles (de l'ordre du dixième de l'amplitude des forces principales) ont été calculées sur les bords médial et latéral, mais ne sont pas en accord avec les mesures *in vivo*. Ces dernières ne sont pas capables de prendre en compte de telles forces, car elles fournissent uniquement la force résultante. Les amplitudes de forces calculées pour un humain sain sont presque deux fois plus élevées que celles de l'humain ostéoporotique, ce qui est en accord avec la différence de densité osseuse.

Chez le chien et le lion des cavernes, les forces principales commencent proximale et se propagent médialement (Figure 2.5, c et d). Cette répartition des forces sur la surface fémorale est caractéristique de la quadrupédie, alors qu'elles sont concentrées essentiellement sur la partie proximale chez les humains. Contrairement au chien, les forces estimées du lion des cavernes montrent des amplitudes plus diverses et un pic principal se distinguant plus nettement des autres forces. Ceci suggère un comportement plus diversifié que le chien, plutôt en accord avec celui des félinés actuels.

Cette étude montre qu'il est possible de déterminer les patrons de chargement à partir de micro-structures osseuses actuelles et fossiles. Ceci est particulièrement utile chez des spécimens où des mesures directes de forces sont impossibles, mais où les travées osseuses sont toujours présentes. De plus, l'algorithme semble capable de différencier les chargements des organismes bipèdes et quadrupèdes, ainsi que d'inférer la locomotion chez des espèces éteintes.

2.2 Historique des recherches liées à cette méthode

Bien que cette méthode d'estimation des charges ait été mise au point récemment, un rapide historique peut être effectué, afin de mettre en évidence les biais possibles qui ont déjà pu être identifiés. Cette section présente donc les différents articles scientifiques, qui ont utilisé cette technique.

2.2.1 Christen et al. (2013a). Subject-specific bone loading estimation in the human distal radius

Dans cette étude, les auteurs veulent savoir si leurs prévisions (forces et moments) sont réalistes pour la section scannée de radius distal et comment ces forces et moments prédits devraient être distribués dans la section scannée, afin d'obtenir un transfert de charge similaire à celui *in situ*.

Neuf radius distaux ont été scannés et convertis en modèles d'éléments finis. Pour chaque radius, des modèles entiers et des modèles cliniques (régions transversales avec une couche épaisse de 3 voxels ajoutée à chaque extrémité) ont été générés (Figure 2.6). Les moments et les forces articulaires radio-lunaires et radio-scaphoïdes ont ainsi pu être estimés avec une direction orthogonale au centre de la zone de contact pour chacun des neuf sujets.

Les forces et moments prédits aux limites de la région scannée varient considérablement, mais ils restent en accord avec les valeurs reportées dans la littérature quand ils

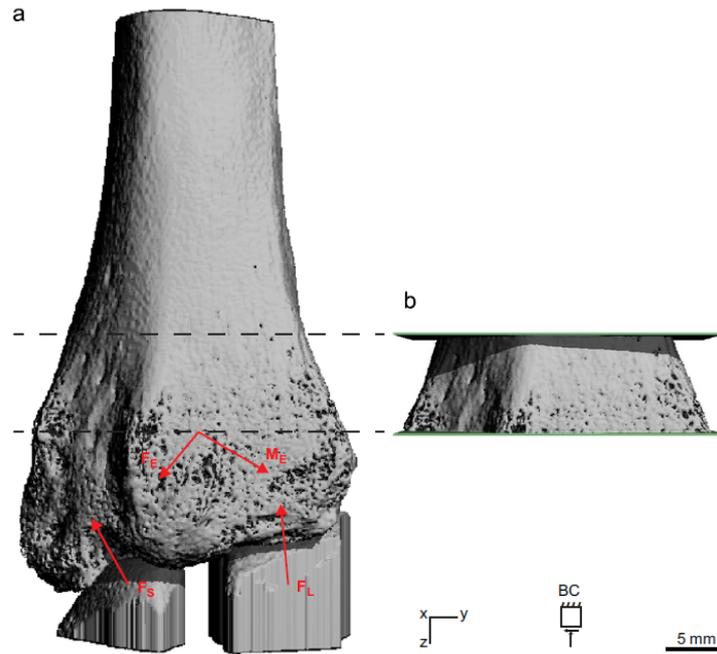


FIGURE 2.6 – Modèle entier du radius distal (a) incluant les vecteurs de chargement pour les forces et les moments estimés (F_E et M_E), la force radio-scaphoïde (F_S) et la force radio-lunaire (F_L). Le modèle clinique (b) est représenté par la région transversale habituellement mesurée en examens cliniques. Les conditions aux limites ont été appliquées sur les couches ajoutées aux deux extrémités du modèle clinique (BC). D’après Christen et al. (2013a).

sont convertis et traduits en forces articulaires radiocarpennes équivalentes. Les forces articulaires les plus élevées ont été prédites pour des sujets avec une forte fraction volumique osseuse (BV/TV) et une corticale épaisse, alors que les forces articulaires les plus faibles ont été prédites pour une fraction volumique osseuse faible et une corticale fine. La fraction volumique osseuse est donc bien corrélée avec les forces articulaires radio-lunaires ($R^2=60\%$) et radio-scaphoïdes ($R^2=66\%$).

Néanmoins, la principale limitation de cette étude est qu’une seule gamme de forces publiée dans la littérature était disponible pour valider les charges estimées. Aucune donnée de force musculaire à propos des donneurs n’était disponible. Aucune information n’existe décrivant les forces sur le radius pendant un cycle journalier de chargement. Uniquement les forces articulaires distales ont été prises en compte, les forces liées aux tendons, aux ligaments et aux muscles ont été ignorées.

Cette étude montre que l’algorithme produit également des prévisions réalistes en accord avec les données de la littérature pour le radius distal. Étant donné que cette méthode est déjà utilisée sur des fémurs proximaux et sur des vertèbres, elle semble capable de donner des résultats cohérents sur n’importe quel os.

2.2.2 Christen et al. (2013b). Validation of a bone loading estimation algorithm for patient-specific bone remodelling simulations

Dans une étude précédente (Christen et al. 2012), les auteurs ont suggéré, à travers un fort indice d’inhomogénéité (69%), que la vertèbre caudale de la souris était seulement partiellement adaptée aux chargements mécaniques. Cela pourrait indiquer un os en cours d’adaptation ou une microarchitecture osseuse déterminée par d’autres facteurs que des chargements mécaniques. De plus, les animaux avec une histoire de chargement commune montraient pourtant une architecture trabéculaire différente, qui pourrait être due à la nature stochastique du processus de remodelage osseux (par exemple, formation/résorption aléatoire d’os pour maintenir l’homéostasie du calcium) ou à des variations génétiques.

Dans cette étude, les auteurs tentent de valider l’algorithme d’estimation des charges pour un environnement bien contrôlé et pour des conditions de chargement plus compliquées. Leur échantillonnage est composé de microarchitectures synthétiques, provenant de simulations de remodelage osseux.

Leur premier but est de tester sa précision pour des structures d’os partiellement et entièrement adaptés, en comparant les conditions de chargement prédites par l’algorithme avec celles appliquées pendant les simulations de remodelage. Leur second but était d’étudier si les prédictions de l’algorithme sont affectées par des différences de microarchitectures, possiblement causées par de la formation/résorption aléatoire d’os ou par des variations génétiques, bien que les os aient été soumis à la même histoire de chargement commune.

Les histoires de chargement basées sur des structures entièrement adaptées ont été prédites avec une erreur maximale de 4.4% et celles sur des structures partiellement adaptées avec une erreur maximale de 7.0%. Néanmoins, les structures test entièrement adaptées montrent une forte inhomogénéité de 43% au niveau de la SED dans tout l’os (69% pour les structures partiellement adaptées).

Les prédictions de l’algorithme ne sont pas affectées significativement par des différences de microarchitecture osseuse liées à la nature stochastique de remodelage osseux (erreur maximale de 2.8%) ou liées à des variations génétiques (erreur maximale de 3.5%).

Cette étude montre que les résultats extraits par l’algorithme sont principalement déterminés par les chargements externes. Des variations d’ordre génétique ou dues à la nature stochastique du remodelage osseux semblent donc négligeables chez les humains.

2.2.3 Christen et al. (2014). Bone remodelling in humans is load-driven but not lazy

Pour prédire le remodelage osseux, il a été proposé que l’os était enlevé au-dessous de certains seuils de chargement de tissu et ajouté au-dessus d’autres seuils. Dans la zone entre ces seuils, appelée “lazy zone”, aucun changement significatif de masse osseuse ne se produirait. Dans cette étude, les auteurs tentent de vérifier la présence de cette “lazy zone” chez les humains. Alors que les expériences animales soutiennent que le remodelage osseux serait lié aux chargements mécaniques, la preuve de cette relation à l’échelle microscopique est encore absente chez les humains.

Leur échantillonnage était basé sur des images de μ CT-scans in vivo (issues d’un suivi de deux ans) de tibias de femmes saines ménopausées afin d’exclure la croissance, la

guérison ou d'autres biais possibles. Des modèles d'éléments finis ont été générés à partir de ces images et l'algorithme d'estimation des charges a permis de déterminer l'histoire du chargement externe et des changements microstructuraux.

Les sites de remodelage osseux sont fortement corrélés au chargement mécanique, selon une forte relation linéaire sans la présence de cette 'lazy zone', similairement aux résultats trouvés dans les expériences animales. Ceci conforte l'idée d'un remodelage osseux induit principalement par les forces externes chez les humains, mais aussi influencé par d'autres mécanismes tels que l'homéostasie du calcium.

Cette étude permet d'affirmer un lien fort entre le remodelage osseux et les chargements externes, ainsi que de renforcer l'idée d'une généralisation possible de l'algorithme à d'autres os.

2.2.4 Christen et al. (2016). Voxel size dependency, reproducibility and sensitivity of an in vivo bone loading estimation algorithm

L'objectif de cette étude est de déterminer l'effet de différents paramètres sur l'algorithme d'estimation des charges, à partir de scans de radius distaux. L'influence de la taille des voxels a pu être testée en réduisant successivement la résolution des scans originaux. L'algorithme est indépendant de la résolution à 61 μm , mais devient considérablement dépendant à une résolution supérieure à 82 μm .

La reproductibilité a été calculée par des mesures de scans répétées des mêmes spécimens in vitro et in vivo. La reproductibilité in vitro et in vivo est comparable aux autres études in vitro et légèrement supérieure aux études in vivo (parce que l'algorithme semble sensible aux faibles différences de fraction volumique osseuse).

La sensibilité a été comparée entre des scans de femmes avec ou sans fracture (prévision d'une histoire de chargements similaire) et avec une faible ou une forte fraction volumique osseuse (prévision d'une histoire de chargements différente). Les sujets avec une fraction volumique osseuse différente sont clairement différenciés, contrairement aux sujets avec et sans fracture.

Cet algorithme fournit donc des résultats reproductibles, sensibles et plutôt indépendant de la résolution jusqu'à 82 μm (une résolution de 61 μm est conseillée).

Cette étude exclut plusieurs biais possibles de l'algorithme. Celui-ci est reproductible, car des scans in vitro ou in vivo du même spécimen offrent les mêmes résultats. Il est suffisamment sensible pour détecter des différences ou des similarités d'histoire de chargement entre spécimens. La résolution n'a aucune influence sur les résultats de l'algorithme, dès lors qu'une résolution minimum de 82 μm est obtenue.

2.2.5 Synek & Pahr (2018). Plausibility and parameter sensitivity of micro-finite element-based joint load prediction at the proximal femur

Cette étude est une analyse approfondie de l'algorithme d'estimation des charges. Leur échantillonnage est composé de modèles d'éléments finis générés à partir de dix fémurs proximaux provenant de différents sujets humains. Quatre cas de charges uniformément

distribués ont été appliqués sur la tête fémorale dans le plan frontal, avec un angle normal à la surface articulaire.

Leur premier objectif est d'analyser la sensibilité des prédictions de charges articulaires pour un fémur proximal, en faisant varier séparément neuf paramètres par rapport à une configuration de référence où les autres paramètres restent constants (Figure 2.7). L'influence de la segmentation a pu être testée en faisant varier le seuillage de niveau de gris. D'autres modifications ont été effectuées au niveau des cas de charge : la distribution de leurs angles (parallèles avec une distribution uniforme ou parallèle avec une distribution ellipsoïdale), le nombre de cas de charges (4, 7 ou 13), leurs localisations sur la surface articulaire (avec une rotation de +/- 10 %) et la taille de la surface chargée. Le module de Young, l'élasticité du cartilage et la valeur cible physiologique pour la SED locale ont également été modifiés. Enfin, la taille de la région d'intérêt (ROI) des SED incluses dans l'optimisation a été réduite.

Toutes les différentes configurations montrent la même prédiction : une charge maximale à 20 ° d'inclinaison par rapport à l'axe maximal avec des amplitudes de charge diminuant vers les bords de la surface articulaire (Figure 2.7). En revanche, ce patron n'est

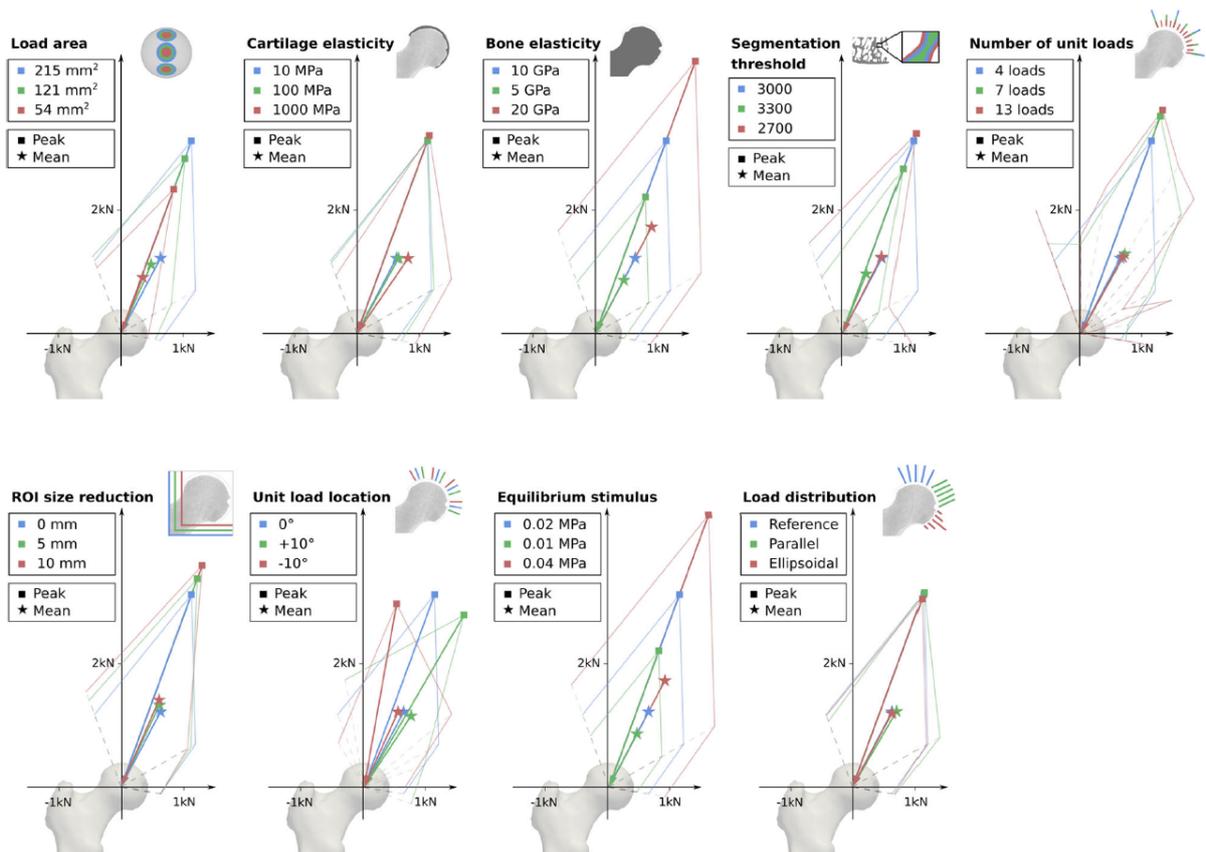


FIGURE 2.7 – Résultats de l'étude de sensibilité des paramètres. Les prédictions de chargement d'un spécimen avec les paramètres de référence (en bleu) sont comparées avec les résultats de deux variations du paramètre (en vert et en rouge). Les carrés et les étoiles indiquent des pics et les moyennes des vecteurs de chargement articulaire. D'après Synek & Pahr 2018.

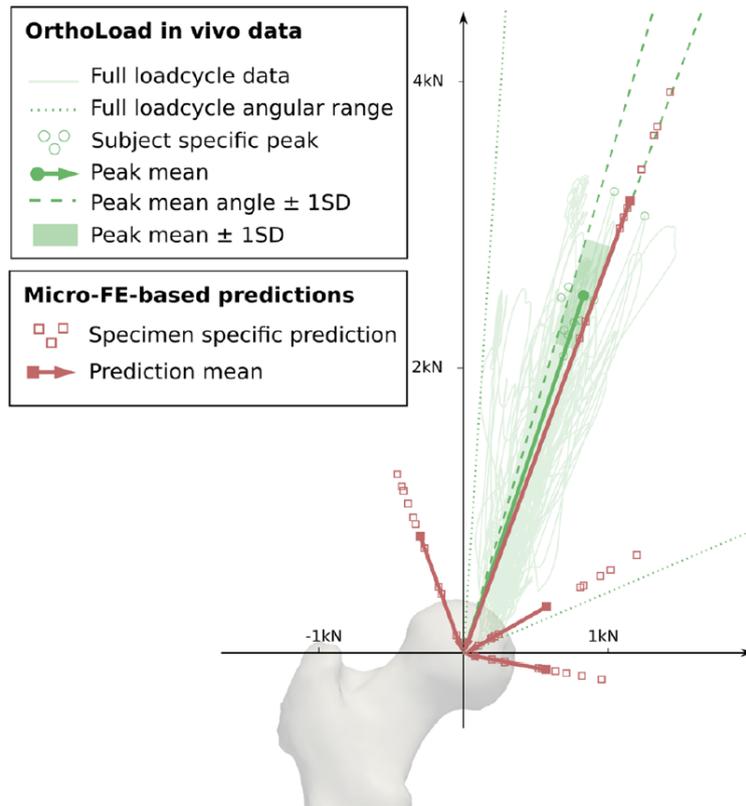


FIGURE 2.8 – Comparaison des prédictions de chargement artriculaire sur les modèles de fémurs proximaux (en rouge) avec les données in vivo mesurées par des prothèses instrumentées (en vert). D’après Synek & Pahr 2018.

pas retrouvé pour 13 cas de charge où un second pic apparaît médialement. Les directions de charges maximales sont robustes pour tous les paramètres, sauf dans le cas de changements dans la localisation des cas de charges. L’amplitude de la charge maximale est plus sensible à la variation de certains paramètres, comme la taille de la surface chargée, le seuillage de segmentation, le module de Young et la valeur cible physiologique. En revanche, des changements dans l’élasticité du cartilage, la taille du ROI, le nombre de cas de charge, leur localisation et leur distribution ont un effet limité sur l’amplitude prédite.

Leur second objectif est d’évaluer la plausibilité des résultats en comparant les prédictions de charges de dix fémurs proximaux à des forces articulaires mesurées in vivo avec des prothèses instrumentées (Figure 2.8). Les charges maximales sont plausibles au niveau des directions et des amplitudes, même si les amplitudes prédites excèdent celles mesurées in vivo. De plus, des charges importantes ont été prédites dans des directions en dehors de la gamme des valeurs in vivo. Ceci pourrait être expliqué par le fait que l’algorithme ne tient pas compte d’autres facteurs (génétique, homéostasie du calcium, hormones) qui influencent aussi l’architecture osseuse.

Cette étude traite d’un grand nombre de biais possibles. L’amplitude du cas de charge maximal est très sensible à la variation de certains paramètres. Cette thèse ne s’intéresse pas à l’amplitude absolue des cas de charge, mais elle se focalise plutôt sur le patron de

chargement obtenu. Ainsi, en ce qui concerne l'objectif de cette thèse, plusieurs biais ont pu être écartés :

- pour la segmentation : le seuillage et la taille du volume d'intérêt
- pour les cas de charge : l'aire de la zone chargée et l'angle d'impact du cas de charge
- pour les propriétés mécaniques : les modules de Young du cartilage et de l'os
- pour la valeur cible physiologique indiquée dans l'algorithme

Toutefois, deux paramètres, le nombre de cas de charge positionnés et leur localisation sur la surface articulaire ont montré une influence importante sur les patrons de chargement obtenus. Ces deux paramètres seront traités au cours de certains tests de ce chapitre (Section 2.5).

2.2.6 Synek et al. (2019). Inverse remodelling algorithm identifies habitual manual activities of primates based on metacarpal bone architecture

Bien que plusieurs paramètres aient déjà pu être testés sur l'algorithme d'estimation des charges, on ne connaît toujours pas sa sensibilité pour différencier des chargements liés à des activités habituelles. Dans cette étude, les auteurs examinent cette sensibilité en prédisant les histoires de chargement articulaire de métacarpes provenant d'espèces avec une anatomie proche mais avec une utilisation différente de la main.

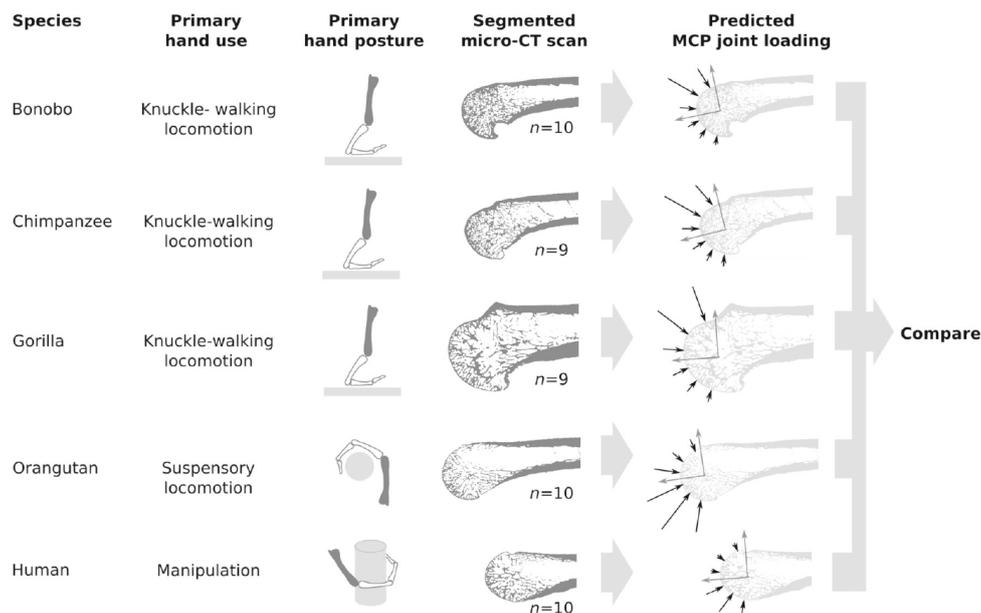


FIGURE 2.9 – Aperçu de l'étude. Les métacarpes (en gris foncé dans la troisième colonne) des cinq espèces avec des utilisations différentes de la main ont été scannés et utilisés afin de prédire l'histoire de chargement articulaire sur le métacarpe distal. Les flèches noires à droite représentent l'histoire de chargement hypothétique : principalement dorsal chez les espèces à locomotion knuckle-walking, palmaire chez les espèces à locomotion suspensive ou qui manipulent des objets, et des charges plus grandes chez les espèces, qui utilisent leurs mains pour la locomotion. D'après Synek et al. 2019.

Trois groupes différents d'utilisations manuelles ont été définis pour cinq espèces de primates (Figure 2.9) : la manipulation (humain), la locomotion suspensive ou brachiation (orang-outan) et la locomotion knuckle-walking (bonobo, chimpanzé et gorille). Neuf à dix μ CT-scans de chaque espèce ont permis de générer des modèles d'éléments finis de la tête métacarpienne. Pour chaque modèle, six cas de charge ont été posés allant de -75° (extension, dorsalement) à $+75^\circ$ (flexion, ventralement). Un vecteur moyen du chargement articulaire a été calculé pour résumer l'histoire de chargement. Contrairement à ce qui a été fait précédemment, l'algorithme d'optimisation a traité uniquement les SEDs issus d'éléments de l'os trabéculaire, afin de réduire l'influence possible de la taille du

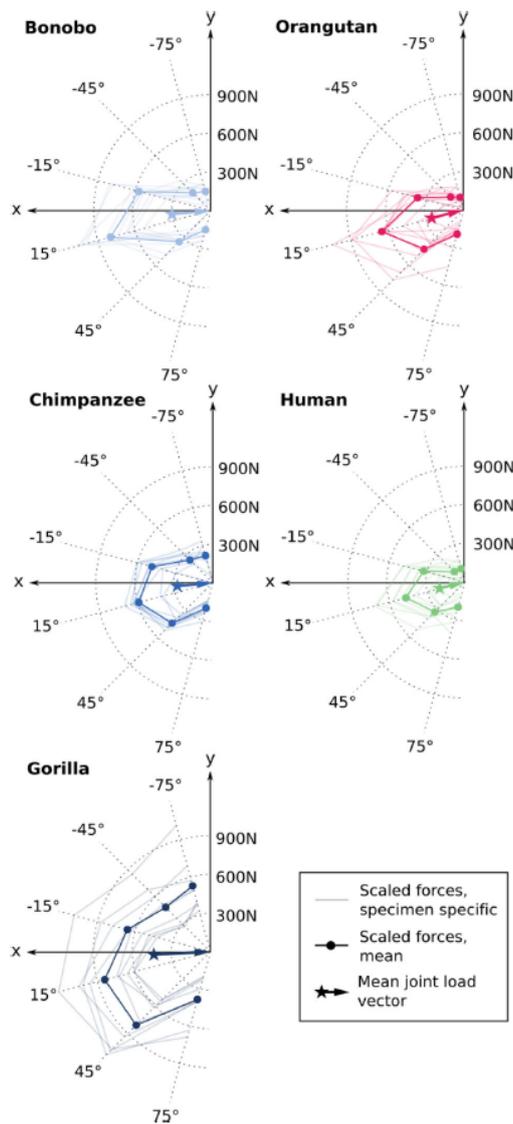


FIGURE 2.10 – Histoire de chargement prédite pour chaque spécimen de chaque espèce (lignes claires) et leur moyenne respective (lignes foncées avec cercles pleins). La force résultante du chargement articulaire de chaque espèce a été représenté par une flèche colorée. D'après Synek et al. 2019.

volume d'intérêt, tout en donnant des résultats comparables aux prédictions fournies par la région osseuse entière.

Le patron de chargement était largement similaire entre les individus d'une même espèce (Figure 2.10). Le pic maximal de charge est presque toujours associé au cas de charge de 15° de flexion. Les directions du vecteur moyen étaient significativement différentes entre les groupes knuckle-walking (angle articulaire plus faible, i.e. postures articulaires en extension) et non-knuckle-walking (angle articulaire plus élevé, i.e. postures articulaires en flexion). La direction prédite des charges articulaires serait corrélée à la posture de la main.

Les amplitudes globales de chargements montrent des différences claires entre les espèces : les amplitudes les plus faibles sont présentes chez les humains et les plus élevées chez les gorilles. L'amplitude du vecteur moyen était plus élevée chez les espèces utilisant leurs mains pour la locomotion (bonobo, chimpanzé, gorille, orang-outan) comparé à celles les utilisant pour la manipulation (humain). L'amplitude prédite des charges permet de comparer les spécimens entre eux, mais ne doit pas être interprétée en terme de valeurs absolues. Toutefois, l'amplitude de chargement dépend d'autres paramètres comme le chargement externe et l'activité musculaire.

Ainsi, l'algorithme est assez sensible pour détecter des différences d'activités manuelles à partir des histoires de chargement provenant de l'architecture trabéculaire métacarpienne des primates.

Cette étude est la première à traiter uniquement les densités d'énergie de déformation provenant du compartiment trabéculaire. De plus, il a été montré que, pour le troisième métacarpe de différentes espèces de primates, les patrons de chargement montraient une très faible variabilité intra-spécifique. Enfin, il est attesté que l'algorithme est capable de différencier les activités manuelles (manipulation, brachiation ou knuckle-walking) des primates à partir de leurs architectures trabéculaires.

2.2.7 Synthèse de la littérature

Plusieurs informations ont pu être soulignées au cours de cette description des recherches concernant cet algorithme d'estimation des charges.

Celui-ci est capable de déterminer les patrons de chargement à partir de microstructures osseuses actuelles ou fossiles et les patrons de chargement obtenus montrent une très faible variabilité intra-spécifique (Christen et al. 2015, Synek et al. 2019). Des différences de locomotion peuvent être détectées et permettre par la suite d'inférer celles d'espèces éteintes (Christen et al. 2015).

Les résultats, que l'algorithme fournit, sont déterminés essentiellement par les chargements externes, davantage que par des variations modélisées d'ordre génétique ou des effets stochastiques du remodelage osseux (Christen et al. 2012, 2013b). L'algorithme est aussi capable de détecter des différences de chargement entre deux échantillons ou même sur un os en croissance (Christen et al. 2012, 2016). De plus, il produit des résultats reproductibles et des prévisions réalistes en accord avec les données de la littérature (Christen et al. 2013a, 2016).

Enfin, différents paramètres ont déjà pu être testés au cours de divers étapes de l'analyse, afin de déterminer leurs influences sur les résultats (Christen et al. 2016, Synek & Pahr 2018). L'effet le plus fréquemment obtenu est une modification de l'amplitude absolue des cas de charges. Au cours de cette thèse, l'intérêt se porte principalement sur les

amplitudes relatives et les patrons de chargement. Ainsi, les seuls biais connus pouvant modifier ces deux éléments, sont : le nombre de cas de charge appliqués et leur localisation sur la surface articulaire, à condition qu'une résolution minimum de $82 \mu\text{m}$ soit obtenue (Christen et al. 2016, Synek & Pahr 2018).

2.3 Description détaillée de la méthode

2.3.1 Segmentation

Le spécimen d'intérêt (ici, un humérus de la tortue *Emys orbicularis*) est scanné par micro-tomographie à rayons X (plateau AST-RX au Muséum national d'Histoire naturelle, UMS 2700 Acquisition et Analyse de Données pour l'Histoire naturelle).

Les piles d'images provenant de la micro-tomographie par rayon X sont traitées au cours de l'étape de segmentation avec le logiciel **Mimics** (version 20.0). Lors de ce processus, l'os est séparé selon deux masques : l'un comprenant l'enveloppe corticale externe et l'autre, incluant uniquement le compartiment trabéculaire interne. A la fin de cette étape, une pile d'image 8 bit est extraite avec uniquement trois nuances de gris : l'enveloppe corticale, le compartiment trabéculaire et le vide (Figure 2.11).

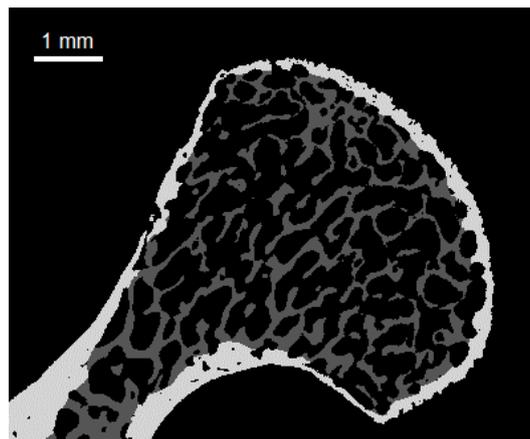


FIGURE 2.11 – Coupe selon un plan médio-latéral de la tête humérale d'*Emys*. L'enveloppe corticale est colorée en blanc, le compartiment trabéculaire en gris et le vide en noir.

2.3.2 Discrétisation et conditions aux limites

Les deux étapes suivantes sont effectuées en utilisant le logiciel de visualisation de données **ParaView** (version 4.4.0). ParaView peut utiliser différents formats de fichiers VTK (Visualization ToolKit). La pile d'images est alors transformée en un fichier au format .vti (VTK ImageData), puis en .vtu (VTK UnstructuredGrid) en utilisant le programme "Jarvis.py" (mis en annexes). Lors de ce simple changement de format, tous les voxels sont directement convertis en éléments finis, grâce à l'intervention du logiciel **FAIM**.

FAIM est un logiciel développé par la compagnie Numerics88 Solutions Ltd. (Calgary, Canada). Ce logiciel effectue des calculs d'élasticité linéaire et convertit chaque voxel en

élément fini hexaédrique. Il a été utilisé dans de nombreuses études récentes (Gilchrist et al. 2014, Cusano et al. 2015).

Une fois que le modèle d'éléments finis a été généré, plusieurs éléments sont choisis sur la surface étudiée avec la répartition la plus homogène possible (les éléments chargés sont représentés sous forme de sphères, Figure 2.12). Pour chacun de ces éléments, il est nécessaire de noter son numéro, ainsi que ses coordonnées cartésiennes (X,Y,Z) pour la suite de l'analyse. On repère aussi les différents plans du modèle qui seront fixés durant l'analyse (Les plans de fixation sont traditionnellement représentés par des triangles, Figure 2.12).

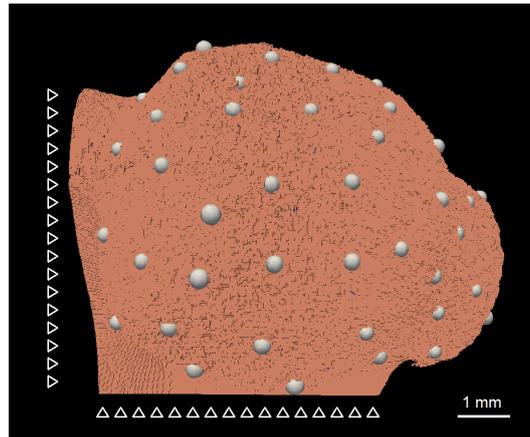


FIGURE 2.12 – Modèle *Emys* en vue dorsale. Les sphères représentent les éléments chargés et les triangles sont les plans de fixation du modèle.

2.3.3 Script matlab "surface.m"

Pour chacune des analyses d'éléments finis suivantes, il était nécessaire d'appliquer des forces normales à la surface étudiée. Le script "surface.m", ajouté en Annexe B, permet d'obtenir les coordonnées des vecteurs normaux.

Paraview permet d'extraire les coordonnées cartésiennes d'un grand nombre d'éléments finis de la surface étudiée sous la forme d'un fichier .vtk. A partir de ces coordonnées, le script génère une surface en trois dimensions (en bleu, Figure 2.13).

Le script produit tout d'abord une boule (en rouge, Figure 2.13), dont le centre correspond aux coordonnées de l'élément chargé. Le rayon peut être changé par l'utilisateur. Le script trouve tous les points de la surface à l'intérieur de cette sphère. A partir de ce nouvel ensemble de points, il calcule le vecteur normal à la surface (en orange, Figure 2.13) pour le point chargé.

Pour chaque vecteur, il faut vérifier sa normalité. Dans le cas contraire, un autre élément à proximité de l'élément chargé est testé jusqu'à ce que la normalité soit respectée. Il est aussi possible de changer le rayon de la boule. Par convention, on note les coordonnées des vecteurs partant de l'os vers l'extérieur (La normalité de ces vecteurs est beaucoup plus simple et rapide à vérifier). Si le vecteur va vers l'intérieur de l'os, il suffit de multiplier toutes ses coordonnées par (-1).

Une fois que ces coordonnées de vecteurs normaux sont obtenues, un fichier nommé "loadcases.txt" doit être créé. Ce fichier texte contient 5 colonnes avec :

- le numéro du cas de charge
- le numéro de l'élément fini où la charge est appliquée
- la coordonnée X du vecteur normal
- la coordonnée Y du vecteur normal
- la coordonnée Z du vecteur normal

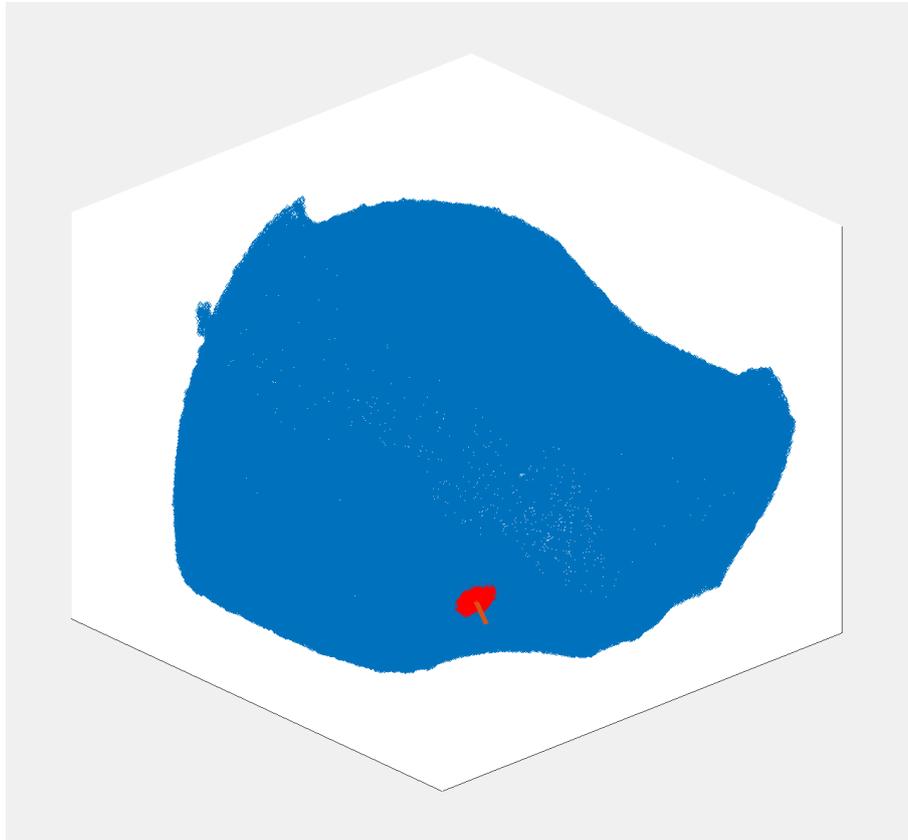


FIGURE 2.13 – Surface du modèle *Emys* générée par le script "surface.m". Les points de l'ensemble de la surface sont en bleu, ceux à l'intérieur de la sphère en rouge et le vecteur normal est coloré en orange.

2.3.4 Script python "Jarvis.py"

Ce script a été également ajouté en annexes (Annexe C). Afin de pouvoir utiliser ce script, il faut obtenir au préalable le spécimen en fichier .vti et le fichier texte nommé "loadcases.txt". L'analyse en éléments finis est effectuée par le logiciel FAIM.

Dans un premier temps, les variables environnementales propres à FAIM sont importées par le biais du terminal, ainsi que les modules du langage python (C.1).

La partie C.2 est une boucle qui permet de lancer les différents cas de charge de façon séquentielle. L'ensemble du programme se répète donc pour chaque cas de charge avec ses propres paramètres (élément et coordonnées normales). Les coordonnées cartésiennes extraites avec le programme matlab n'ont pas la même intensité selon les cas de charge. Par conséquent, cette partie du programme transforme ces coordonnées, afin que l'intensité

de la force appliquée soit toujours d'une valeur arbitraire de 10 000 Newtons. De plus, les vecteurs récupérés par Matlab allaient en direction de l'extérieur. Ici, les forces doivent être compressives et vont en direction de l'os, donc la multiplication de chaque coordonnée par (-1) est à nouveau nécessaire.

Le fichier image d'entrée (.vti) est ensuite importé (C.3). Le programme s'assure que tous les voxels de l'image sont connectés entre eux (C.4) et génère ensuite un maillage d'éléments finis (C.5), qui est enregistré sous format .vtu (C.6).

Les matériaux du modèle sont alors définis (C.7). On leur assigne un nom, un module de Young (en MPa) et un coefficient de Poisson. Puis, le programme crée une table des matériaux qui relie chaque nuance de gris à son matériau (C.8). Le maillage et la table des matériaux sont alors combinés pour former le modèle (C.9).

Avant de définir les charges et les fixations du modèle, il faut créer les ensembles de nœuds et d'éléments, où ces conditions limites seront appliquées (C.10). Ici, seul l'ensemble nommé "element" est défini : il est composé d'un seul élément fini, dont le numéro est directement appelé par le fichier "loadcases.txt" dans la boucle (C.2). La charge sera par la suite appliquée sur cet ensemble. FAIM définit certains ensembles de nœuds et d'éléments de façon automatique. Parmi ces ensembles, on trouve "face_x0" et "face_x1", qui correspondent respectivement à l'ensemble de nœuds ou d'éléments qui ont la coordonnée X la plus faible et celle avec la coordonnée X la plus élevée. Les mêmes faces sont également créées pour les coordonnées Y et Z.

Pour fixer le modèle, on choisit une ou plusieurs face(s) où le déplacement sera nul selon les trois axes (C.11). Dans le script "Jarvis.py" inséré en Annexe C, les faces x0, y0 et z0 sont contraintes dans les trois directions. La charge est ensuite appliquée sur l'élément choisi (C.12). Chaque élément fini est un cube avec six faces (x0, x1, y0, y1, z0 et z1), où des forces peuvent être exercées. Ainsi, si une partie de la charge est affectée à une face donnée, la face opposée n'aura aucune charge présente et celle-ci sera égale à zéro. Ici, la charge appliquée sur un élément est répartie sur les six faces.

Différents paramètres de post-traitement peuvent ensuite être obtenus sur les ensembles précédemment nommés (C.13). Le modèle est créé au format .n88model avec toutes les caractéristiques définies plus haut (C.14). Ce modèle est résolu avec le logiciel FAIM (C.15, Figure 2.14). Après résolution du modèle, FAIM extrait pour chaque élément fini, sa densité d'énergie de déformation et sa nuance de gris, dans un fichier texte (C.16). Un autre programme "sedtrab28" permet de séparer les éléments finis selon leurs nuances de gris pour donner un fichier texte avec toutes les densités d'énergie de déformation du compartiment trabéculaire et un autre avec celles de l'enveloppe corticale. Enfin, la boucle recommence pour un autre cas de charge.

2.3.5 Script matlab "load_estimation.m"

Une fois que tous les cas de charges ont été résolus par FAIM, les densités d'énergie de déformation extraites peuvent être traitées par l'algorithme d'estimation des charges. Celui-ci a été écrit sous forme d'un script matlab nommé "load_estimation.m", inséré en Annexe D et qui correspond à l'équation (2.3).

Ce script compile les cas de charge entre eux sous forme d'une matrice où chaque colonne représente un cas de charge et chaque ligne correspond à un élément fini. Il peut traiter une matrice uniquement pour le compartiment trabéculaire ou pour l'enveloppe corticale, ou pour l'ensemble des éléments finis. Enfin, on obtient l'amplitude de chaque

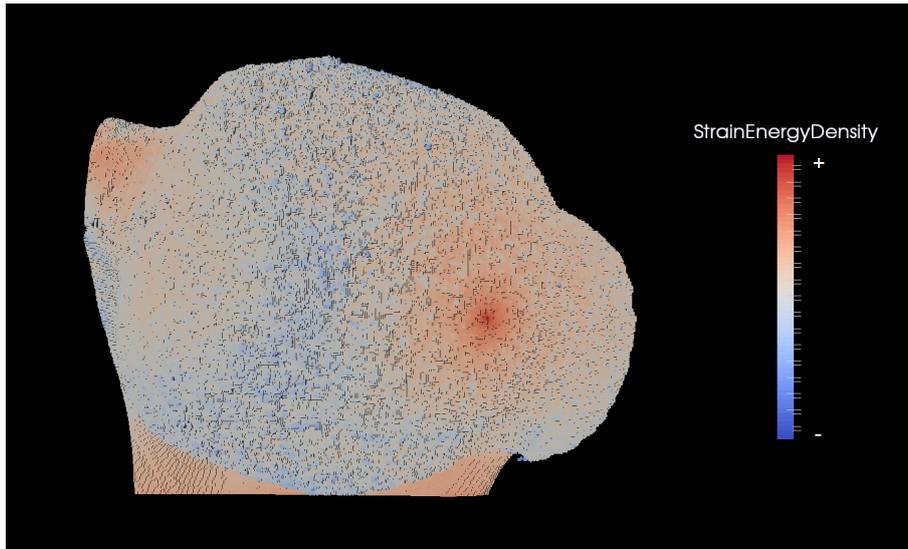


FIGURE 2.14 – Représentation des densités d’énergie de déformation d’un des cas de charge sur la surface articulaire du modèle *Emys*, après sa résolution avec FAIM.

vecteur correspondant à chaque cas de charge, que l’on peut représenter sous forme d’un patron de chargement (Figure 2.15). Un cas de charge avec une amplitude importante produira une grande flèche rouge. A l’inverse, un cas de charge avec une faible amplitude apparaîtra sous la forme d’une petite flèche bleue.

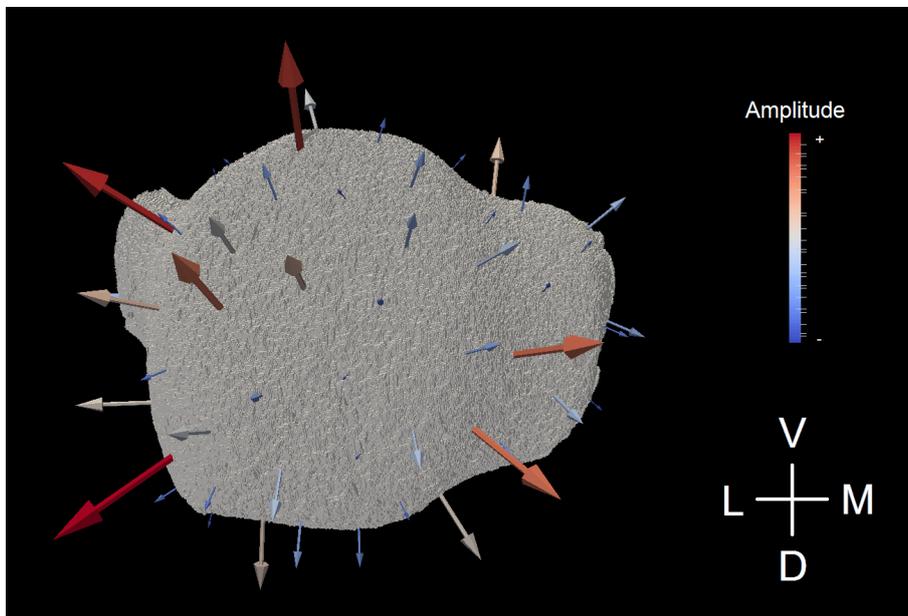


FIGURE 2.15 – Patron de chargement calculé par l’algorithme chez le modèle *Emys*. Les densités d’énergie de déformation proviennent de l’ensemble des éléments finis. Le schéma en bas à droite oriente la figure : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

2.4 Volumes d'intérêt

Dans l'article de Christen et al. (2015), les volumes d'intérêt utilisés par l'algorithme sont des têtes fémorales de mammifères (humains, chien et lion des cavernes). Ces volumes donnent des modèles simples avec une enveloppe corticale sphérique et très fine. Ils sont coupés au niveau du col du fémur, où les auteurs ont défini les conditions aux limites de fixation. Ceci permet de ne pas avoir besoin de tenir compte de l'influence des efforts musculaires, qui sont localisés principalement aux niveaux de processus, comme le grand trochanter.

Dans l'étude de Synek et al. (2019), les volumes d'intérêt utilisés correspondent aux tiers distaux des troisièmes métacarpes de primates. Pour chaque modèle, l'extrémité proximale a été fixée et une sphère de cartilage a été rajoutée sur l'articulation distale. Bien que légèrement plus complexes que le cas des têtes fémorales, ces modèles d'éléments finis conservent une surface sphérique où poser les cas de chargement et une indépendance vis à vis des possibles efforts musculaires.

La problématique de ce doctorat s'articule autour du cadre de la terrestrialisation des vertébrés. Ici, l'attention se porte uniquement sur la tête humérale, car le membre antérieur est supposé avoir été le premier à jouer un rôle dans la locomotion terrestre (Pierce et al. 2012). Chez les reptiles non-aviens, la tête humérale arbore des formes très diverses : en vue articulaire, elle est subrectangulaire chez les crocodyliens, subovale chez les squamates et subcirculaire chez les tortues (Figure 2.16). Avec une telle diversité de formes d'articulations, les modèles montrés ici sont donc bien plus complexes, que les articulations presque sphériques de la littérature (Christen et al. 2015, Synek et al. 2019). De plus, la zone séparant la partie articulaire des zones d'insertions musculaires est très courte, voire parfois non visible. Des tests préliminaires ont été effectués (Annexe E) et ont montré la nécessité de retirer ces processus musculaires, dont les travées pourraient

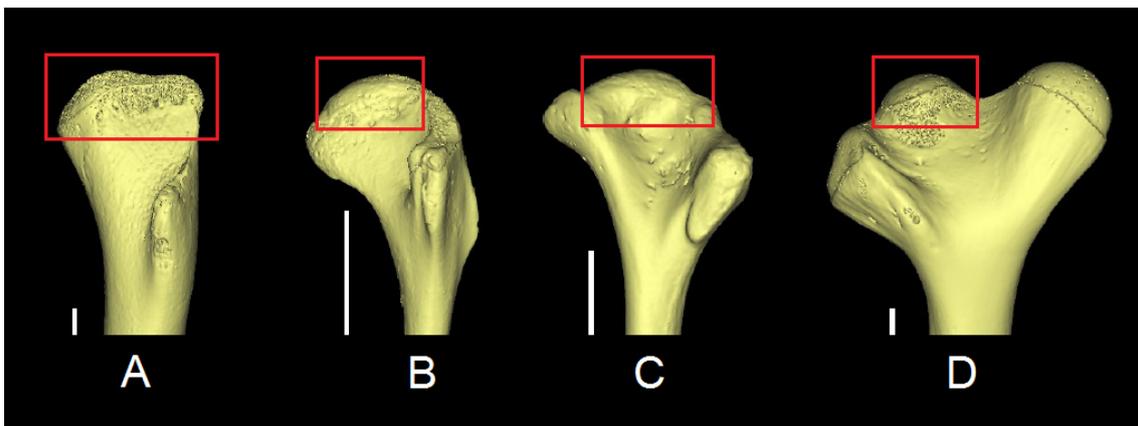


FIGURE 2.16 – Représentation 3D de têtes humérales proximales de différentes espèces de crocodylien (A, *Alligator mississippiensis*, MNHN.ZA.AC.1876-282), de squamates (B, *Tarentola mauritanica*, MNHN.ZA.AC.1930-125 et C, *Tiliqua scincoides*, MNHN.ZA.AC.1898-285) et de tortue (D, *Chelus fimbriatus*, MNHN.ZA.AC.1930-365). Le cadre rouge indique la surface articulaire proximale. La barre d'échelle blanche à gauche de chaque os mesure 5 mm.

influencer négativement les résultats. Les analyses suivantes se sont focalisées seulement sur la partie comprenant l'articulation.

Différents volumes d'intérêt ont donc été utilisés selon la problématique méthodologique associée. Tous ces spécimens proviennent d'images issues de la microtomographie à rayons X (source RX nanofocus 180 kV/15 W et détecteur 400 x 400 mm avec une matrice de 2 024 pixels, taille de pixel : 200 x 200 μm). Ils ont été scannés au plateau AST-RX au Muséum national d'Histoire naturelle (Ge Sensing and Inspection Technologies phoenix-ray v|tome|x L240-180 CT scanner, UMS 2700 Acquisition et Analyse de Données pour l'Histoire naturelle). Ces scans ont été traités avec le logiciel Mimics 20.0, puis extraits sous la forme d'une pile d'images avec trois niveaux de gris (le compartiment trabéculaire, la surface corticale et le vide), avant d'être transformés en modèles d'éléments finis.

Les trois modèles avec le mot "Sphere" en suffixe (**BilloSphere**, **AlligatoSphere** et **CentrochelySphere**) correspondent à des sphères d'os trabéculaire ou compact, que l'on a recouverts par une enveloppe d'os. Les deux derniers modèles (*Emys* et *Kinosternon*) sont des têtes humérales proximales, sur lesquelles les processus musculaires ont été retirés.

BilloSphere Ce modèle est une sphère d'os plein entourée d'une enveloppe d'os compact, d'une épaisseur de 5 pixels (Figure 2.17, A). Ses dimensions sont 90x90x91 pixels. Les deux parties osseuses ont le même coefficient de Poisson (0.3), mais les modules de Young sont différents : 1 GPa pour la sphère interne et 10 GPa pour l'enveloppe externe. Le modèle généré contient 588 022 éléments finis : 377 686 pour la sphère interne et 210 366 pour l'enveloppe.

CentrochelySphere Ce modèle provient d'une sphère d'os trabéculaire extraite de la métaphyse proximale d'un spécimen de *Centrochelys sulcata* (MNHN.ZA.AC.1974-68, présent dans Plasse et al. 2019, Figure 2.17, B). Cet échantillon a été choisi pour son isotropie (degré d'anisotropie faible de 0,45) et contient un nombre de travées assez important (2413 travées). Sa fraction volumique osseuse (volume osseux/volume total) est de 0,416. La taille du voxel est de 97,17 μm et ses dimensions sont 89x89x91 pixels. Une enveloppe d'os, d'une épaisseur de 5 pixels, a été ajoutée avec la fonction "Dilate" de Mimics. L'enveloppe corticale et le compartiment trabéculaire ont les mêmes propriétés

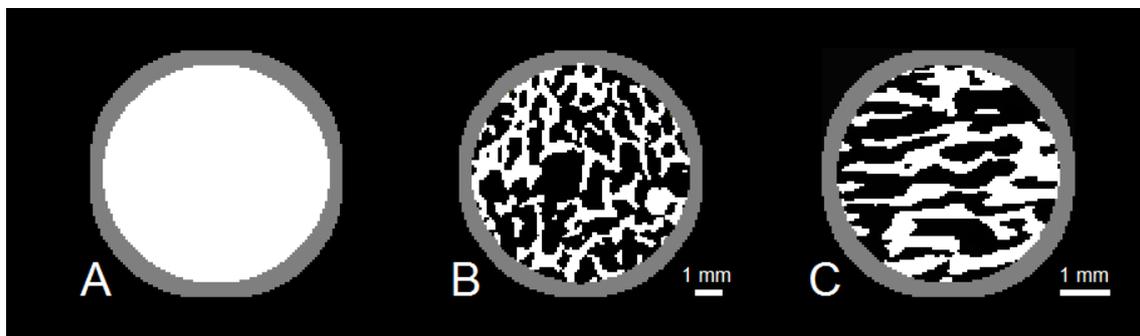


FIGURE 2.17 – Différents modèles de sphères : BilloSphere (A), CentrochelySphere (B) et AlligatoSphere (C). L'os trabéculaire (ou l'os plein) est en blanc et l'enveloppe d'os compact autour est en gris.

mécaniques que dans les articles de Christen et al. (2012, 2015) : un module de Young de 10 GPa et un coefficient de Poisson de 0,3. Le modèle généré contient 351 331 éléments finis : 137 761 pour le compartiment trabéculaire et 213 570 pour l'enveloppe.

AlligatoSphere Ce modèle provient d'une sphère d'os trabéculaire extraite de la métaphyse proximale d'un spécimen d'*Alligator mississippiensis* (MNHN.ZA.AC.1876-282, présent dans Plasse et al. 2019, Figure 2.17, C). Cet échantillon a été choisi pour sa forte anisotropie (degré d'anisotropie plus élevé de 0,78) et contient un nombre de travées suffisant (579 travées). Sa fraction volumique osseuse est de 0,421. Les travées sont très orientées selon un axe horizontal. La taille du voxel est de 50,40 μm et ses dimensions sont 87x90x91 pixels. Une enveloppe d'os, d'une épaisseur de 5 pixels, a été ajoutée avec la fonction "Dilate" de Mimics. L'enveloppe corticale et le compartiment trabéculaire ont les mêmes propriétés mécaniques que dans les articles de Christen et al. (2012, 2015) : un module de Young de 10 GPa et un coefficient de Poisson de 0,3. Le modèle généré contient 364 016 éléments finis : 150 882 pour le compartiment trabéculaire et 213 134 pour l'enveloppe.

Emys Ce modèle provient de la tête humérale proximale d'un spécimen d'*Emys orbicularis* (MNHN.ZA.AC.2014-2, Figure 2.18). La taille de voxel est de 16,36 μm . Les processus musculaires ont été retirés et les conditions aux limites ont été fixées à ces endroits : au niveau du plan distal (celui du bas), du plan latéral (plan à gauche, Figure 2.18, A et plan à droite, Figure 2.18, B) et du plan ventral (celui de la page, Figure 2.18, B). L'enveloppe corticale et le compartiment trabéculaire ont les mêmes propriétés mécaniques que dans les articles de Christen et al. 2012, 2015 : un module de Young de 10 GPa et un coefficient de Poisson de 0,3. Le modèle généré contient 7 775 090 éléments finis : 4 539 638 pour le compartiment trabéculaire et 3 235 451 pour l'enveloppe.

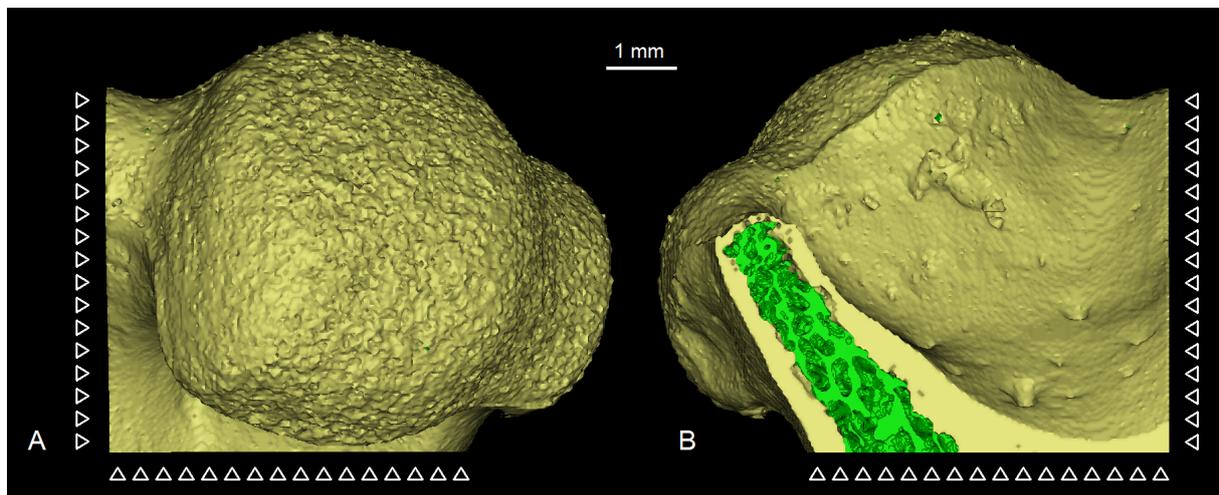


FIGURE 2.18 – Modèle *Emys* en vue dorsale (A) et ventrale (B).

Kinosternon Ce modèle provient de la tête humérale proximale d'un spécimen de *Kinosternon leucostomum* (MNHN.ZA.AC.1911-309, Figure 2.19). La taille de voxel est

de $13,60 \mu\text{m}$. Les processus musculaires ont été retirés et les conditions aux limites ont été fixées à ces endroits : au niveau des plans distal (en bas) et ventral (dans le plan de la page, Figure 2.19, B). L'enveloppe corticale et le compartiment trabéculaire ont les mêmes propriétés mécaniques que dans les articles de Christen et al. 2012, 2015 : un module de Young de 10 GPa et un coefficient de Poisson de 0,3. Le modèle généré contient 6 044 654 éléments finis : 3 444 106 pour le compartiment trabéculaire et 2 600 548 pour l'enveloppe.

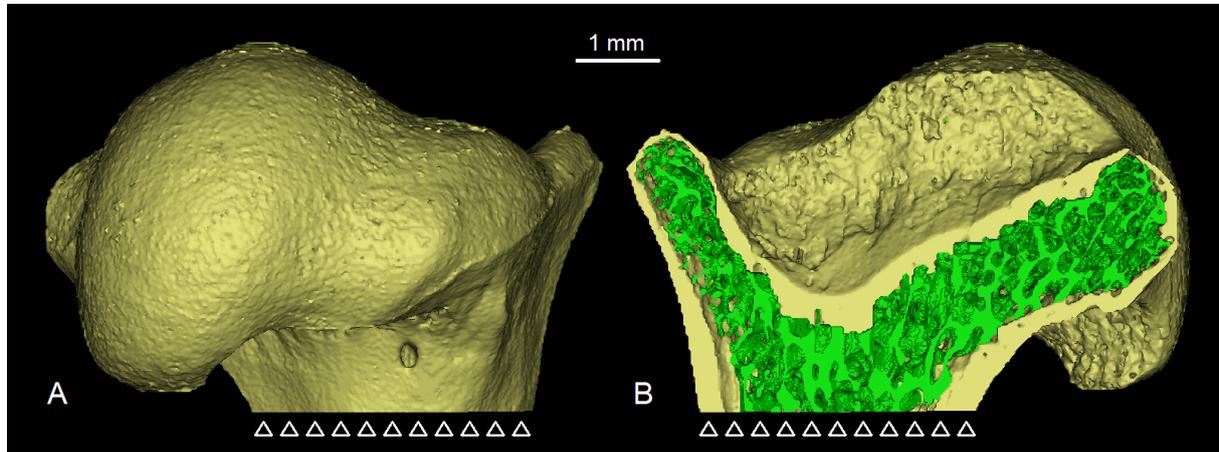


FIGURE 2.19 – Modèle *Kinosternon* en vue dorsale (A) et ventrale (B).

2.5 Tests exploratoires : Validation de l'algorithme et sensibilités de certains paramètres

Ces différents tests ont été traités lors du stage de Morgane Fournier, qui a été encadrée par les directeurs de thèse, ainsi que par le doctorant. Son stage de 4 mois a été effectué en 2019 dans le cadre du Master AIRE (Approches Interdisciplinaires de la Recherche et de l'Enseignement) au Centre de Recherches Interdisciplinaires (CRI).

2.5.1 Validation de la méthode : utilisation de modèles contrôlés sphériques

Avant de pouvoir utiliser l'algorithme sur des cas concrets d'humérus, les fonctionnements de la méthode et du programme ont besoin d'être vérifiés. L'algorithme a donc été employé sur différentes modèles contrôlés : BilloSphere, CentrochelySphere et AlligatoSphere. Ces sphères ont toutes des dimensions très proches en nombre de voxels, pour éviter un possible biais de la taille et l'enveloppe externe a toujours une épaisseur de 5 pixels. Les conditions aux limites des modèles ont été fixées par rapport à un plan oblique en bas à droite (représentées par des triangles, Figure 2.20) et 52 cas de charge ont été appliqués successivement sur les sphères. Les densités d'énergie de déformation ont été extraites uniquement pour le compartiment trabéculaire. A partir de ces modèles, on peut émettre les hypothèses suivantes :

- Chez BilloSphere, l'os est plein. L'algorithme devrait donner une amplitude de même intensité pour tous les cas de charge.
- Chez CentrochelySphere, la répartition des travées est isotropique : l'amplitude des cas de charge devrait être de la même intensité pour tous.
- Chez AlligatoSphere, les travées sont très orientées selon l'axe horizontal et l'algorithme devrait montrer des amplitudes plus fortes pour les cas de charges horizontaux.

Les amplitudes des cas de charges estimées par l'algorithme ont été listées par ordre décroissant dans le Tableau 2.2. L'algorithme a conservé seulement six cas de charges pour BilloSphere et quatre pour les deux autres modèles. Toutes les amplitudes liées aux autres cas de charge étaient égales à zéro.

TABLEAU 2.2 – Amplitudes des cas de charges estimées pour les modèles contrôlés de sphères. Pour chaque sphère, la colonne de gauche représente l'amplitude estimée par l'algorithme et celle de droite, son amplitude en pourcentage sur l'ensemble du modèle.

BilloSphere		CentrochelySphere		AlligatoSphere	
0,539	47,24 %	0,182	40,89 %	0,213	44,26 %
0,311	27,30 %	0,154	34,61 %	0,126	26,29 %
0,119	10,45 %	0,074	16,65 %	0,125	26,02 %
0,090	7,87 %	0,035	7,84 %	0,016	3,43 %
0,081	7,13 %				
1.10^{-4}	0,01 %				
1,140	100 %	0,445	100 %	0,480	100 %

Les trois sphères montrent un patron similaire : les forces de plus importantes amplitudes sont localisées en haut à gauche des sphères (Voir Figure 2.20 et Tableau 2.2). Les amplitudes des trois forces les plus importantes sont du même ordre sur l'ensemble du modèle : plus de 85% de la réponse analytique est présent sur cette zone. Les densités d'énergie de déformation correspondant aux cas de charge de forte amplitude ont également été représentées (Figure 2.21).

L'amplitude calculée pour le cas de charge le plus important de BilloSphere est bien plus forte que l'ensemble des amplitudes cumulées de chacun des deux autres modèles. Pour BilloSphere, la sphère a été remplie d'os : il n'y a donc pas de vide entre le point d'impact et le plan de fixation, les forces peuvent se transmettre librement. Les amplitudes sont proches entre CentrochelySphere et AlligatoSphere, malgré une anisotropie différente entre les modèles (0,45 et 0,78 respectivement). En revanche, ces amplitudes similaires pourraient être liées aux fractions volumiques osseuses proches des deux modèles (0,416 et 0,421 respectivement). En effet, il a été démontré que cette fraction volumique osseuse était corrélée aux forces articulaires et que l'algorithme était sensible à des différences de fraction volumique osseuse (Christen et al. 2013, 2016).

Les hypothèses précédemment formulées sont donc à rejeter. Les forces d'intensités importantes sont localisées sur le même côté, celui qui est opposé à la zone de fixation des conditions aux limites. L'algorithme traite ces trois problèmes comme un simple cas de compression uni-axial. Les conditions aux limites du modèle semblent avoir une influence très importante dans les résultats de l'algorithme. Dans l'étude de Christen et al. 2015 (voir Figure 2.5), les forces de plus grande intensité sont également localisées sur le côté

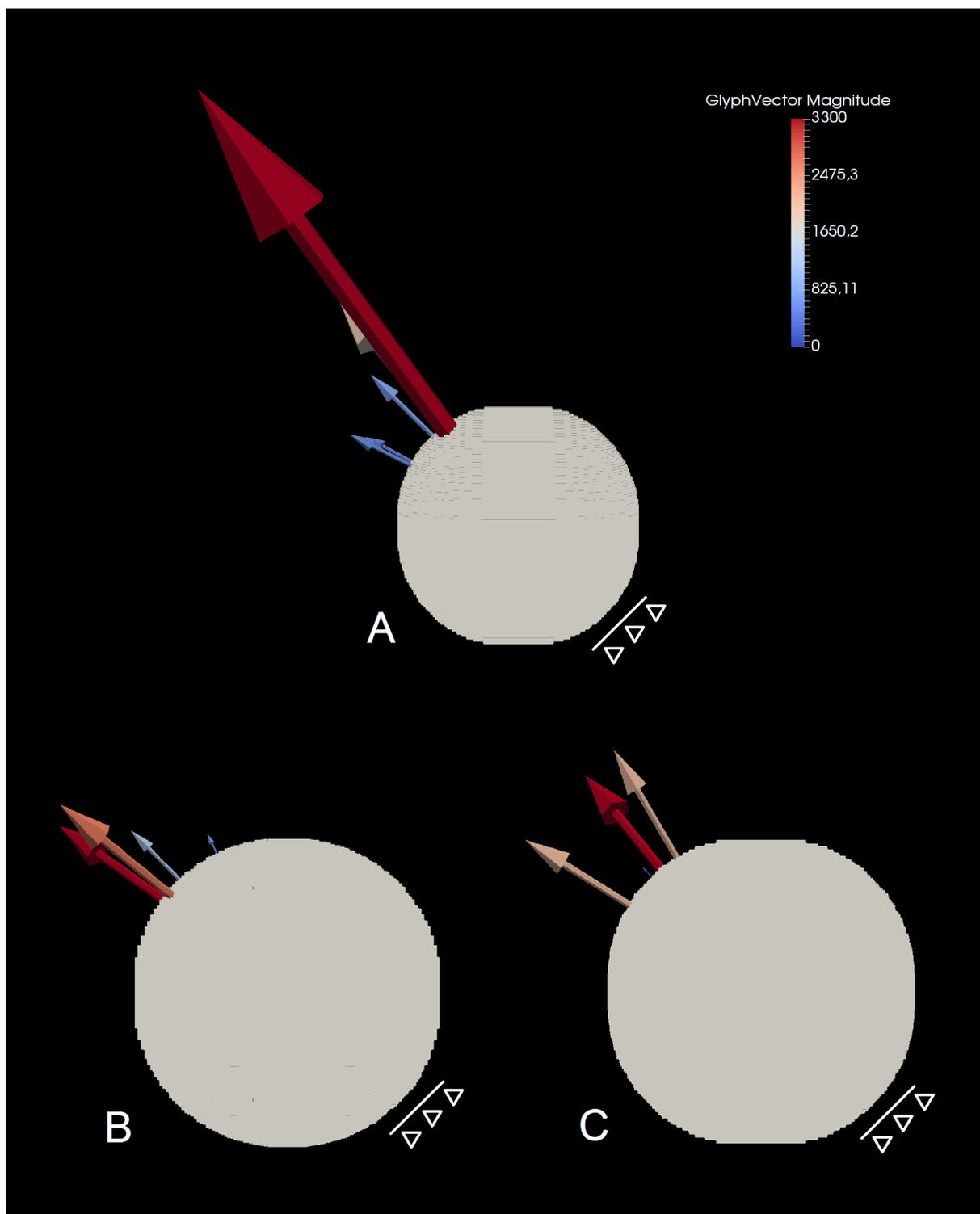


FIGURE 2.20 – Résultats des analyses de l’algorithme sur différents modèles de sphères : BilloSphere (A), CentrocelySphere (B) et AlligatoSphere (C). Les conditions aux limites fixées en bas à droite sont représentées par des triangles.

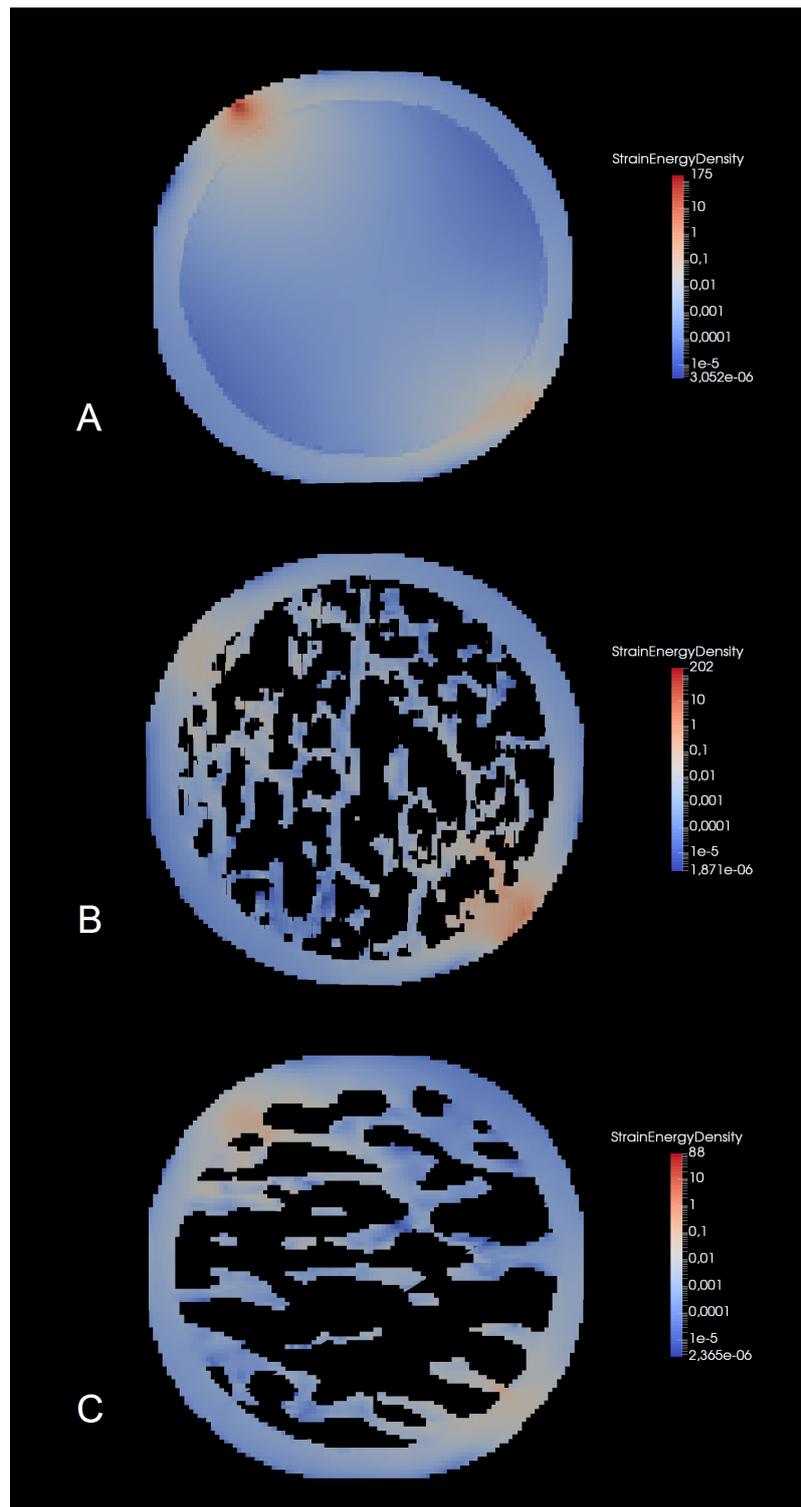


FIGURE 2.21 – Distribution des densités d'énergie de déformation pour les cas de charges montrant les plus fortes amplitudes sur les différents modèles de sphères : BilloSphere avec le cas n ° 14 (A), CentrochelySphere avec le cas n ° 22 (B) et AlligatoSphere avec le cas n ° 33 (C).

opposé aux conditions aux limites. On peut donc se demander si le résultat de l'algorithme n'a pas également été biaisé par les conditions aux limites des modèles.

2.5.2 Influence des conditions aux limites de fixation

Dans la section précédente, il a été remarqué que les conditions aux limites du modèle semblaient jouer un rôle important dans les résultats de l'algorithme. Des tests supplémentaires ont donc été effectués pour vérifier cette nouvelle hypothèse. Le modèle de l'AlligatoSphere a été de nouveau utilisé, car il a l'avantage d'avoir des travées très orientées selon un axe horizontal. De plus, utiliser un même modèle permet d'éviter l'influence d'une variation de la fraction volumique osseuse. AlligatoSphere a été fixé selon différentes conditions aux limites : en bas (Figure 2.22, A), à droite (Figure 2.22, B), en bas et à droite simultanément (Figure 2.22, C). Pour les trois modèles, les mêmes éléments ont été sélectionnés pour appliquer les cas de charge. Il y avait 52 cas de charge pour le modèle fixé en bas et pour celui fixé à droite. Pour le modèle fixé en bas et à droite, seulement 43 cas de charge ont été appliqués, car les autres éléments se trouvaient à l'intérieur d'une des deux zones planes de fixation. Les densités d'énergie de déformation ont été extraites uniquement pour le compartiment trabéculaire. Pour ce test, on peut donc formuler les hypothèses suivantes :

- Le modèle fixé à droite (Figure 2.22, B) devrait montrer des amplitudes de forces plus importantes que celui fixé en bas (Figure 2.22, A), car ses travées sont dans l'axe horizontal et sont perpendiculaires au plan vertical de fixation du modèle.
- Le modèle avec les deux conditions aux limites (Figure 2.22, C) devrait montrer des amplitudes de forces très variées provenant de l'effet combiné des deux conditions aux limites.

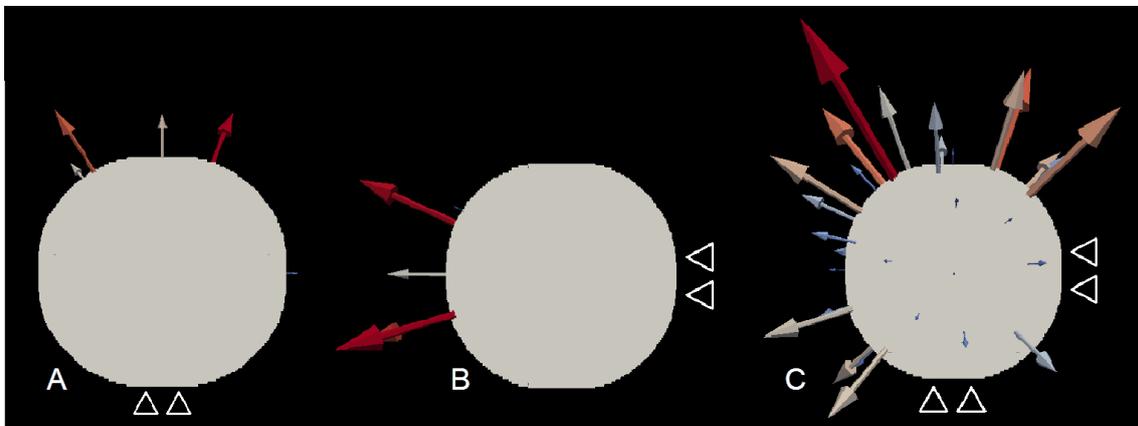


FIGURE 2.22 – Analyse du compartiment trabéculaire chez AlligatoSphere. Les triangles représentent les zones planes de fixation : en bas (A), à droite (B), en bas et à droite (C).

Les amplitudes des cas de charges estimées par l'algorithme ont été listées par ordre décroissant dans le Tableau 2.3. L'algorithme a conservé seulement cinq cas de charge pour le modèle fixé en bas, sept pour le modèle fixé à droite et trente-six pour le modèle fixé en bas et à droite (mais seulement les dix plus importantes amplitudes ont été indiquées pour ce dernier modèle.). Les amplitudes liées aux autres cas de charge étaient toutes égales à zéro.

TABLEAU 2.3 – Amplitudes des cas de charges estimées pour le modèle AlligatoSphère avec des conditions aux limites différentes. Pour chaque cas, la colonne de gauche représente l’amplitude estimée par l’algorithme et celle de droite, son amplitude en pourcentage sur l’ensemble du modèle. Pour le modèle fixé en bas et à droite, uniquement les dix plus importantes amplitudes ont été indiquées.

Fixé en bas		Fixé à droite		Fixé en bas et à droite	
0,115	34,12 %	0,168	26,25 %	0,525	8,33 %
0,100	29,67 %	0,159	24,84 %	0,442	7,01 %
0,063	18,69 %	0,148	23,13 %	0,437	6,94 %
0,045	13,35 %	0,069	10,78 %	0,391	6,20 %
0,014	4,15 %	0,061	9,53 %	0,332	5,27 %
		0,018	2,81 %	0,312	4,95 %
		0,017	2,66 %	0,307	4,88 %
				0,302	4,80 %
				0,292	4,64 %
				0,266	4,22 %
			
0,337	100 %	0,640	100 %	6,299	100 %

Pour le modèle fixé en bas (Figure 2.22, A), les amplitudes les plus importantes sont localisées en haut, alors que pour le modèle fixé à droite (Figure 2.22, B), ces amplitudes sont présentes à gauche. Pour le modèle aux deux plans de fixation (2.22, C), les amplitudes les plus importantes sont localisées en haut à gauche, en haut à droite et en bas à gauche. Pour ce dernier modèle, l’algorithme a pu calculer 36 amplitudes sur les 43 cas de charge (les autres étant égales à zéro), ce qui montre une plus grande distribution de force que pour les deux autres modèles.

Pour les deux modèles à un seul plan de fixation, les forces calculées sont toujours localisées sur le côté opposé à ce plan de fixation. Le modèle à deux plans de fixation montre un effet cumulé de ces deux plans, ce qui génère une grande diversité de forces. Ce test valide les hypothèses précédemment évoquées et montre un biais possible lié aux conditions aux limites. Ici, avec une architecture trabéculaire identique, on obtient des résultats totalement différents pouvant influencer les interprétations.

Les deux modèles à un seul plan de fixation ont la même fraction volumique osseuse, une zone de fixation de même taille et les mêmes propriétés mécaniques. Pourtant, ces deux modèles montrent des amplitudes nettement différentes (voir Tableau 2.3). Cette différence ne peut être liée qu’à l’orientation des travées osseuses à l’intérieur des deux modèles. Dans le modèle fixé en bas, elles sont perpendiculaires au sens des forces estimées, qui sont assez faibles (la plus importante a une amplitude de 0,115). Dans le modèle fixé à droite, elles sont parallèles au sens des forces estimées, qui sont plus importantes que chez le modèle précédent (entre 0,148 et 0,168 pour les trois principales). Ce test montre que l’algorithme calcule des amplitudes plus importantes si elles sont dans le même alignement que l’orientation principale des travées. Ceci permet de vérifier un fonctionnement correct de cet algorithme.

2.5.3 SED : Compartiment trabéculaire vs Enveloppe corticale vs Les deux

L'enveloppe corticale est principalement liée à la morphologie externe de l'os, alors que le compartiment trabéculaire représente plutôt une adaptation aux chargements. C'est pourquoi, ici, d'autres tests sont effectués, afin de savoir si les patrons de chargement obtenus reflètent majoritairement une influence du compartiment trabéculaire ou un effet lié à l'enveloppe corticale.

Étant donné que les fonctionnements de la méthode et de l'algorithme ont été vérifiés, il est maintenant possible d'utiliser des cas plus concrets, plutôt que des modèles contrôlés, tels que des sphères. Ainsi, le choix se porte sur deux tortues semi-aquatiques appartenant aux genres *Emys* et *Kinosternon*, dont les modèles ont été détaillés plus haut. Ce choix de spécimens a été dicté par les raisons suivantes. Chez les tortues, aucun front d'ossification n'est présent au cours de la croissance, ce qui permet d'éviter un biais supplémentaire dans les analyses. De plus, la surface articulaire humérale est aisément discernable des deux processus musculaires proches, facilitant ainsi la création des modèles d'éléments finis.

Bien qu'elles soient amphibiens, ces deux tortues ont des locomotions préférentielles différentes : *Emys* marche plutôt sur le fond des mares (Ficetola et al. 2004), alors que *Kinosternon* a été identifiée comme étant une bonne nageuse (Davenport et al. 1984). Ainsi, les hypothèses suivantes peuvent être émises :

- Les deux tortues auront un patron cortical très semblable, car la morphologie externe de leurs humérus est très proche.
- Les deux tortues auront un patron trabéculaire différent : celui-ci est généré en réponse aux chargements externes, que l'on peut supposer différents entre un spécimen marcheur et un autre nageur.

Pour ces deux spécimens, 52 cas de charge ont été positionnés sur la surface articulaire. Les conditions aux limites des modèles ont été fixées au niveau de la diaphyse et des processus musculaires. Après analyse, les densités d'énergie de déformation ont été extraites pour l'ensemble des éléments finis, puis un programme a permis de distinguer ces éléments selon leur nuance de gris, comme appartenant au compartiment trabéculaire ou à l'enveloppe corticale. Puis, le programme d'estimation des charges articulaires a été utilisé selon trois modalités : uniquement avec les valeurs du compartiment trabéculaire, puis avec celles de l'enveloppe corticale et enfin avec l'ensemble des valeurs des éléments finis. Les amplitudes des différents cas de charges ont été représentés pour *Emys* (Figure 2.23) et pour *Kinosternon* (Figure 2.24).

L'analyse à partir des valeurs trabéculaires montre une différence notable entre *Emys* et *Kinosternon*. Chez *Emys*, les forces les plus importantes sont localisées selon un axe ventro-latéral à médio-dorsal (Figure 2.23, A). En revanche, chez *Kinosternon*, un pic de chargement important se situe au niveau de la pointe dorsale de l'articulation (Figure 2.24, A).

Pour les valeurs extraites à partir de l'enveloppe corticale, l'analyse montre de très fortes similarités entre *Emys* et *Kinosternon* (Figures 2.23, B et 2.24, B) : un chargement principal sur une large zone latéro-ventrale ainsi qu'un pic médio-dorsal. Chez *Kinosternon*, ce chargement montre de plus fortes variations d'amplitude et donc une plus grande hétérogénéité que chez *Emys*.

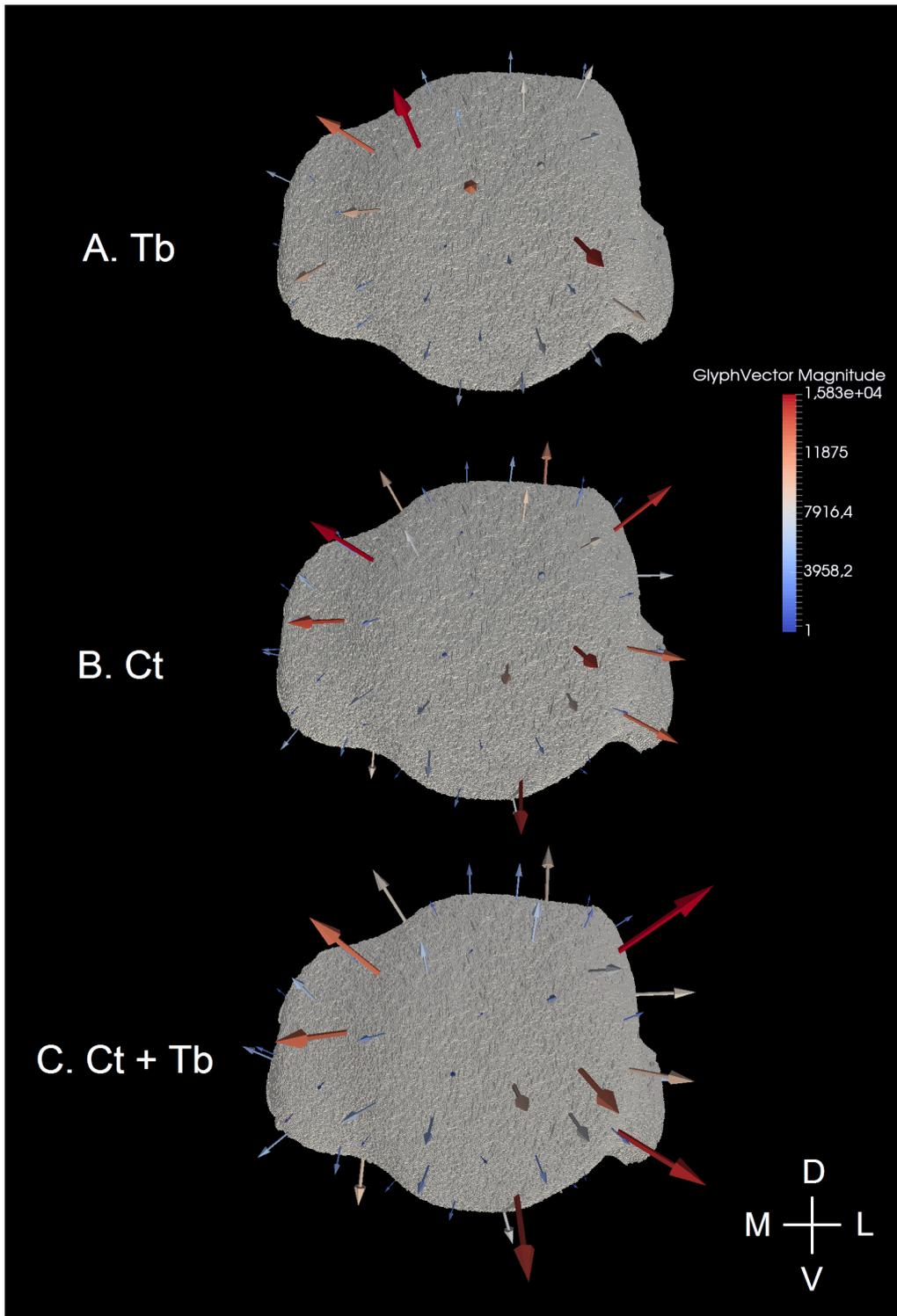


FIGURE 2.23 – Patterns de chargement calculés par l’algorithme chez *Emys*. Les densités d’énergie de déformation proviennent uniquement du compartiment trabéculaire (A. Tb), uniquement de l’enveloppe corticale (B. Ct) ou des deux parties (C. Ct +Tb). Le schéma en bas à droite oriente les figures : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

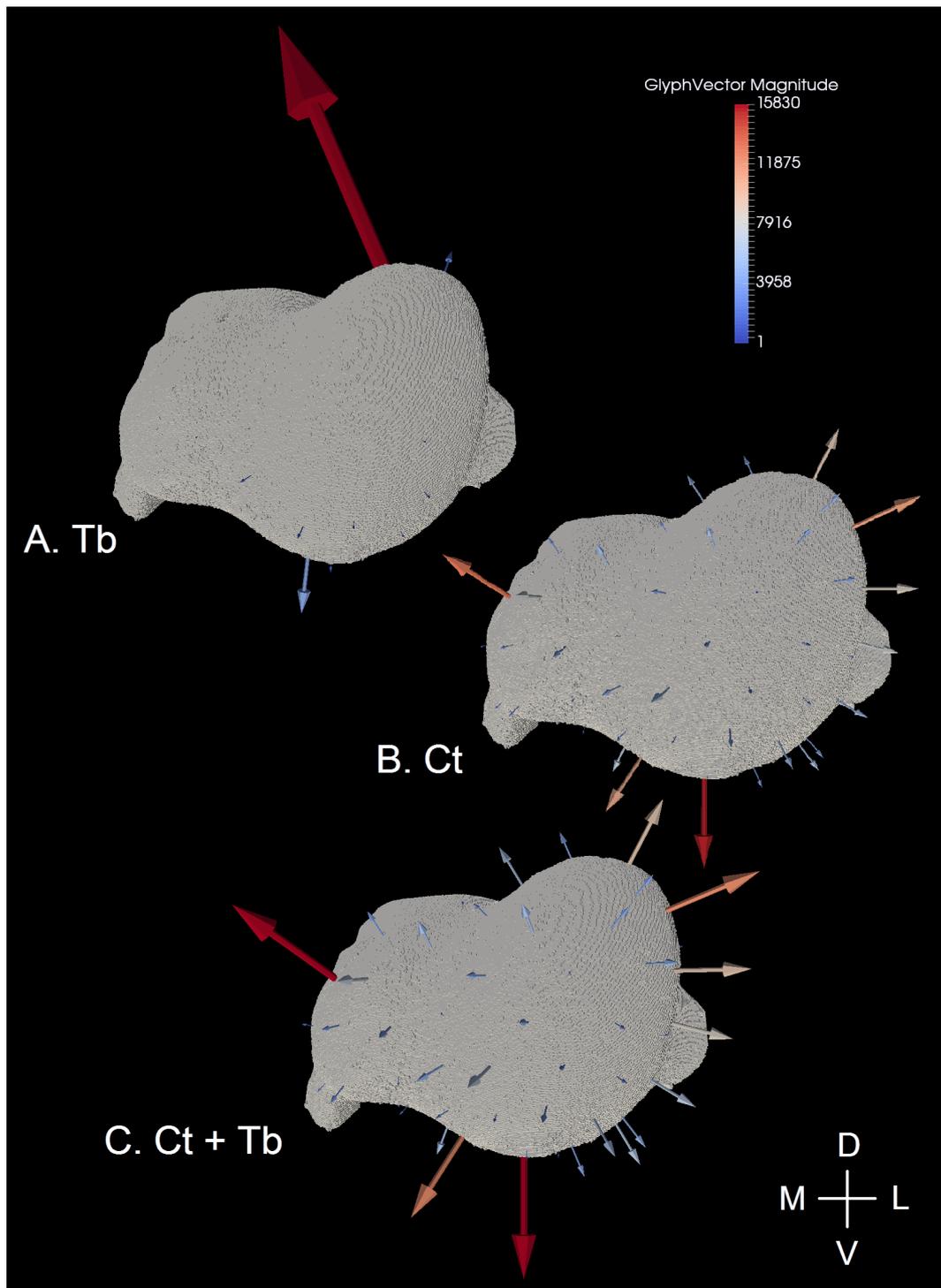


FIGURE 2.24 – Patterns de chargement calculés par l’algorithme chez *Kinosternon*. Les densités d’énergie de déformation proviennent uniquement du compartiment trabéculaire (A. Tb), uniquement de l’enveloppe corticale (B. Ct) ou des deux parties (C. Ct +Tb). Le schéma en bas à droite oriente les figures : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

L'analyse sur l'ensemble des densités d'énergie de déformation montre une très forte ressemblance entre les deux tortues (Figures 2.23, C et 2.24, C). Les plus importantes amplitudes de chargement sont localisées sur une large zone latéro-ventrale ainsi que sur un pic médio-dorsal.

Chez les deux tortues, l'analyse sur l'ensemble des valeurs indique un chargement situé aux mêmes endroits que pour le patron cortical. En revanche, l'analyse du compartiment trabéculaire montre un résultat complètement différent de celui de l'enveloppe corticale ou de celui de l'ensemble des valeurs.

Ces résultats laissent supposer une influence principale de l'enveloppe corticale, principalement liée à la morphologie externe de l'os, qui est probablement causée par une parenté proche au sein du clade des tortues. Les patrons trabéculaires sont différents entre les deux tortues, car ils sont générés par des chargements externes causés par deux locomotions distinctes. Christen et al. (2015) effectuent leurs analyses sur l'ensemble des éléments finis de têtes fémorales, sans séparer les parties corticales et trabéculaires. Chez leurs spécimens, l'enveloppe corticale est très fine et est convertie en peu d'éléments finis en comparaison avec le compartiment trabéculaire. Par conséquent, l'essentiel de la densité d'énergie de déformation est stocké dans les travées et il n'est pas nécessaire de séparer les deux parties. Dans les cas étudiés ici, l'enveloppe corticale représente environ 41,6 % et 43 % chez *Emys* et *Kinosternon* réciproquement, ce qui lui accorde beaucoup plus d'importance. Ainsi, il est nécessaire de concentrer les analyses sur les compartiments trabéculaires, afin d'extraire un signal plutôt lié à la locomotion ou au mode de vie.

Pour *Kinosternon*, le patron trabéculaire est équivoque. En effet, quand un des cas de charge montre une amplitude importante, liée à un fort chargement externe, on s'attend à ce que ses proches voisins soient également influencés dans une moindre mesure par ce chargement. Ici, le cas de charge principal a une amplitude bien plus forte que celles des autres cas juxtaposés (Tableau 2.4) : cela signifie qu'un seul cas de charge sur 52 constitue presque la moitié du chargement global (45,6 %). En regardant le rendu graphique du modèle pour ce cas de charge, on s'aperçoit qu'il se situe au niveau de la pointe dorsale de l'articulation. Du fait de cette morphologie en forme "porte-à-faux", la majorité des densités d'énergie de déformation se trouve concentrée dans cette pointe d'os corticale (Figure 2.25, A et B). De cette manière, l'enveloppe corticale absorbe une grande partie du chargement, alors que les travées se trouvent très peu chargées (Figure 2.25, C). Par la suite, l'algorithme estime que des travées peu chargées indiquent un cas de charge avec un chargement homogène du compartiment trabéculaire : il lui confère alors une amplitude importante.

Cette anomalie n'a jamais été mise en évidence dans les recherches liées à l'algorithme et dans cette thèse, elle sera donc nommée **effet "porte-à-faux"**. Les cas de charge des deux modèles *Emys* et *Kinosternon* sont détaillés ci-dessous et comparés. L'objectif est de trouver des paramètres qui permettront d'identifier les cas montrant un effet "porte-à-faux", afin de les exclure de l'analyse.

Moyennes des densités d'énergie de déformation du compartiment trabéculaire

Pour chaque cas de charge, la moyenne des densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire (Figures 2.26 et 2.27) a été calculée. Les cas de charges n° 1, n° 4 et n° 9 qui montrent un effet "porte-à-faux" chez *Kinosternon* ont une moyenne

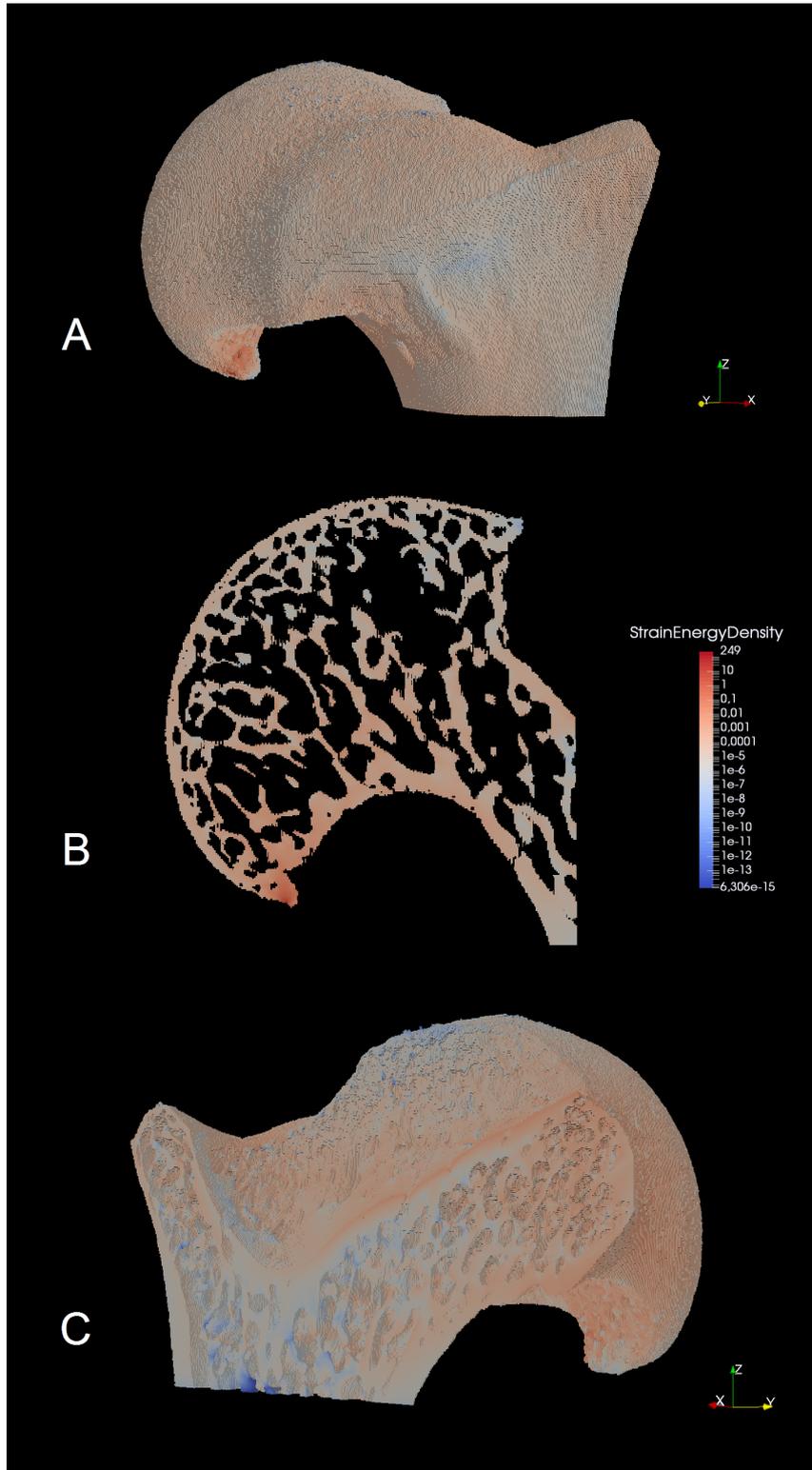


FIGURE 2.25 – Résultat du cas de charge n ° 9 chez le modèle *Kinosternon* (Les densités d'énergie de déformation proviennent uniquement du compartiment trabéculaire). Vue médio-dorsale (A), coupe selon un plan médio-latéral (B), vue ventrale (C).

TABLEAU 2.4 – Amplitudes estimées à partir des valeurs du compartiment trabéculaire pour les dix plus importants cas de charges chez *Kinosternon*. Le numéro du cas de charge est indiqué dans la première colonne, celle du milieu représente l'amplitude estimée par l'algorithme et celle de droite, son amplitude en pourcentage sur l'ensemble du modèle.

Cas de charge	Amplitude estimée	
n ° 9	26,750	45,60 %
n ° 1	7,143	12,18 %
n ° 4	3,756	6,40 %
n ° 20	1,726	2,94 %
n ° 17	1,687	2,88 %
n ° 16	1,508	2,57 %
n ° 49	1,249	2,13 %
n ° 13	1,235	2,11 %
n ° 24	1,082	1,84 %
n ° 48	0,802	1,37 %
...
Total	58,661	100 %

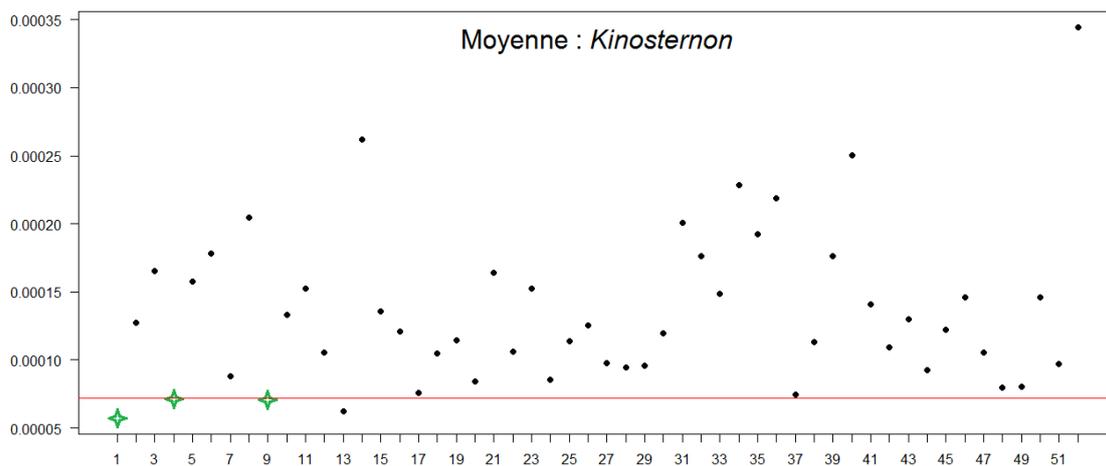


FIGURE 2.26 – Moyennes des densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire pour le modèle *Kinosternon*. Les numéros des cas de charge sont en abscisses. La ligne rouge (fixée à $7,2 \cdot 10^{-5}$) tente de séparer les cas 1, 4 et 9 (étoiles vertes).

de ces densités d'énergie de déformation très faible ($5,73 \cdot 10^{-5}$, $7,14 \cdot 10^{-5}$ et $7,08 \cdot 10^{-5}$ respectivement). Le cas n ° 13 a également une moyenne faible ($6,24 \cdot 10^{-5}$), mais celui-ci ne semble pas montrer d'effet "porte-à-faux".

La ligne rouge (fixée à $7,2 \cdot 10^{-5}$), permettant de séparer ces cas "porte-à-faux" des autres chez *Kinosternon*, isolent 23 cas de charges des autres cas chez *Emys*. La moyenne semble être un bon paramètre pour séparer ces cas "porte-à-faux" chez *Kinosternon* (Seul le cas n ° 13 se retrouve avec les cas "porte-à-faux".), mais celui-ci n'est pas généralisable chez *Emys*.

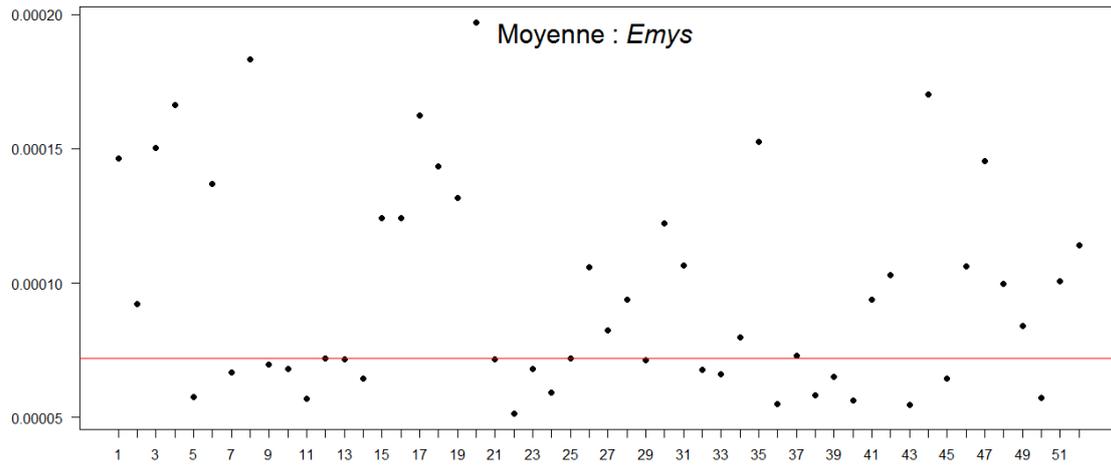


FIGURE 2.27 – Moyennes des densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire pour le modèle *Emys*. L'axe des abscisses correspond au numéro des différents cas de charge. La ligne rouge a la même ordonnée que *Kinosternon* (fixée à $7,2 \cdot 10^{-5}$).

Écart-types des densités d'énergie de déformation du compartiment trabéculaire

Pour chaque cas de charge, l'écart-type des densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire (Figures 2.28 et 2.29) a été calculé. Les cas de charges n° 1, n° 4 et n° 9, qui montrent un effet "porte-à-faux" chez *Kinosternon*, ont un écart-type de ces densités d'énergie de déformation très faible ($3,49 \cdot 10^{-4}$, $3,85 \cdot 10^{-4}$ et $1,94 \cdot 10^{-4}$ respectivement), bien plus faible que les autres cas de charge. Aucun autre cas de charge ne montre un écart-type proche de ces 3 cas en dessous de la ligne rouge. Chez *Kinosternon*, la ligne rouge (fixée à $6 \cdot 10^{-4}$) discrimine les cas "porte-à-faux" des autres cas. Néanmoins, cette ligne fixée arbitrairement ne montre pas un écart franc entre les cas "porte-à-faux" et les autres : le cas n° 17 avec un écart-type de $8,45 \cdot 10^{-4}$ est proche de cette ligne.

Chez *Emys*, aucun cas de charge ne se trouve en dessous de cette ligne. L'écart-type est un bon paramètre pour séparer les cas "porte-à-faux" des autres chez *Kinosternon* et *Emys*, mais la discrimination n'est pas très nette.

Coefficient de variation (ou indice d'inhomogénéité)

Christen et al. (2012) ont défini un coefficient de variation de la distribution des SED ($CV = \text{Écart-type}_{SED} / \text{Moyenne}_{SED}$), qui permet de quantifier l'homogénéité du chargement dans le tissu. Un coefficient de variation élevé indique une structure chargée de façon hétérogène. Pour chaque cas de charge, le coefficient de variation a été calculé à partir des données extraites du compartiment trabéculaire (Figure 2.30). Les cas de charges n° 1, n° 4 et n° 9 qui montrent un effet "porte-à-faux" chez *Kinosternon* ont un coefficient de variation de ces densités d'énergie de déformation très faible (6,09 ; 5,40 et 2,74 respectivement), bien plus faible que les autres cas de charge. Aucun autre cas de charge ne montre

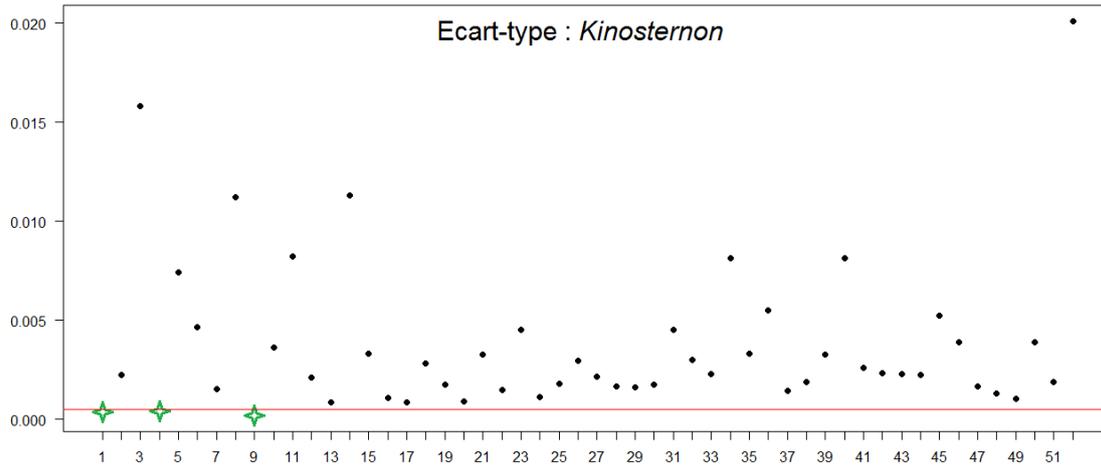


FIGURE 2.28 – Écart-types des densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire pour *Kinosternon*. Les numéros des cas de charge sont en abscisses. La ligne rouge (fixée à $6 \cdot 10^{-4}$) tente de séparer les cas 1, 4 et 9 (étoiles vertes).

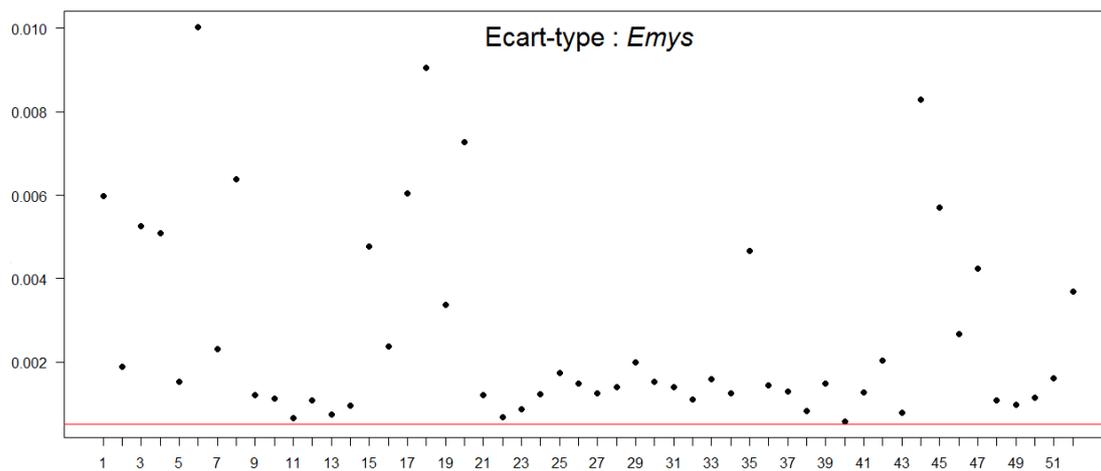


FIGURE 2.29 – Écart-types des densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire pour *Emys*. L'axe des abscisses correspond au numéro des différents cas de charge. La ligne rouge a la même ordonnée que *Kinosternon* (fixée à $6 \cdot 10^{-4}$).

un CV proche de ces 3 cas en dessous de la ligne rouge. Chez *Kinosternon*, la ligne rouge (fixée à 8) discrimine les cas "porte-à-faux" des autres cas. Toutefois, cette ligne fixée arbitrairement ne montre pas non plus de limite très claire entre les cas "porte-à-faux" et les autres : le cas n° 16 avec un CV de 9,03 est proche de cette ligne. Chez *Emys*, aucun cas de charge ne se trouve en dessous de cette ligne (le cas n° 40 a le plus petit CV de 10,19). Cet indice d'inhomogénéité est un bon paramètre pour écarter les cas "porte-à-faux" des autres chez *Kinosternon* et *Emys*, mais la discrimination n'est pas très nette.

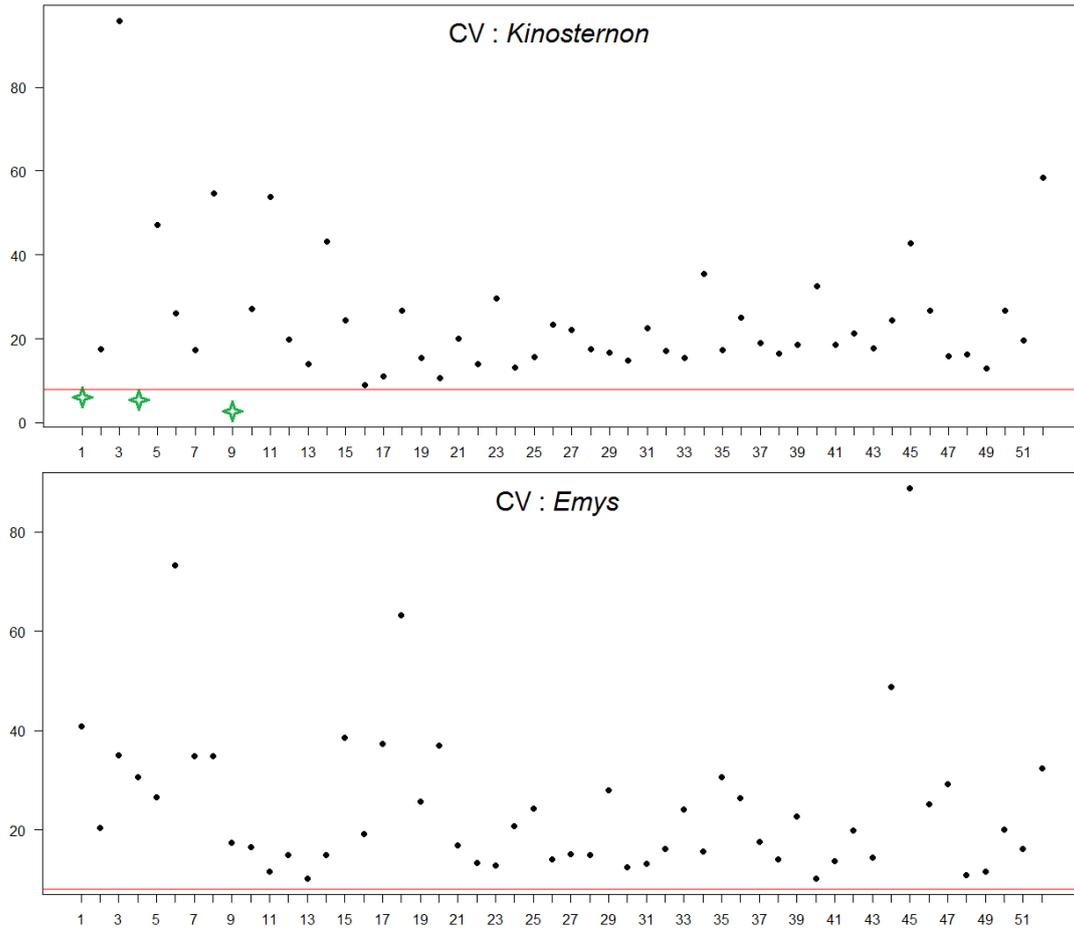


FIGURE 2.30 – Coefficient de variation des densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire pour les modèles *Kinosternon* et *Emys*. L'axe des abscisses correspond au numéro des différents cas de charge. Les cas 1, 4 et 9 chez *Kinosternon* sont représentés par des étoiles vertes. La ligne rouge tente de les séparer des autres cas de charge (fixée à 8).

Histogrammes de répartition des densités d'énergie de déformation pour le compartiment trabéculaire et l'enveloppe corticale

Afin de mieux comprendre l'origine de cet effet "porte-à-faux", les histogrammes des densités d'énergie de déformation ont été représentés. Ces histogrammes ont été effectués pour le compartiment trabéculaire et l'enveloppe corticale sur les cas n° 1, n° 4 et n° 9 de *Kinosternon* (Figures 2.31 et 2.33), qui montrent un effet "porte-à faux", ainsi que sur le cas n° 2 de *Kinosternon* et le cas n° 2 d'*Emys* (Figures 2.32 et 2.34) qui ne présentent pas cet effet. Ces deux derniers cas de charge ont été choisis parce qu'ils montraient des moyennes et des écart-types proches des valeurs moyennes de tous les cas de charge.

Au niveau du compartiment trabéculaire, les histogrammes des densités d'énergie de déformation pour les cas de charge "porte-à-faux" n° 1, n° 4 et n° 9 de *Kinosternon* (Figure 2.31) présentent le même profil : un pic entre 0 et $3 \cdot 10^{-5}$ de densités d'énergie de déformation, puis une baisse lente au fur et à mesure que des SEDs élevées sont atteintes. Ce pic est plus élevé chez le cas n° 1 (effectif proche de 80 000) avec une dispersion plus

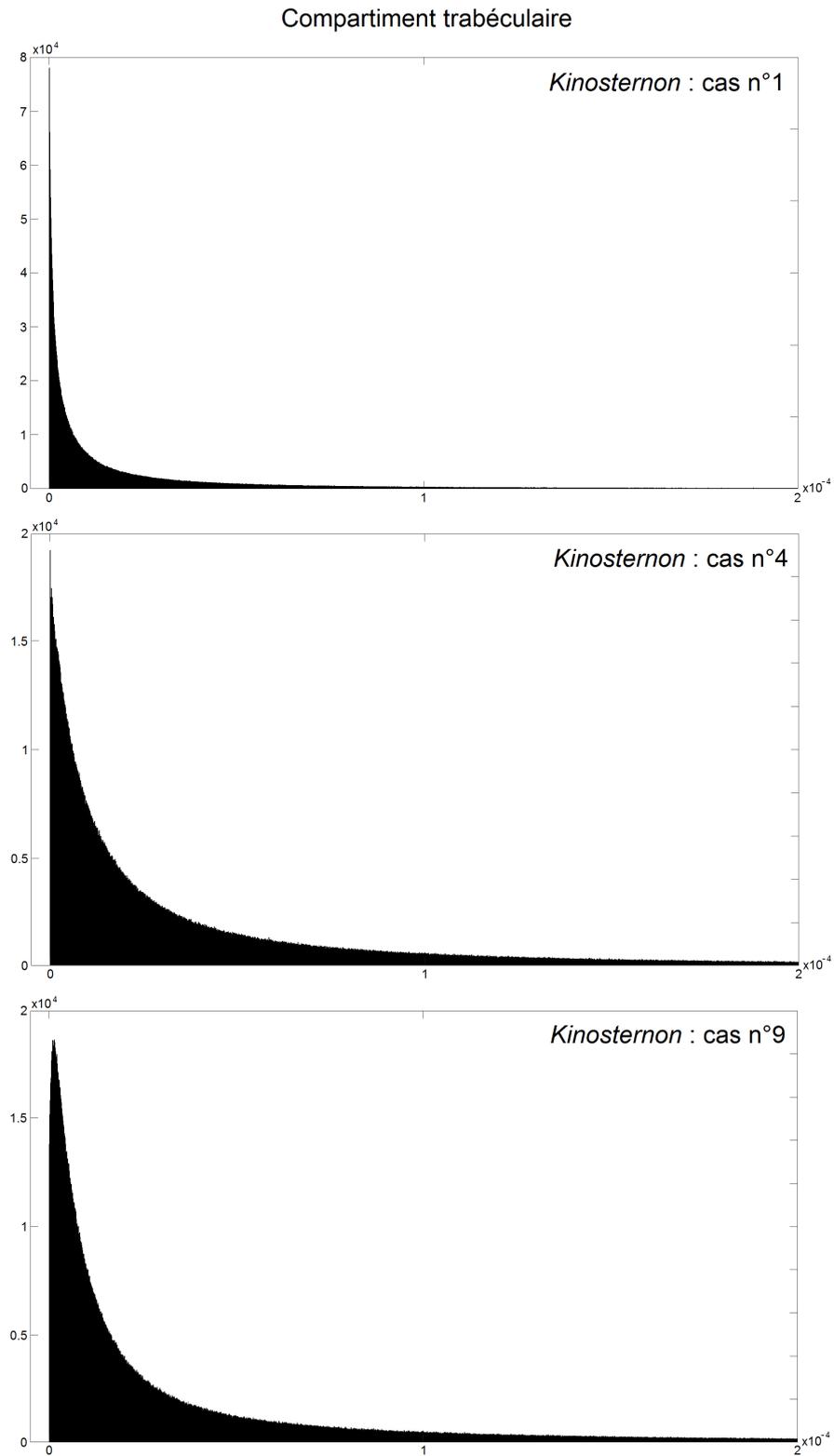


FIGURE 2.31 – Histogramme des densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire pour les cas de charge n° 1, n° 4 et n° 9 de *Kinosternon*.

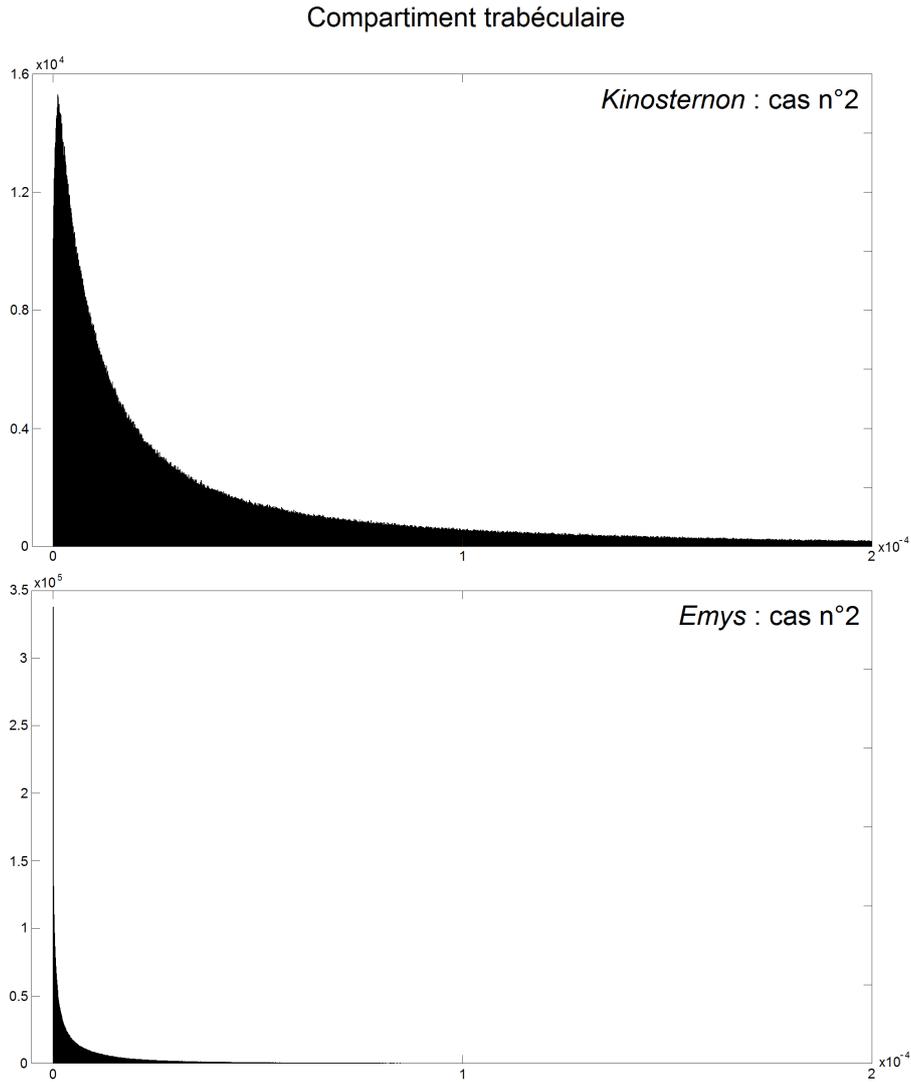


FIGURE 2.32 – Histogramme des densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire pour le cas de charge n° 2 de *Kinosternon* et pour le cas de charge n° 2 de *Emys*.

faible, que pour les cas n° 4 et n° 9 (effectif proche de 20 000).

Le cas n° 2 de *Kinosternon* (Figure 2.32) montre un profil similaire aux cas "porte-à-faux" avec un pic d'effectif proche des cas n° 4 et n° 9 (environ 16 000). En revanche, le cas n° 2 d'*Emys* (Figure 2.32) a un pic bien plus élevé (effectif d'environ 350 000) avec une dispersion très faible autour de ce pic.

Les cas n° 4 et n° 9 de *Kinosternon*, qui ont l'effet "porte-à-faux" le plus important, possèdent des distributions des densités d'énergie de déformation du compartiment trabéculaire avec un pic d'effectif faible (environ 20 000) et une dispersion étalée, ce qui est proche de celle du cas n° 2 de *Kinosternon*, qui ne montre pas cet effet. Le cas n° 1 de *Kinosternon*, avec un faible effet "porte-à-faux" a une distribution similaire au cas n° 2 d'*Emys*, mais avec un effectif plus faible (80 000 contre 350 000).

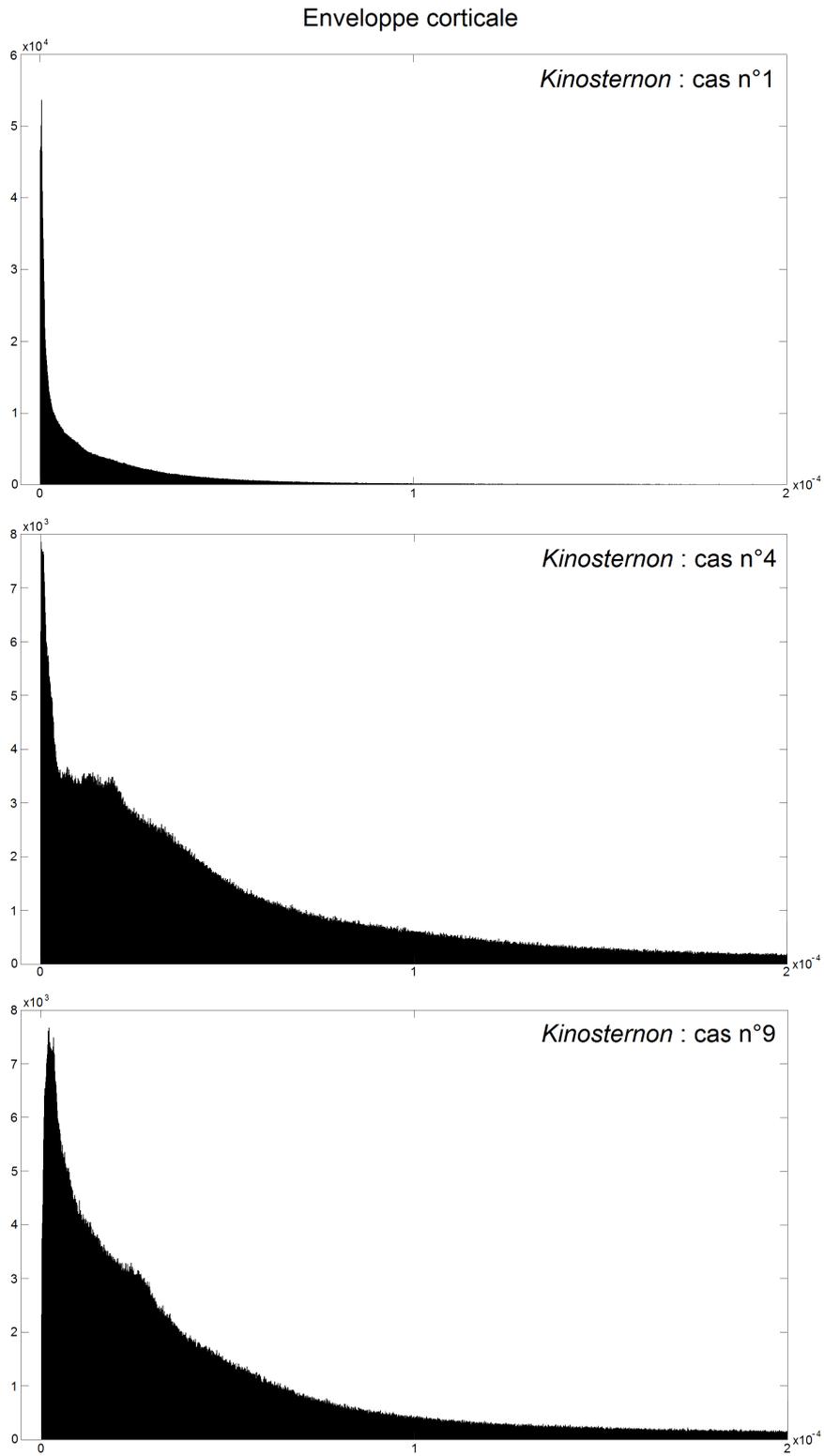


FIGURE 2.33 – Histogramme des densités d'énergie de déformation extraites de l'enveloppe corticale pour les cas de charge n° 1, n° 4 et n° 9 de *Kinosternon*.

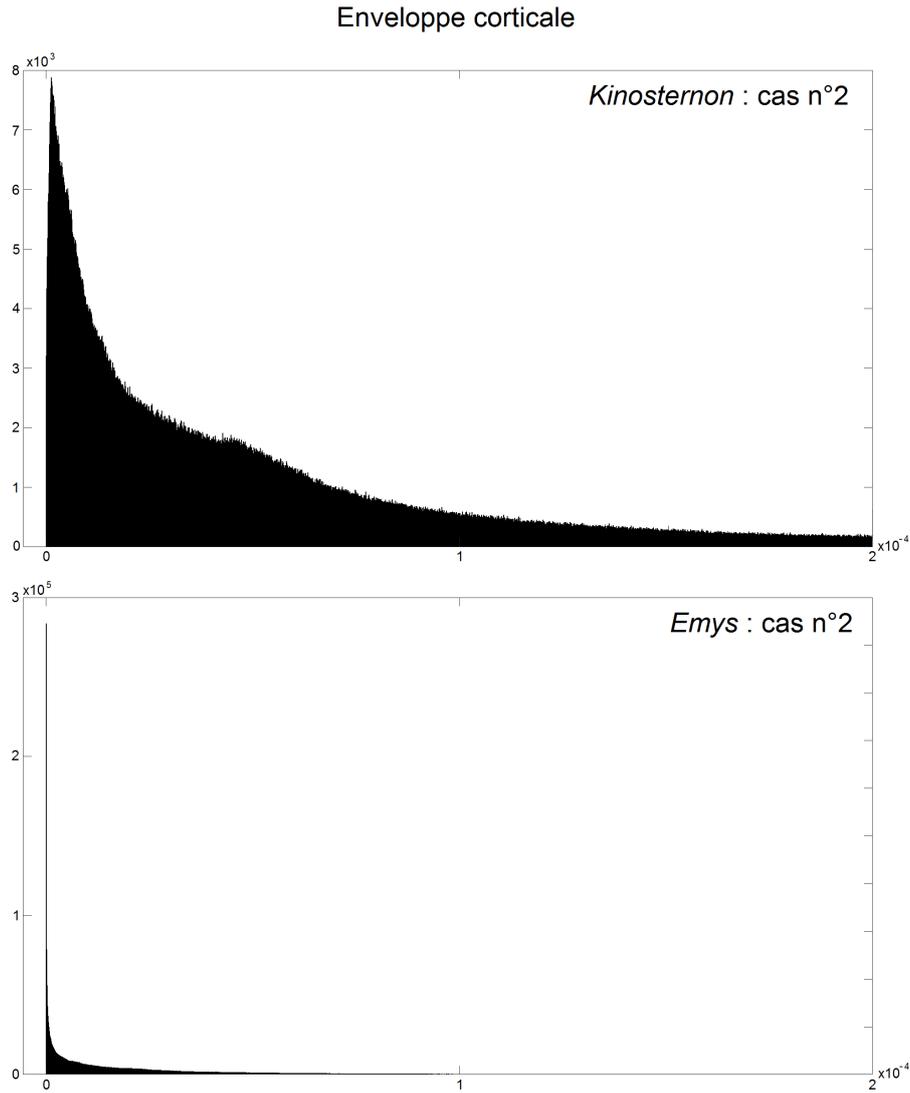


FIGURE 2.34 – Histogramme des densités d'énergie de déformation extraites de l'enveloppe corticale pour le cas de charge n° 2 de *Kinosternon* et pour le cas de charge n° 2 de *Emys*.

Au niveau de l'enveloppe corticale, les histogrammes des densités d'énergie de déformation pour les cas de charge "porte-à-faux" n° 1, n° 4 et n° 9 de *Kinosternon* (Figure 2.33) présentent des profils différents. Le cas n° 1 a un pic élevé (effectif de 60 000), suivi d'une baisse rapide pour atteindre un plateau proche de zéro. Pour le cas n° 4, ce pic est présent et plus faible (effectif de 8 000), mais la chute suivante est interrompue par un plateau (ou une série de 3 pics successifs) vers une SED de 1 à $2,5 \cdot 10^{-5}$, avant de diminuer à nouveau. Pour le cas n° 9, la diminution est moins rapide et un autre pic est présent vers une SED de $3 \cdot 10^{-5}$, la baisse suivante est similaire au cas n° 4. Un autre pic semble présent vers une SED de $1 \cdot 10^{-5}$ pour le cas n° 9.

Pour le cas n° 2 de *Kinosternon* (Figure 2.34), l'historgramme des densités d'énergie de déformation de l'enveloppe corticale montre aussi un pic vers 8 000 d'effectif, la diminution suivante est interrompue vers une SED de $5 \cdot 10^{-5}$ avant de reprendre. Le cas n° 2 d'*Emys* montre un pic important vers 300 000 d'effectif et un plateau ensuite près de zéro.

Les cas de charge n° 4 et n° 9 montrent des pics de SED supplémentaires, comme pour le cas n° 2. Le cas n° 1 possède uniquement son pic principal comme le cas n° 2 d'*Emys*.

Ces histogrammes permettent d'avoir une représentation graphique de la dispersion des densités d'énergie de déformation. Ils suggèrent que les cas "porte-à-faux" montrent une dispersion de SED plus étalée que les autres cas.

Effet "porte-à-faux"

L'algorithme favorise parfois certains cas de charge, pour lesquels les chargements sont répartis de façon homogène dans le compartiment trabéculaire. En analysant la répartition des densités d'énergie de déformation, il est évident que la dispersion de ces valeurs est importante, bien plus que chez d'autres spécimens. Cette anomalie de l'algorithme serait liée à la forme de l'os testé, qui montre une pointe osseuse, dont l'enveloppe corticale absorberait une grande partie du chargement. Cette anomalie a été donc nommée **effet "porte-à-faux"**.

Les caractéristiques des densités d'énergie de déformation du compartiment trabéculaire ont été détaillées. Ces cas de charge "porte-à-faux" se distinguent par un écart-type très faible (Le plus faible est présent chez le cas de charge n° 9 qui supportait 45,6% du chargement global, Tableau 2.4.). Leur coefficient de variation, directement calculé à partir de l'écart-type est également faible (inférieur à 8). La moyenne, en revanche, est certes moins importante, mais elle ne semble pas généralisable aux autres spécimens. Parmi ces caractéristiques, seul le coefficient de variation semble pouvoir les séparer des cas normaux.

L'enveloppe corticale de ces cas affiche une dispersion bien plus étalée que les autres. De plus, des pics de chargement supplémentaires sont présents à proximité du pic principal et pourraient correspondre au chargement concentré dans la pointe d'os corticale. En revanche, les cas de charge normaux n'ont presque aucune variation. Toutefois, certains cas de charge avec un faible effet "porte-à-faux" montrent une dispersion faible sans pic supplémentaire (comme le cas n° 1 de *Kinosternon*), alors que d'autres cas non "porte-à-faux" peuvent arborer un pic supplémentaire, ainsi qu'une variation importante (comme le cas n° 2 de *Kinosternon*). Il est donc possible que cet effet "porte-à-faux" puisse être aussi présent dans d'autres cas de charge, qui n'ont pourtant pas d'amplitude surestimée par l'algorithme (comme cela pourrait être supposé le cas n° 2 de *Kinosternon*).

En retirant les cas de charges qui chargent trop peu le compartiment trabéculaire, l'algorithme donne un patron beaucoup plus cohérent (Figure 2.35). Les amplitudes les plus importantes sont localisées sur une large zone ventrale de surface articulaire.

Sur les modèles provenant de fémurs mammaliens, les auteurs trouvent de petites forces (approximativement dix fois plus petites que les forces principales) pour des cas de charge situés sur la périphérie des surfaces articulaires, alors que celles-ci n'ont pas été mesurées chez les humains (Christen et al. 2015, Figure 2.5). Ils supposent que ces forces sont impossibles à mesurer en utilisant des prothèses instrumentées, qui fournissent uniquement la force résultante. D'autres auteurs supposent que ces petites forces apparaissent, car l'algorithme omet les autres facteurs biologiques (génétiques, hormonaux...) qui influencent l'architecture osseuse (Synek & Pahr 2018). Bien que ces forces soient plus petites que le cas de charge n° 9 du modèle *Kinosternon*, un effet "porte-à-faux", lié à la

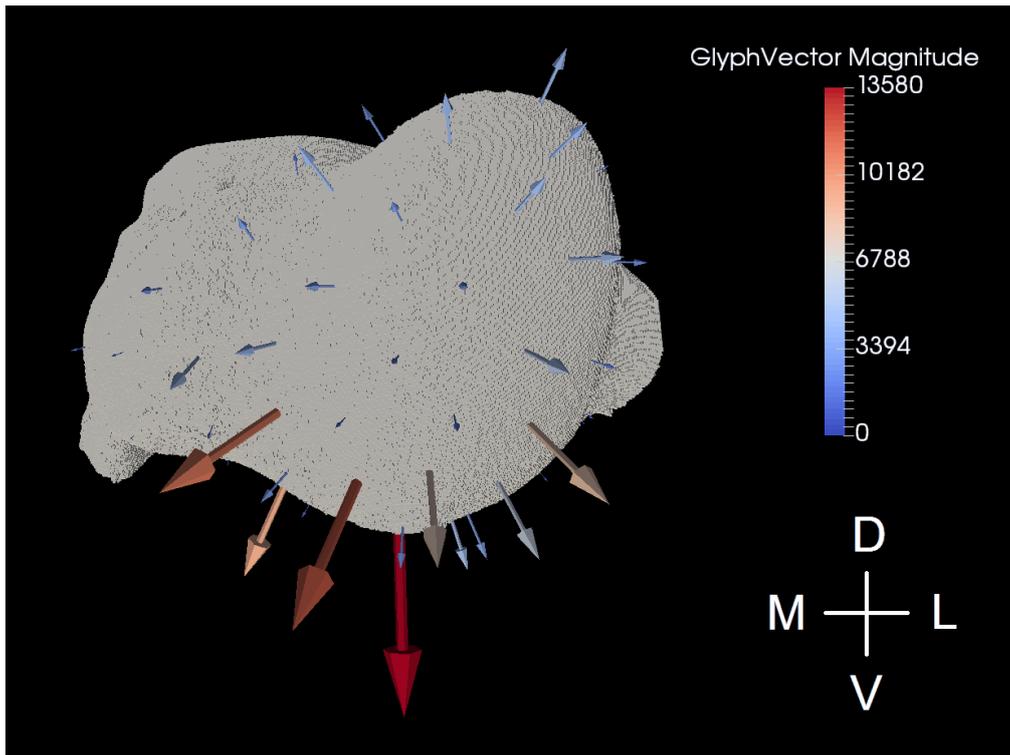


FIGURE 2.35 – Nouveau patron de chargement calculé par l’algorithme chez *Kinosternon* à partir des valeurs provenant du compartiment trabéculaire. Les cas de charges n° 1, n° 4 et n° 9 chargeaient trop peu les travées osseuses et ont donc été retirés. Le schéma en bas à droite oriente la figure : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

forme de la tête articulaire peut également être envisagé. Une influence des conditions aux limites n’est pas non plus à exclure.

2.5.4 Nombre de cas de charges : 13, 26 ou 52 ?

Dans cette section, des tests supplémentaires sont effectués afin de déterminer le nombre minimum de cas de charge à appliquer sur une surface articulaire pour avoir une bonne représentation du chargement. On suppose qu’en augmentant le nombre de cas de charge sur une surface articulaire, la résolution du chargement sera améliorée. Mais le temps de calcul sera également augmenté. Appliquer un cas de charge et extraire les densités d’énergie de déformation de chaque élément fini dure approximativement une heure pour un modèle de quelques millions d’éléments. Il faut donc trouver un équilibre entre une représentation du chargement suffisante et un temps de calcul acceptable.

Pour commencer, on a positionné 52 cas de charge de façon homogène sur la surface articulaire des modèles *Emys* et *Kinosternon*. Certains ont ensuite été retirés, afin de garder 26 cas et 13 cas toujours répartis uniformément. Les positions des cas de charge, les propriétés mécaniques et les conditions aux limites sont les mêmes que celles de la section précédente sur la comparaison des résultats entre l’enveloppe corticale, le compartiment trabéculaire et l’ensemble des éléments finis.

Les patrons de chargement sont représentés ci-dessous pour *Emys* (Figure 2.36) et

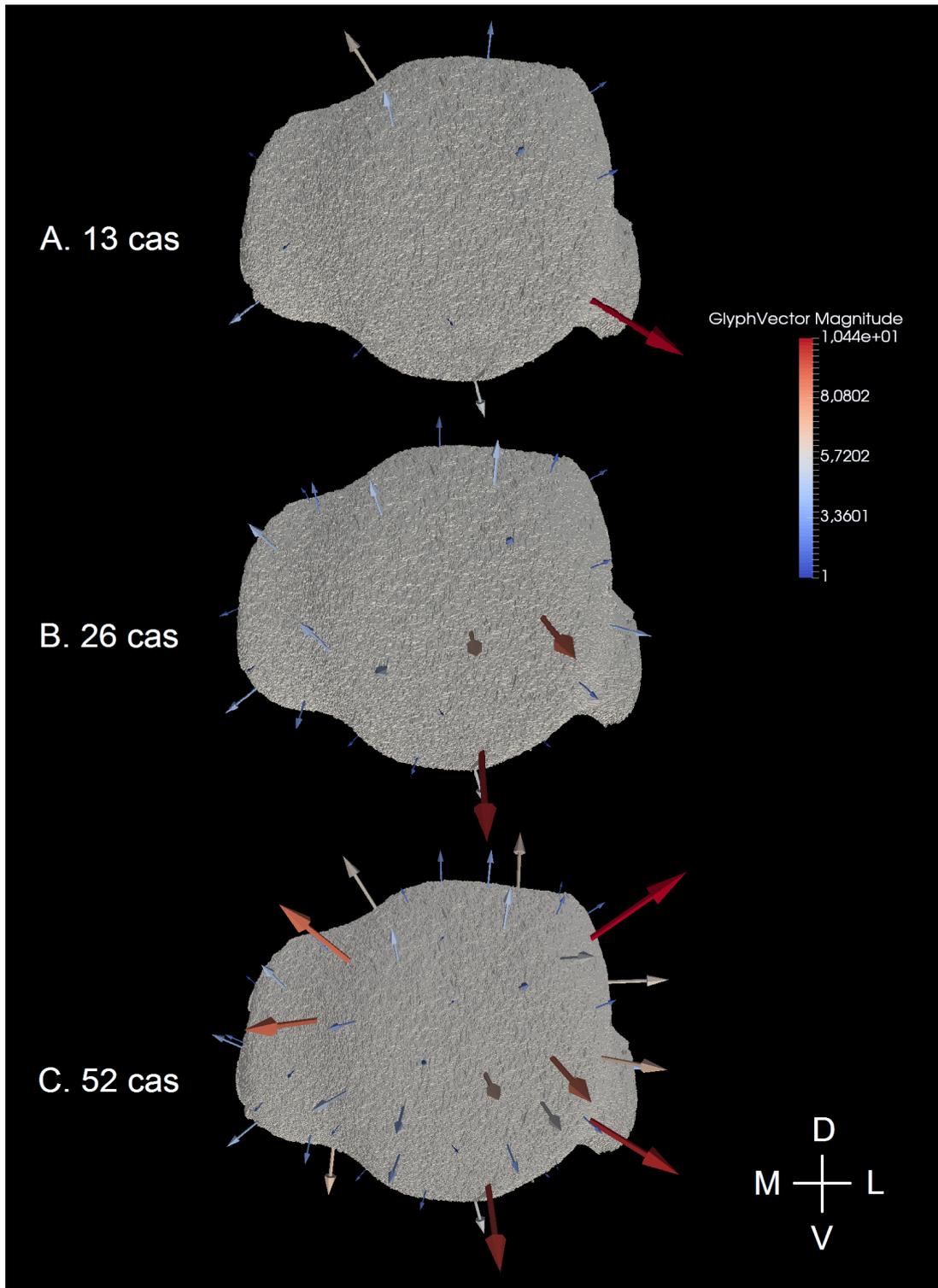


FIGURE 2.36 – Patrons de chargement calculés par l’algorithme chez *Emys*. Les densités d’énergie de déformation proviennent de l’ensemble des éléments finis de 13 (A), 26 (B) et 52 cas de charge (C) répartis de façon homogène. Le schéma en bas à droite oriente les figures : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

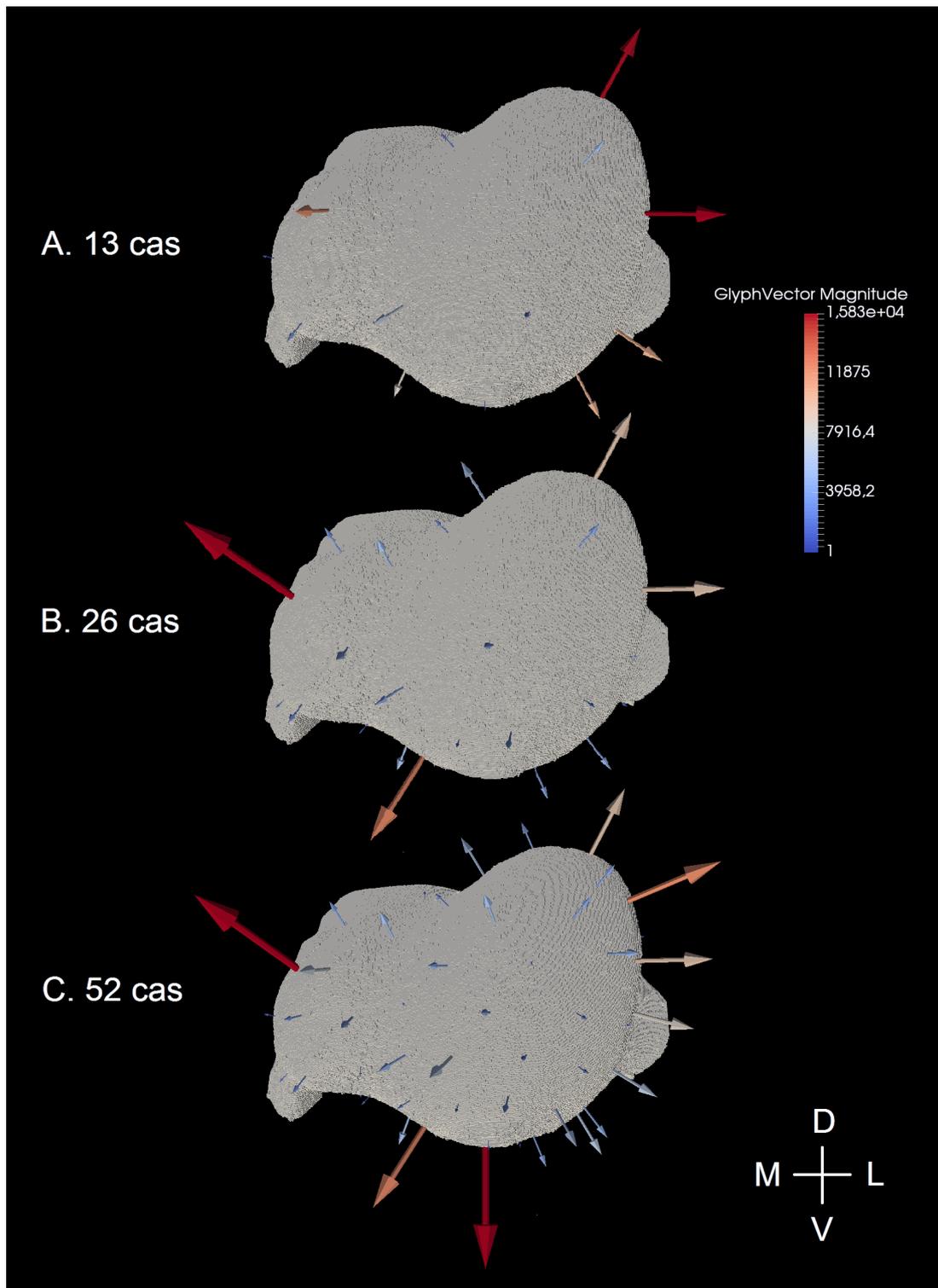


FIGURE 2.37 – Patrons de chargement calculés par l’algorithme chez *Kinosternon*. Les densités d’énergie de déformation proviennent de l’ensemble des éléments finis de 13 (A), 26 (B) et 52 cas de charge (C) répartis de façon homogène. Le schéma en bas à droite oriente les figures : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

Kinosternon (Figure 2.37). Les modèles avec 13 et 26 cas de charge montrent une localisation approximative des cas de charge importants (Figure 2.36, A et B ; Figure 2.37, A et B). En revanche, avec 52 cas de charge, on obtient une précision acceptable des positions des cas de charge importants.

Ainsi, cette expérience suggère qu'une cinquantaine de cas de charge minimum doit être positionnée pour avoir une bonne représentation du chargement. Pour les analyses portant sur les têtes fémorales de mammifères, les auteurs avaient positionné 27 et 29 cas de charge pour les deux individus humains, 33 pour le chien et 34 pour le lion des cavernes. Sachant que leurs spécimens sont plus grands que les tortues de cette étude, on peut se demander s'il aurait fallu positionner davantage de cas de charge pour avoir une meilleure représentation. D'un autre côté, les membres des mammifères se trouvent dans un plan parasagittal et l'ensemble des forces se trouve donc focalisé sur une seule zone, la partie proximale de l'articulation (Christen et al. 2015). Si les forces articulaires sont concentrées à un seul endroit, il ne semble pas nécessaire d'en ajouter davantage. Chez les tortues, les membres sont dans un plan transversal. Les forces principales se trouvent sur une large zone latéro-ventrale et sur un pic médio-dorsal (Figures 2.36, C et 2.37, C), si on tient compte de l'ensemble des éléments finis (le compartiment trabéculaire et l'enveloppe corticale) comme dans le cas des fémurs mammaliens. Si les forces sont plus diffuses sur les têtes articulaires, il est essentiel d'en ajouter plus pour mieux appréhender le patron de chargement.

2.5.5 Homogénéité des cas de charges

Dans cette section, des tests complémentaires sont effectués pour définir s'il est indispensable d'avoir une répartition homogène des cas de charge sur la surface articulaire. En effet, quand un cas de charge important est absent, on pourrait s'attendre à ce que les cas adjacents prennent en charge une partie de son amplitude. Ceci indiquerait qu'une répartition homogène n'est pas nécessaire.

Ainsi, à partir des valeurs extraites du compartiment trabéculaire, 30 et 40 cas de charge ont été prélevés aléatoirement cinq fois consécutives sur les 52 cas de charge existants. Puis l'algorithme a été testé pour connaître le patron de chargement. Le modèle *Emys* a été privilégié, car il n'a pas montré d'effet "porte-à-faux", contrairement à celui de *Kinosternon*.

Les résultats de ces différents tests sont visibles ci-dessous pour les 30 (Figure 2.38) et les 40 cas de charge (Figure 2.39). Pour les 30 cas de charge prélevés aléatoirement, les patrons A et D ressemblent beaucoup au patron original (Figure 2.23, A) : l'axe ventro-latéral à médio-dorsal est bien visible. Les patrons B et C montrent surtout une force importante médio-dorsalement. Chez le patron E, les forces importantes se trouvent principalement au centre de l'articulation. Pour les 40 cas de charge prélevés aléatoirement, les patrons A et E ressemblent beaucoup au patron original (Figure 2.23, A) : l'axe ventro-latéral à médio-dorsal est bien visible. Les patrons B et C montrent quelques forces importantes médio-dorsalement. Pour le patron D, un des cas de charge manque au centre de la surface articulaire : cela divise l'axe de chargement original en un pic ventro-latéral et une zone médio-dorsale.

Des patrons très différents apparaissent selon la répartition des cas de charge. Certains ressemblent fortement au patron original, alors que d'autres donnent une nouvelle représentation, qui pourrait mener à un raisonnement erroné. L'absence d'un cas de charge important ne dilue pas son amplitude sur les cas de charge proches (ceci est particuliè-

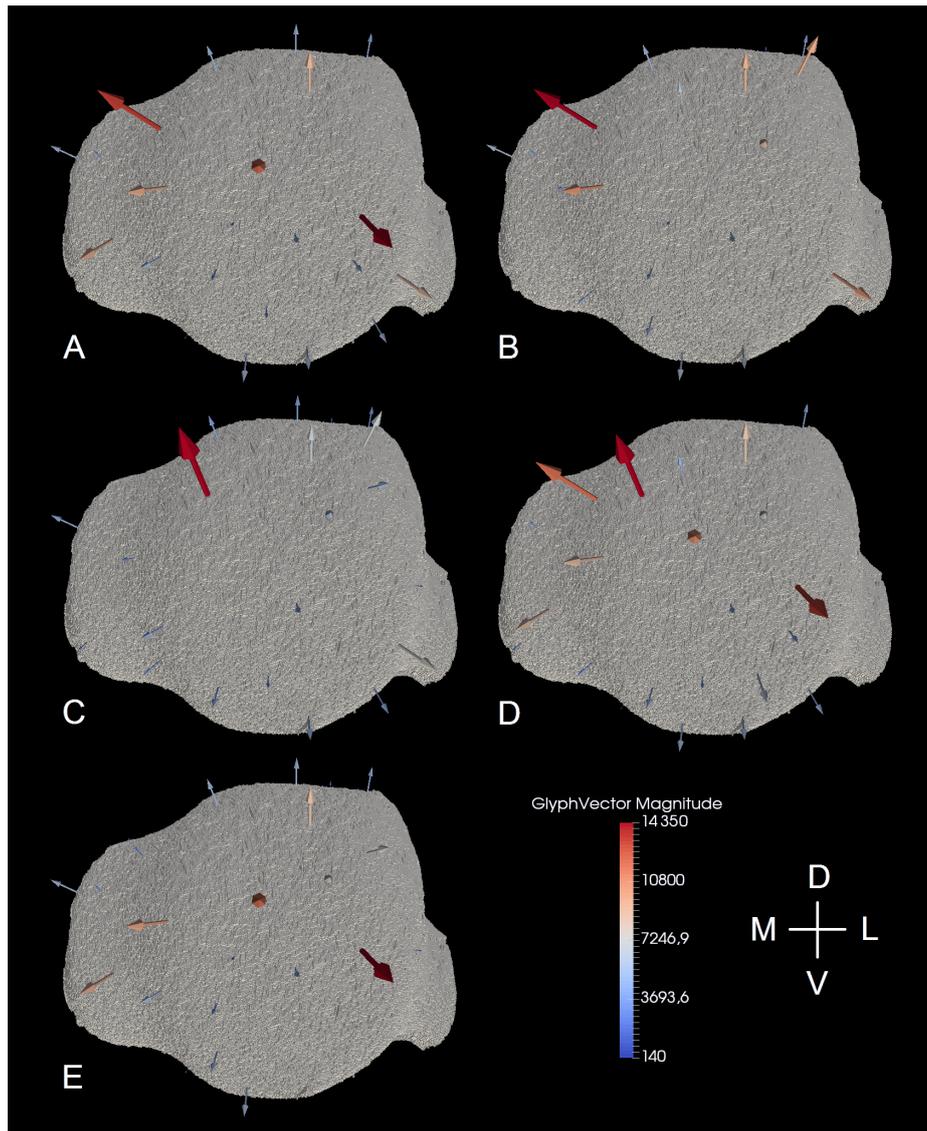


FIGURE 2.38 – Patterns de chargement calculés par l’algorithme chez *Emys*. Les densités d’énergie de déformation proviennent de l’ensemble des éléments finis de 30 cas de charge pris aléatoirement parmi les 52 cas existants. Le schéma en bas à droite oriente les figures : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

rement flagrant sur les Figures 2.38, C et E, ainsi que 2.39, C et D), celle-ci est juste ignorée. Une répartition homogène est donc nécessaire pour extraire un patron de chargement valide.

2.6 Conclusion : Avantages et limitations de la méthode

Dans ce chapitre, divers problèmes méthodologiques ont pu être examinés. La reproductibilité et la sensibilité ont été confirmées (Christen et al. 2016). La plausibilité des

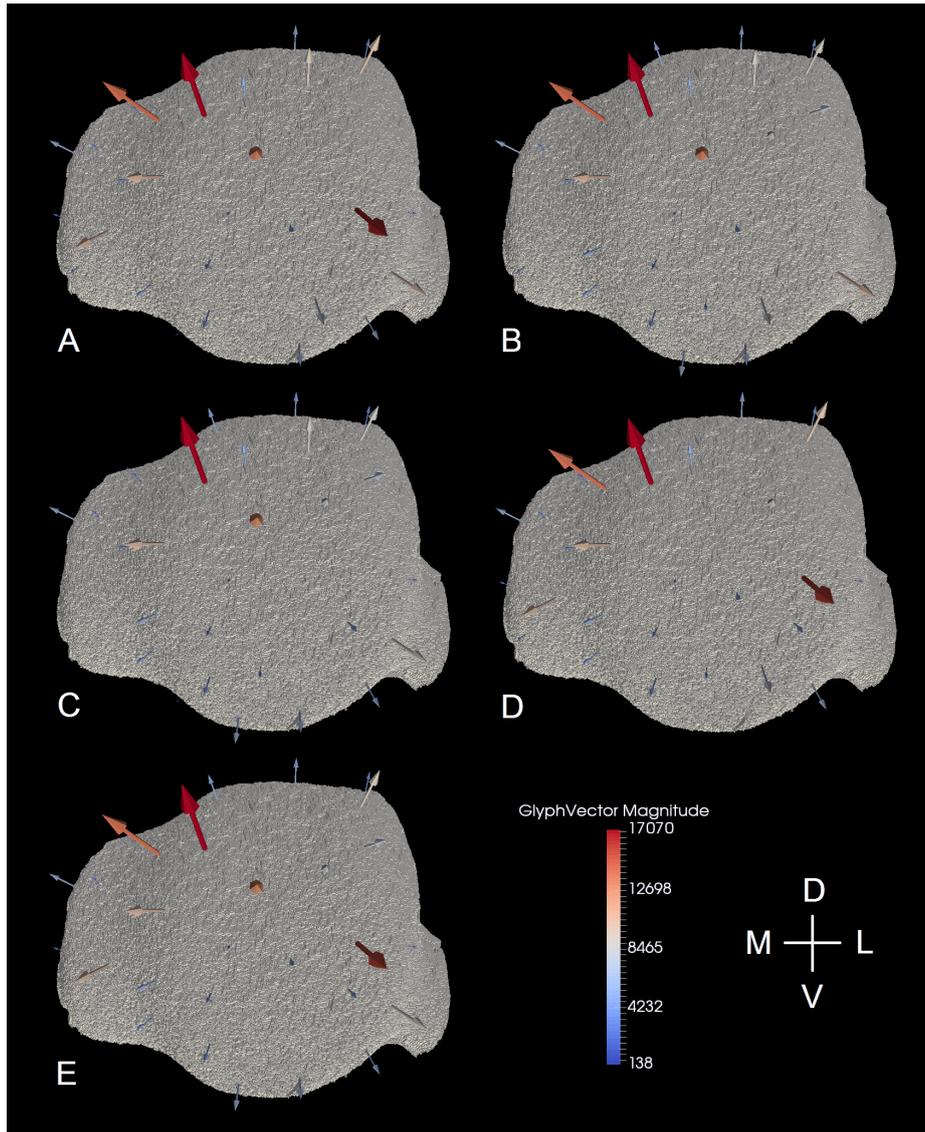


FIGURE 2.39 – Patrons de chargement calculés par l’algorithme chez *Emys*. Les densités d’énergie de déformation proviennent de l’ensemble des éléments finis de 40 cas de charge pris aléatoirement parmi les 52 cas existants. Le schéma en bas à droite oriente les figures : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

résultats a également été vérifiée : les directions des charges maximales sont plausibles, même si les amplitudes prédites excèdent celles mesurées in vivo (Synek & Pahr 2018). Des charges plus faibles ont pu être détectées médialement et latéralement (Christen et al. 2015, Synek & Pahr 2018) et plusieurs raisons ont déjà été avancées (génétique, hormones, homéostasie du calcium...).

L’algorithme n’est pas influencé par la résolution, si elle est inférieure à 82 μm (Christen et al. 2016). Néanmoins, cette limite est valable uniquement pour l’espèce humaine (La grande majorité des spécimens étudiés a une résolution nettement inférieure à cette valeur).

Dans les analyses de cette thèse, l’accent est porté sur la distribution des cas de charge

importants et sur leur amplitude relative par rapport aux autres (leur amplitude absolue est moins préoccupante). D'après les précédentes études et toutes les différentes conditions qui ont pu être testées, les distributions des charges maximales sont très robustes, alors que les amplitudes sont hautement plus sensibles (Synek & Pahr 2018). Pourtant, la position des cas de charge peut tout de même affecter la direction des charges maximales (Synek & Pahr 2018). Une conclusion similaire est obtenue avec ces tests sur l'homogénéité des cas de charge.

Certains paramètres, tels que la surface chargée, le seuillage de segmentation, le module de Young et la valeur cible physiologique, affectent seulement l'amplitude de la charge maximale de façon assez importante (Synek & Pahr 2018). En revanche, la taille de la région d'intérêt, le nombre de cas de charge, ainsi que leur distribution influencent l'amplitude de cette charge dans une moindre mesure (Synek & Pahr 2018). Ces données sont valables essentiellement pour des fémurs humains. Chez les tortues, l'ajout de cas de charge supplémentaires peut augmenter drastiquement la résolution du patron de chargement.

Les résultats présentés ici signalent aussi un effet non négligeable des conditions aux limites de fixation des modèles. En effet, l'algorithme calcule des amplitudes plus importantes, dans les cas où elles sont dans le même alignement que l'orientation principale des travées. Il est possible qu'une partie des résultats des précédentes études ait ainsi été biaisée par ces conditions aux limites.

Pour des modèles autres que des fémurs mammaliens ou des métacarpes de primates, il est également préférable de focaliser l'analyse sur le compartiment trabéculaire pour éviter des biais liés à l'enveloppe corticale. Toutefois, les métacarpes semblent donner des résultats comparables entre les travées et la région osseuse entière, mais uniquement si peu d'éléments corticaux sont présents (Synek et al. 2019). Une augmentation de la taille de la région d'intérêt, et donc d'un ajout d'éléments corticaux, mène à un résultat totalement différent de celui du compartiment trabéculaire.

Christen et al. (2015) avaient utilisé des têtes fémorales de mammifères, qui sont des articulations presque sphériques. Pour leurs analyses, Synek et al. (2019) se servaient de métacarpes distaux de primates, avec une couche de cartilage (caractérisée comme une sphère, dont le centre était confondu avec celui de l'épiphyse distale) : les cas de charge étaient appliqués, selon un plan sagittal, sur une articulation circulaire. Dans l'étude présentée ici, l'algorithme d'estimation des charges a été utilisé sur les têtes humérales de deux tortues. Le modèle *Emys* possède une articulation humérale arrondie, mais non sphérique. Celui de *Kinosternon* montre une articulation arrondie à certains endroits, mais aussi une pointe dorsale. Celle-ci a conduit à une anomalie de l'algorithme, l'effet "porte-à-faux", dont les cas de charge biaisés, peuvent être identifiés grâce à leur faible indice d'inhomogénéité (CV). Des modèles plus complexes, comme ceux étudiés dans cette étude, permettent de connaître les limites de la méthode d'estimation des chargements articulaires.

Les prédictions de l'algorithme supposent que la structure osseuse est uniquement le résultat d'un stimulus mécanique. Mais les forces externes ne sont pas les seules à déterminer cette microarchitecture osseuse.

L'os est un tissu dynamique stockant du calcium et du phosphore et répondant à des changements métaboliques et nutritionnels. La microstructure osseuse est aussi déterminée par un remodelage stochastique : il n'est pas ciblé sur un site spécifique (Burr 2002). Toutefois, les effets de ce facteur ainsi que du paramètre génétique ont déjà été testés

(Christen et al. 2013b) : les prédictions de l’algorithme ne seraient pas affectées significativement par la nature stochastique de remodelage osseux (erreur maximale de 2.8%) ou par des variations génétiques (erreur maximale de 3.5%). L’os peut également être influencé par des déficiences hormonales (Rodan 1991). Tous ces différents paramètres expliquent que le chargement du tissu ne puisse être totalement homogène.

Dans les études précédentes (Christen et al. 2015, Synek & Pahr 2018, Synek et al. 2019, cette étude), l’algorithme cherche à estimer uniquement les efforts articulaires. Les efforts musculaires et les forces liées aux tendons sont ignorés. Une perspective intéressante serait d’estimer ces deux paramètres. Pour cela, il suffirait par exemple de sélectionner un des processus musculaires proximaux de l’humérus d’une tortue et d’appliquer sur lui successivement plusieurs cas de charge. Ces cas de charge, contrairement à ceux appliqués sur des articulations, ne seraient pas forcément normaux et il faudrait par conséquent tester plusieurs directions différentes sur chaque élément fini sélectionné.

2.7 Références bibliographiques

Bona, M. A., Martin, L. D., & Fischer, K. J. (2006). A contact algorithm for density-based load estimation. *Journal of biomechanics*, 39(4), 636-644.

Burr, D. B. (2002). Targeted and nontargeted remodeling. *Bone*, 30, 2-4.

Christen, P., van Rietbergen, B., Lambers, F. M., Müller, R., & Ito, K. (2012). Bone morphology allows estimation of loading history in a murine model of bone adaptation. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 11(3-4), 483-492.

Christen, P., Ito, K., Knippels, I., Müller, R., van Lenthe, G. H., & van Rietbergen, B. (2013a). Subject-specific bone loading estimation in the human distal radius. *Journal of biomechanics*, 46(4), 759-766.

Christen, P., Ito, K., dos Santos, A. A., Müller, R., & van Rietbergen, B. (2013b). Validation of a bone loading estimation algorithm for patient-specific bone remodelling simulations. *Journal of Biomechanics*, 46(5), 941-948.

Christen, P., Ito, K., Ellouz, R., Boutroy, S., Sornay-Rendu, E., Chapurlat, R. D., & Van Rietbergen, B. (2014). Bone remodelling in humans is load-driven but not lazy. *Nature communications*, 5, 4855.

Christen, P., Ito, K., Galis, F., & van Rietbergen, B. (2015). Determination of hip-joint loading patterns of living and extinct mammals using an inverse Wolff’s law approach. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 14(2), 427-432.

Christen, P., Schulte, F. A., Zwahlen, A., Van Rietbergen, B., Boutroy, S., Melton III, L. J., Amin, S., Khosla, S., Goldhahn, J., & Müller, R. (2016). Voxel size dependency, reproducibility and sensitivity of an in vivo bone loading estimation algorithm. *Journal of The Royal Society Interface*, 13(114), 20150991.

Currey, J. D. (1987). The evolution of the mechanical properties of amniote bone. *Journal of biomechanics*, 20(11-12), 1035-1044.

Cusano, N. E., Nishiyama, K. K., Zhang, C., Rubin, M. R., Boutroy, S., McMahon, D. J., Guo, X. E., & Bilezikian, J. P. (2015). Noninvasive Assessment of Skeletal Microstructure and Estimated Bone Strength in Hypoparathyroidism. *Journal of Bone and Mineral Research*, 31(2), 308-316

Davenport, J., Munks, S. A., & Oxford, P. J. (1984). A comparison of the swimming of marine and freshwater turtles. *Proceedings of the Royal Society of London B : Biological Sciences*, 220(1221), 447-475.

Diedrich, C. G., & Rathgeber, T. (2012). Late Pleistocene steppe lion *Panthera leo spelaea* (Goldfuss 1810) skeleton remains of the Upper Rhine Valley (SW Germany) and contributions to their sexual dimorphism, taphonomy and habitus. *Historical Biology*, 24(1), 1-28.

Erickson, G. M., Catanese III, J., & Keaveny, T. M. (2002). Evolution of the biomechanical material properties of the femur. *The Anatomical Record : An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 268(2), 115-124.

Ficetola, G. F., Padoa-Schioppa, E., Monti, A., Massa, R., Bernardi, F. D., & Bottoni, L. (2004). The importance of aquatic and terrestrial habitat for the European pond turtle (*Emys orbicularis*) : Implications for conservation planning and management. *Canadian Journal of Zoology*, 82(11), 1704–1712.

Fischer, K. J., Jacobs, C. R., & Carter, D. R. (1995). Computational method for determination of bone and joint loads using bone density distributions. *Journal of Biomechanics*, 28(9), 1127-1135.

Fischer, K. J., Jacobs, C. R., Levenston, M. E., Cody, D. D., & Carter, D. R. (1998). Bone load estimation for the proximal femur using single energy quantitative CT data. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 1(3), 233-245.

Fischer, K. J., Jacobs, C. R., Levenston, M. E., Cody, D. D., & Carter, D. R. (1999). Proximal femoral density patterns are consistent with bicentric joint loads. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 2(4), 271-283.

Gilchrist, S., Nishiyama, K. K., De Bakker, P., Guy, P., Boyd, S. K., Oxland, T., & Cripton, P. A. (2014). Proximal femur elastic behaviour is the same in impact and constant displacement rate fall simulation. *Journal of biomechanics*, 47(15), 3744-3749.

Martin, R. B., Burr, D. B., Sharkey, N. A., & Fyhrie, D. P. (1998). *Skeletal tissue mechanics* (Vol. 190). New York : Springer.

Mullender, M. G., & Huiskes, R. (1995). Proposal for the regulatory mechanism of Wolff's law. *Journal of orthopaedic research*, 13(4), 503-512.

Pierce, S. E., Clack, J. A., & Hutchinson, J. R. (2012). Three-dimensional limb joint mobility in the early tetrapod *Ichthyostega*. *Nature*, 486 (7404), 523–526.

Plasse, M., Amson, E., Bardin, J., Grimal, Q., & Germain, D. (2019). Trabecular architecture in the humeral metaphyses of non-avian reptiles (Crocodylia, Squamata and Testudines) : Lifestyle, allometry and phylogeny. *Journal of Morphology*, 280, 982-998.

Rayfield, E. J. (2007). Finite element analysis and understanding the biomechanics and evolution of living and fossil organisms. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 35, 541-576.

Rodan, G. A. (1991). Perspectives : mechanical loading, estrogen deficiency, and the coupling of bone formation to bone resorption. *Journal of Bone and Mineral Research*, 6(6), 527-530.

Synek, A., & Pahr, D. H. (2018). Plausibility and parameter sensitivity of micro-finite element-based joint load prediction at the proximal femur. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 17(3), 843-852.

Synek, A., Dunmore, C. J., Kivell, T. L., Skinner, M. M., & Pahr, D. H. (2019). Inverse remodelling algorithm identifies habitual manual activities of primates based on metacarpal bone architecture. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 18(2), 399-410.

Chapitre 3

Méthode d'estimation des charges articulaires : application aux têtes humérales de tortues

3.1 Introduction

Dans le chapitre 2, différents problèmes méthodologiques ont été traités sur divers modèles contrôlés, ainsi que sur deux humérus de tortues actuelles. Dans ce chapitre, cette méthode d'estimation des charges sera appliquée uniquement sur des modèles d'éléments finis provenant de spécimens, issus de collections anatomiques.

Christen et al. (2015) ont étudié des fémurs de mammifères. Dans ce groupe, les membres sont parasagittaux : ils se trouvent directement sous le corps de l'animal (Figure 3.1, A). Chez les reptiles, les membres sont transversaux : ils se trouvent sur les côtés de l'animal (Figure 3.1, B). Christen et al. (2015) détectent des chargements dorsaux, très localisés chez les humains et se propageant médialement chez les carnivores. Chez un reptile marcheur, on peut s'attendre à avoir également un chargement plus important sur la face dorsale de l'articulation du membre étudié, bien que celui-ci s'articule dans un plan plus horizontal.

Comme pour les chapitres précédents, l'os d'étude pour les analyses sera l'humérus. Le clade avec des membres transversaux qui sera étudié, sera celui des tortues. A l'intérieur de ce groupe, les spécimens sont suffisamment grands pour avoir un nombre important de travées osseuses. Leurs os ne montrent pas de front d'ossification, dont la présence aurait nettement complexifié les modèles. De plus, dans ce clade, on trouve plus de 300 espèces actuelles (Vitt & Caldwell 2014), ainsi qu'une diversité de comportements locomoteurs (plusieurs types de nage et de marche) et de modes de vie (aquatique, amphibie et terrestre).

Chez les tortues, la tête humérale est dirigée vers le haut (morphologiquement) et s'articule avec la scapula (Romer 1956, Figure 3.2). La diaphyse de l'humérus se trouve dans un plan horizontal.

Contrairement à d'autres tétrapodes (salamandres, lézards ou crocodyliens) qui possèdent des queues allongées leur permettant de nager via des ondulations latérales du corps (les membres étant pressés contre le tronc), la plupart des tortues actuelles ont des queues très réduites qui ne peuvent jouer un rôle dans la locomotion (Willey & Blob 2004). La fusion des vertèbres dorsales à la carapace impose également une rigidité à la

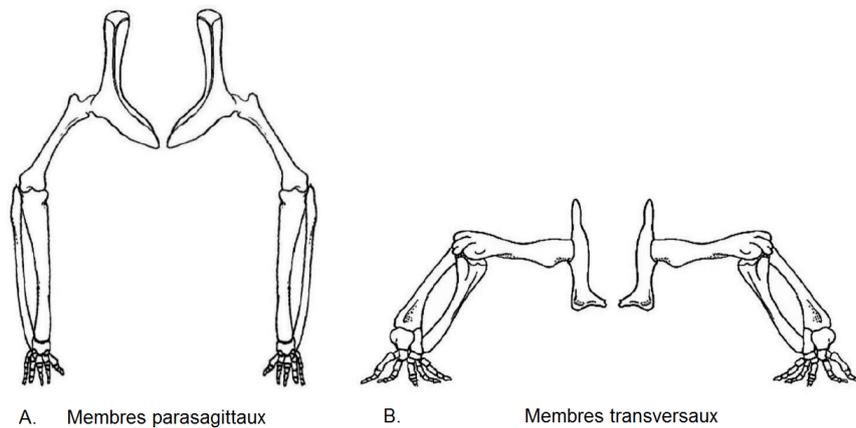


FIGURE 3.1 – Postures à membres transversaux (A) et parasagittaux (B). Modifiée d’après Hogervorst et al. (2009).

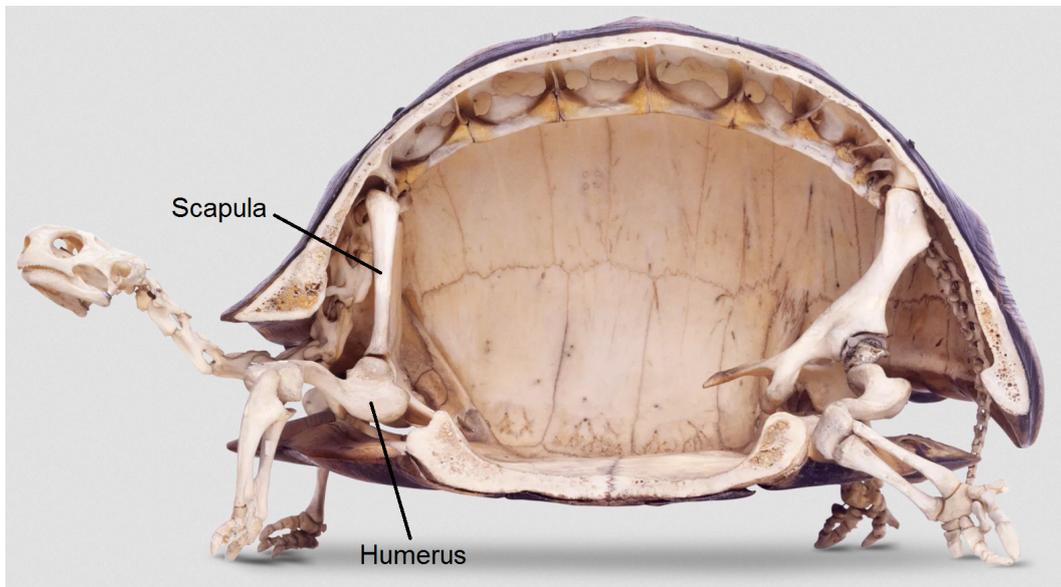


FIGURE 3.2 – Coupe sagittale d’un squelette d’*Astrochelys radiata*.

colonne vertébrale, empêchant ainsi les ondulations latérales du corps (Blob et al. 2016). Comme ces tortues utilisent uniquement leurs membres pour se déplacer, un signal locomoteur important sera probablement enregistré au niveau de leurs travées humérales. Par conséquent, elles constituent des sujets pertinents pour tester cet algorithme d’estimation des charges sur des spécimens actuels.

Ici, quatre tortues amphibies actuelles seront comparées. En milieu aquatique, deux de ces tortues préfèrent marcher, alors que les deux autres favorisent plutôt la nage.

Chez les tortues marcheuses, la force appliquée sur l’humérus est une résultante de la tension des muscles dentelés, qui transmettent le poids de l’animal, et la force exercée

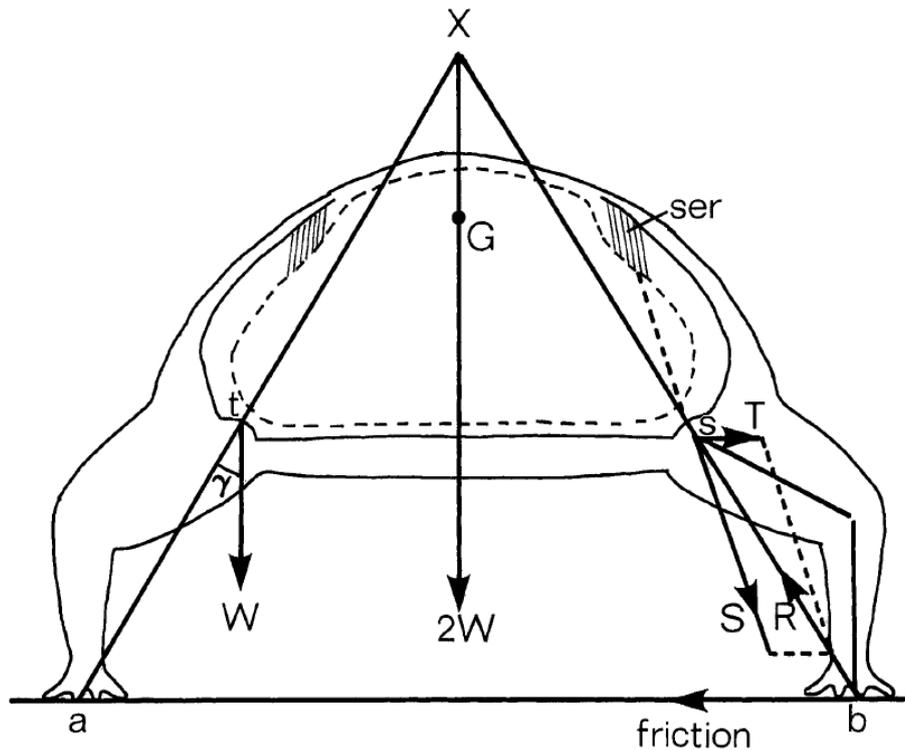


FIGURE 3.3 – Représentation statique de la posture à membres transversaux. Les axes $a-t$ et $b-s$ ont la même inclinaison avec l'axe vertical (γ) et sont supposés porter la même charge (W). Les réactions du sol (R) sont appliquées sur les pattes, passent par le centre de rotation des cavités glénoïdes et se rencontrent au point X juste au dessus du centre de gravité (G). Le poids du corps ($2W$) est transmis aux scapulae par les muscles dentelés (ser), et la force appliquée sur le membre par chaque glénoïde représente la résultante de la tension des muscles dentelés (S) et de la force exercée par les éléments ventraux de la ceinture (T). Modifiée d'après Gray (1944).

par les éléments ventraux (Figure 3.3). Il s'agit d'une force principalement dorsale : on s'attend donc à trouver un patron de chargement localisé surtout dorsalement sur la tête humérale.

Chez les tortues nageuses, une autre force intervient : la poussée d'Archimède. Cette force est dirigée de bas en haut et opposée au poids du volume de fluide déplacé : la poussée d'Archimède permet de définir la flottabilité d'un corps. La flottabilité est différente selon la densité de l'animal : les tortues avec une densité supérieure à 1 vont couler et celles avec une densité inférieure à 1 vont flotter (Zug 1971). George Zug (1971) a mesuré les densités de plusieurs espèces de tortues. Avant l'expérience, il supposait que les tortues marcheuses sur les fonds auraient une plus grande densité que les nageuses, pour ne pas épuiser une grande partie de leur activité locomotrice afin de rester sur le fond. Cependant, les résultats supportent l'inverse de son hypothèse. En effet, les tortues nageuses ont une densité supérieure à 1 (entre 1,020 et 1,053 pour *Kinosternon*, *Cuora* et *Notochelys*) ; alors que les tortues marcheuses ont une densité inférieure à 1 (0,978 pour *Emydoidea*). Il propose alors comme explication, que le volume des poumons et la forme

de la carapace (en forme de dôme ou non) détermine la capacité des tortues à couler ou à flotter. Étant donné que les tortues nageuses ont tendance à couler, elles ont besoin d'effectuer régulièrement un mouvement dirigé vers le haut afin de respirer et d'être stable verticalement : on s'attend donc à trouver un patron de chargement plutôt localisé sur la partie ventrale sur la tête humérale.

Les patrons de chargement huméraux de ces tortues actuelles seront extraits, comparés et une différence de chargement entre les deux préférences locomotrices est attendue. Par conséquent, l'objectif de ce chapitre est d'extraire un signal locomoteur chez ces animaux, comme cela a déjà été fait sur les fémurs mammaliens (Christen et al. 2015) ou sur les métacarpes de primates (Synek et al. 2019). Enfin, le patron de chargement sera extrait chez deux tortues fossiles, puis comparé avec les tortues actuelles et leur locomotion sera ainsi inférée.

3.2 Matériels et méthodes

3.2.1 Taxonomie

Les tortues actuelles sont divisées en deux clades d'après le mouvement de rétraction de leur cou : les cryptodira et les pleurodira (Vitt & Caldwell 2014). L'échantillonnage sera composé d'un humérus de 4 espèces de tortues amphibies actuelles : *Kinosternon leucostomum* Duméril & Bibron 1851, *Mauremys leprosa* Schweigger 1812 et *Emys orbicularis* Linnaeus 1758, au sein de l'ordre des cryptodira et *Pelusios gabonensis* Duméril 1856, pour celui des pleurodira (Figure 3.4).

Un spécimen fossile appartenant au genre *Hylaeochelys* Lydekker 1889 a également été ajouté. Ce genre a été récemment inclus dans le sous-ordre Eucryptodira, appartenant à l'ordre des Cryptodira (Pérez-Garcia & Ortega 2014). Ce spécimen provient du gisement paléontologique d'Angeac-Charente (France), datant du Crétacé inférieur (Néraudeau et al. 2012). Les fossiles et la stratigraphie de ce site indique que l'environnement ressemblait à un marais, à proximité d'une forêt, occasionnellement connecté à la mer (Néraudeau et al. 2012). Sur d'autres gisements, le genre *Hylaeochelys* a pu être également interprété comme un taxon d'eau douce (Pérez-Garcia & Ortega 2014).

Un autre spécimen fossile a également été inclus dans l'analyse. Celui-ci appartient à l'espèce *Trionyx stiriacus* Peters 1855 de l'ordre des Cryptodira (Vremir et al. 1997). Ce spécimen a été trouvé sur le site d'Artenay (France) datant du Miocène (Broin 1977). Toutes les espèces appartenant au genre *Trionyx* s'accommodent de divers milieux aquatiques : rivières, torrents, étangs, lacs ou rivages de mer (Broin 1977, Vitt & Caldwell 2014).

3.2.2 Locomotion

Les quatre tortues actuelles sont amphibies, c'est à dire qu'elles passent beaucoup de temps à la fois sur terre et dans l'eau. Néanmoins, il est possible de les séparer en deux groupes selon leurs préférences locomotrices en milieu aquatique : les tortues marcheuses et les nageuses. Bien évidemment, ces préférences sont des tendances, il est parfois difficile de poser une limite entre ces deux comportements.

• ***Kinosternon leucostomum* (nageuse)** : L'espèce proche *K. subrubrum* semble être plus active à marée haute, où elle a été observée en train de nager (Cordero & Swarth



FIGURE 3.4 – *Kinosternon leucostomum* (A), *Mauremys leprosa* (B), *Emys orbicularis* (C) et *Pelusios gabonensis* (D).

2010). Au cours de sa nage, une vitesse maximale de 12,8 cm/s a pu être enregistrée expérimentalement (Davenport et al. 1984). *Kinosternon subrubrum* est également capable d'escalader des surfaces rocheuses verticales et de se déplacer sur terre pour aller lézarder sur les rochers et les branches (Davenport et al. 1984). Néanmoins, l'activité terrestre de *Kinosternon leucostomum* est uniquement induite par l'assèchement des lacs au printemps ou par la saison de nidification (Morales-Verdeja & Vogt 1997).

- ***Mauremys leprosa* (nageuse)** : Elle est souvent observée en train de nager à la surface de l'eau (Fraysse 2002). Une vitesse maximale de 22,7 cm/s a même été enregistrée pendant la nage d'une espèce proche, *M. caspica* (Davenport et al. 1984). Néanmoins, si les mares s'assèchent, *M. leprosa* peut effectuer des déplacements terrestres afin de parvenir à de nouveaux points d'eau (Fraysse 2002).

- ***Emys orbicularis* (marcheuse)** : Chez *Emys*, l'activité terrestre est fréquemment utilisée pour les déplacements, l'hibernation et l'estivation (Ficetola & De Bernardi 2006). Des migrations dépassant un kilomètre ne sont pas rares. De plus, Ficetola & De Bernardi (2006) ont noté une abondance d'insectes terrestres dans son alimentation. Les femelles parcourent parfois de longues distances (jusqu'à 4 kilomètres) pour trouver un lieu de ponte, souvent dans des zones ouvertes près des bois (Ficetola et al. 2004, Ficetola & De Bernardi 2006). Un paysage boisé pourrait aussi être favorable pour les nouveaux-nés, lorsqu'ils quittent le nid (Ficetola et al. 2004).

- ***Pelusios gabonensis* (marcheuse)** : *Pelusios*, ainsi que les autres espèces de la famille de Pelomedusidae, sont des tortues marchant au fond de milieux d'eaux calmes, tels que les lacs, les marais ou les marécages (Vitt & Caldwell 2014).

- ***Hylaeochelys* sp. (locomotion inconnue)** : Pour *Hylaeochelys*, il n'existe dans la littérature aucune donnée liée à sa locomotion.

- ***Trionyx stiriacus* sp. (locomotion inconnue)** : Il n'existe dans la littérature aucune donnée liée à la locomotion pour cette espèce fossile. Cependant, les espèces actuelles de ce genre semble plutôt nageuses. En effet, leur corps aplati en font de bonnes nageuses rapides et agiles (Burghardt et al. 1996, Vitt & Caldwell 2014). Toutefois, elles passent la plupart de leur temps enfouies dans la vase en eaux peu profondes, levant occasionnellement leurs têtes vers le haut pour respirer (Burghardt et al. 1996, Vitt & Caldwell 2014). Bien que le genre *Trionyx* soit fortement aquatique, des individus de *T. triunguis* sont régulièrement aperçus en train de lézarder sur des bancs de boue ou de sable (Burghardt et al. 1996).

Au vu des informations récoltées ci-dessus, *Kinosternon* et *Mauremys* sont supposés comme étant plutôt de bonnes nageuses, s'aventurant rarement sur terre, et *Emys* et *Pelusios* seraient plutôt des marcheuses ("bottom-walker"). Toutefois, *Emys* et *Pelusios* n'ont pas la même locomotion. En effet, chez les pleurodira, le pelvis est fusionné à la carapace alors qu'il est libre de tourner chez les cryptodira (Mayerl et al. 2016). Cela mène à une plus grande protraction fémorale durant la marche et la nage des cryptodires par rapport à celles des pleurodires (Mayerl et al. 2016). On peut donc supposer que le patron de chargement sera différent entre les humeri des deux clades.

3.2.3 Génération des modèles d'éléments finis

Tous ces modèles proviennent de têtes humérales de spécimens adultes. Pour chacun des modèles d'éléments finis suivants :

- Les processus musculaires ont été retirés et les conditions aux limites de fixation ont été déterminées à ces endroits.
- L'enveloppe corticale et le compartiment trabéculaire ont les mêmes propriétés mécaniques que ceux des articles de Christen et al. (2012, 2015) : un module de Young de 10 GPa et un coefficient de Poisson de 0,3.
- 52 cas de charges ont été appliqués sur la surface articulaire.
- Uniquement les densités d'énergie de déformation du compartiment trabéculaire ont été extraites.

Kinosternon leucostomum Ce modèle provient d'un spécimen de *Kinosternon leucostomum* référencé comme MNHN-ZA-AC-1911-309 (Figure 3.5) et hébergé au Muséum national d'Histoire naturelle. La résolution de ce scan est de 13,60 μm . Le modèle généré contient 6 044 654 éléments finis : 3 444 106 pour le compartiment trabéculaire et 2 600 548 pour l'enveloppe. Les conditions aux limites sont fixées au niveau du plan distal (celui du bas) et du plan ventral (celui de la page, Figure 3.5, B).

Mauremys leprosa Ce modèle provient d'un spécimen de *Mauremys leprosa* référencé comme MNHN-ZA-AC-1885-418 (Figure 3.6) et hébergé au Muséum national d'Histoire naturelle. La résolution de ce scan est de 23,20 μm . Le modèle généré contient 7 171 309 éléments finis : 3 820 627 pour le compartiment trabéculaire et 3 350 682 pour l'enveloppe. Les conditions aux limites sont fixées au niveau du plan distal (celui du bas), du plan latéral (plan à gauche, Figure 3.6, A et plan à droite, Figure 3.6, B) et du plan ventral (celui de la page, Figure 3.6, B).

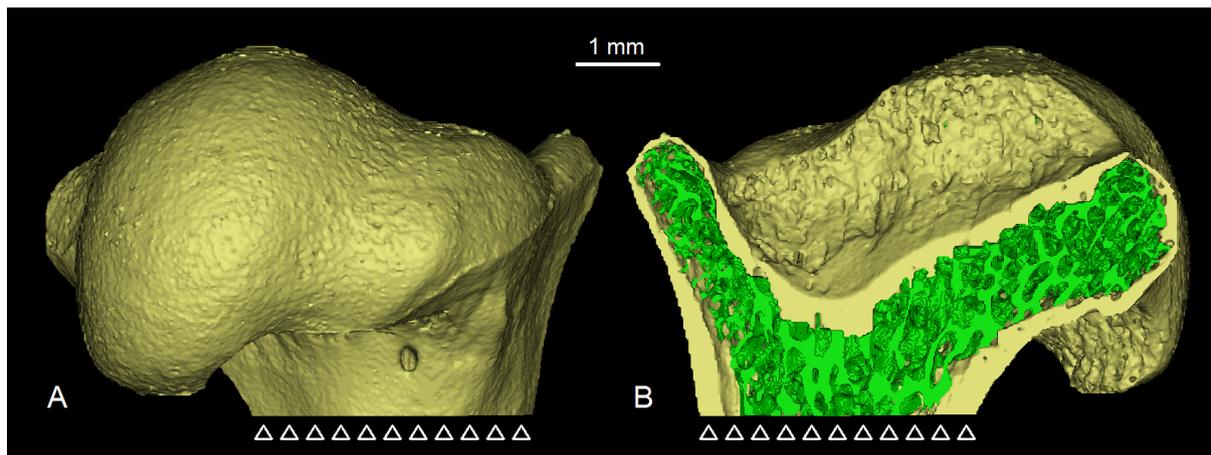


FIGURE 3.5 – Modèle *Kinosternon* en vue dorsale (A) et ventrale (B).

Même en utilisant un seuillage adapté, ce spécimen montrait des trous dans la surface articulaire (Figure 3.6, C et D). Il est possible que le spécimen soit un subadulte et que certaines parties de l’humérus n’aient pas été totalement ossifiées. Néanmoins, ces trous n’étaient pas visibles sur le spécimen original. Afin de pouvoir utiliser l’algorithme d’estimation des charges, une surface articulaire presque complète est nécessaire. Par conséquent, ces ouvertures ont été comblées par des ajouts de voxels d’os en jouant sur les différents vues et sur les voxels appartenant au cartilage (Figure 3.6, E et F).

Emys orbicularis Ce modèle provient d’un spécimen d’*Emys orbicularis* référencé comme MNHN-ZA-AC-2014-2 (Figure 3.7) et hébergé au Muséum national d’Histoire naturelle. Sa résolution est de $16,36 \mu\text{m}$. Le modèle généré contient 7 775 090 éléments finis : 4 539 638 pour le compartiment trabéculaire et 3 235 451 pour l’enveloppe. Les conditions aux limites sont fixées au niveau du plan distal (celui du bas), du plan latéral (plan à gauche, Figure 3.7, A et plan à droite, Figure 3.7, B) et du plan ventral (celui de la page, Figure 3.7, B).

Pelusios gabonensis Ce modèle provient d’un spécimen de *Pelusios gabonensis* référencé comme MNHN-ZA-AC-1934-373 (Figure 3.8) et hébergé au Muséum national d’Histoire naturelle. Sa résolution est de $40,40 \mu\text{m}$. Le modèle généré contient 5 848 629 éléments finis : 4 302 037 pour le compartiment trabéculaire et 1 546 592 pour l’enveloppe. Les conditions aux limites sont fixées au niveau du plan distal (celui du bas), du plan latéral (plan à droite, Figure 3.8, B) et du plan ventral (plan à gauche, Figure 3.8, B).

***Hylaeochelys* sp.** Ce modèle provient d’un spécimen de *Hylaeochelys* référencé comme ANG18-5938 (Figure 3.9) et hébergé au Musée d’Angoulême. La résolution de ce scan est de $40,80 \mu\text{m}$. Le modèle généré contient 5 513 268 éléments finis : 4 222 529 pour le compartiment trabéculaire et 1 290 739 pour l’enveloppe. Les conditions aux limites sont fixées au niveau du plan distal (celui du bas), du plan latéral (plan à gauche, Figure 3.9, A et plan à droite, Figure 3.9, B), du plan médial (plan à droite, Figure 3.9, A et plan à gauche, Figure 3.9, B) et du plan ventral (celui de la page, Figure 3.9, B).

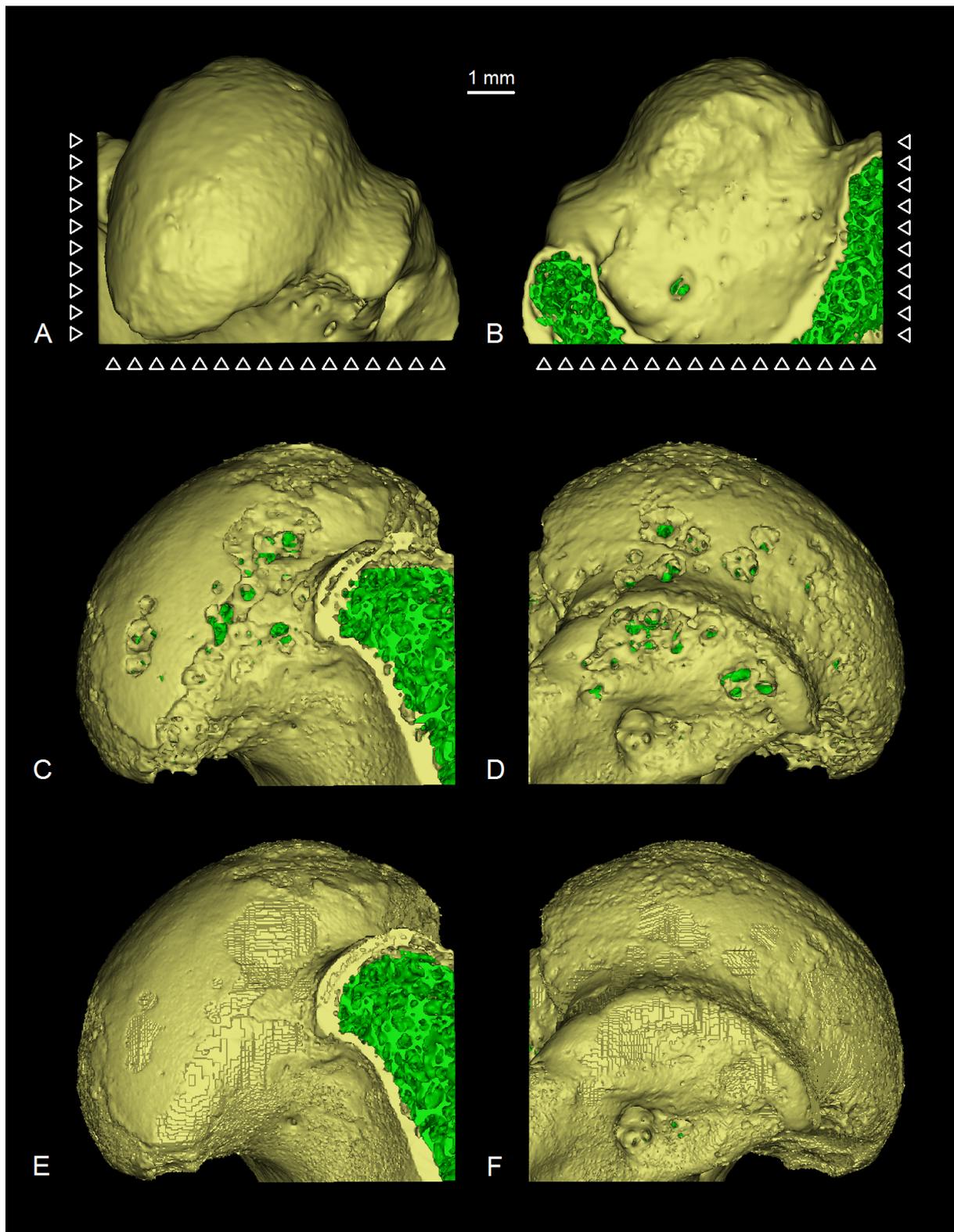


FIGURE 3.6 – Modèle *Mauremys*. Vues dorsale (A), ventrale (B), latérale (C et E) et médiale (D et F). Modèle avant segmentation (C et D) et après segmentation (A, B, E et F).

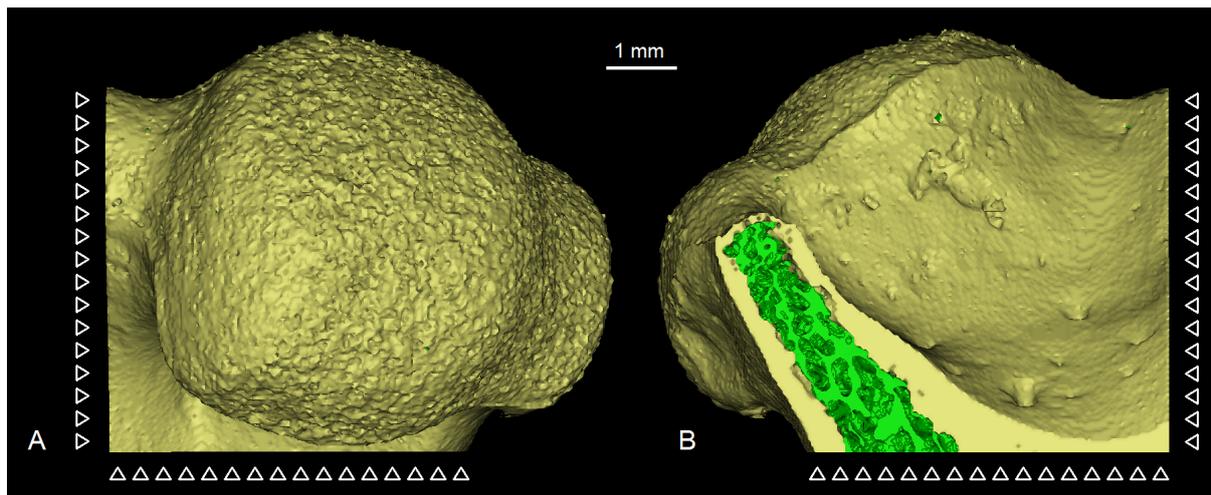


FIGURE 3.7 – Modèle *Emys* en vue dorsale (A) et ventrale (B).

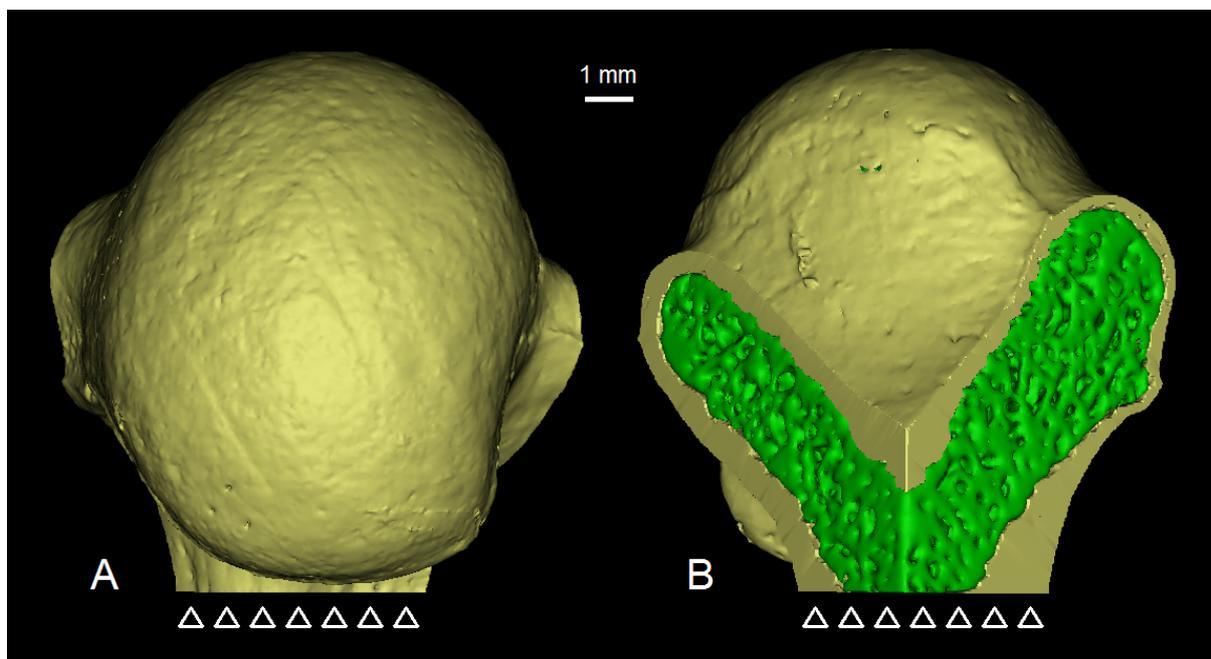


FIGURE 3.8 – Modèle *Pelusios* en vue dorsale (A) et ventrale (B).

Un remplissage sédimentaire est présent au niveau de la tête humérale (encadré rouge, figure 3.10). La pyrite a également envahi l'intérieur de l'humérus en remplissant des canaux de l'enveloppe corticale (encadrés verts, figure 3.10), mais aussi en remplaçant l'os des travées osseuses près de la surface articulaire (encadrés bleus, figure 3.10). Les voxels de pyrite dans les canaux sont à supprimer, car il s'agit uniquement d'un remplissage. En revanche, ceux provenant des travées doivent être conservés, étant donné qu'il s'agissait d'un matériau osseux à l'origine. Par conséquent, la présence de pyrite dans un spécimen implique un temps de segmentation supplémentaire.

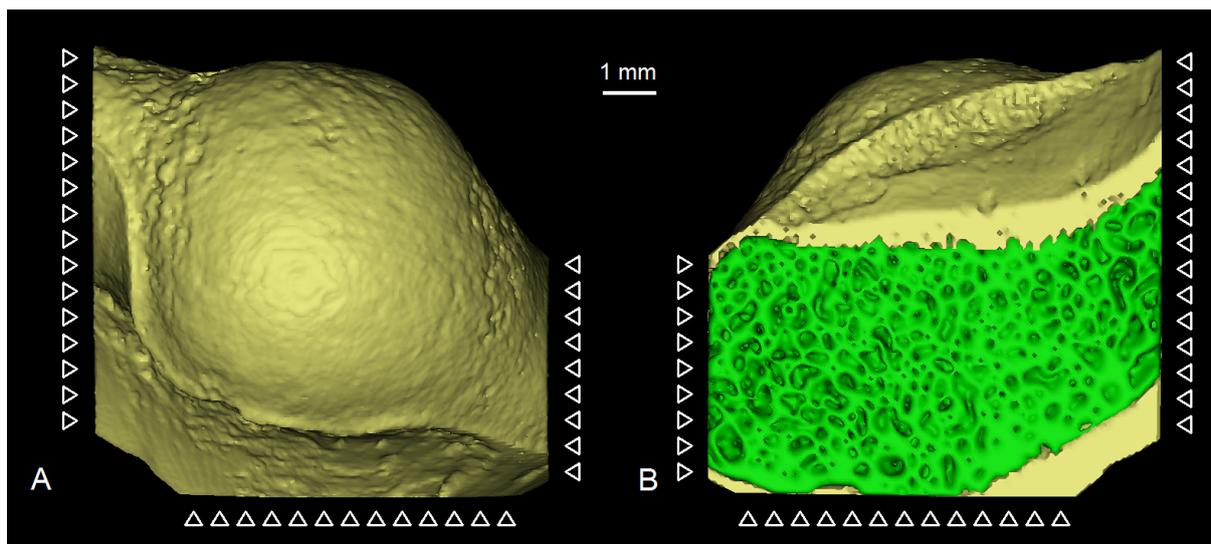


FIGURE 3.9 – Modèle *Hylaeochelys* en vue dorsale (A) et ventrale (B).

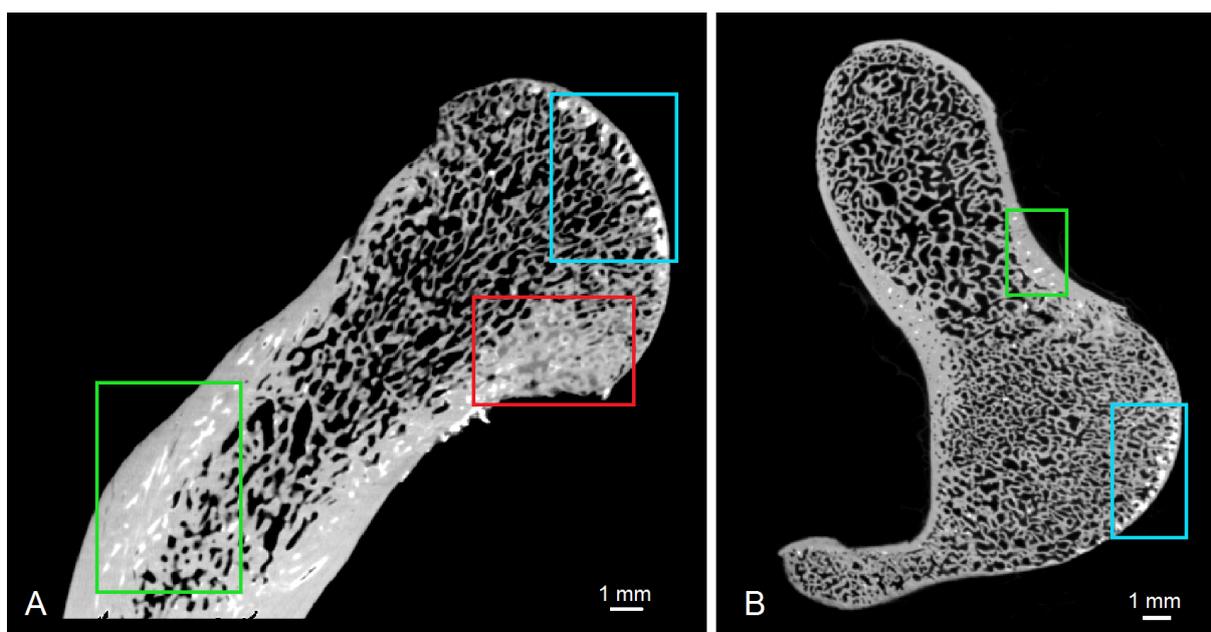


FIGURE 3.10 – Coupes de l'humérus de *Hylaeochelys* ANG18-5938 (Crétacé inférieur, Angeac-Charente). A, coupe sagittale. B, coupe transversale. On peut voir le remplissage sédimentaire (encadré rouge), la pyrite à l'intérieur des canaux (encadrés verts) et les travées pyritisées (encadrés bleus).

Trionyx stiriacus Ce modèle provient d'un spécimen de *Trionyx stiriacus* référencé comme MNHN.F.ART334 (Figure 3.11) et hébergé au au Muséum national d'Histoire naturelle. La taille du voxel est de $40,80 \mu\text{m}$. Le modèle généré contient 8 462 821 éléments finis : 6 742 588 pour le compartiment trabéculaire et 1 720 233 pour l'enveloppe. Les

conditions aux limites sont fixées au niveau du plan distal (celui du bas), du plan latéral (plan à gauche, Figure 3.11, A et plan à droite, Figure 3.11, B), du plan médial (plan à droite, Figure 3.11, A et plan à gauche, Figure 3.11, B) et du plan ventral (celui de la page, Figure 3.11, B). Contrairement à *Hylaeochelys*, ce spécimen n'a pas montré de remplissage sédimentaire.

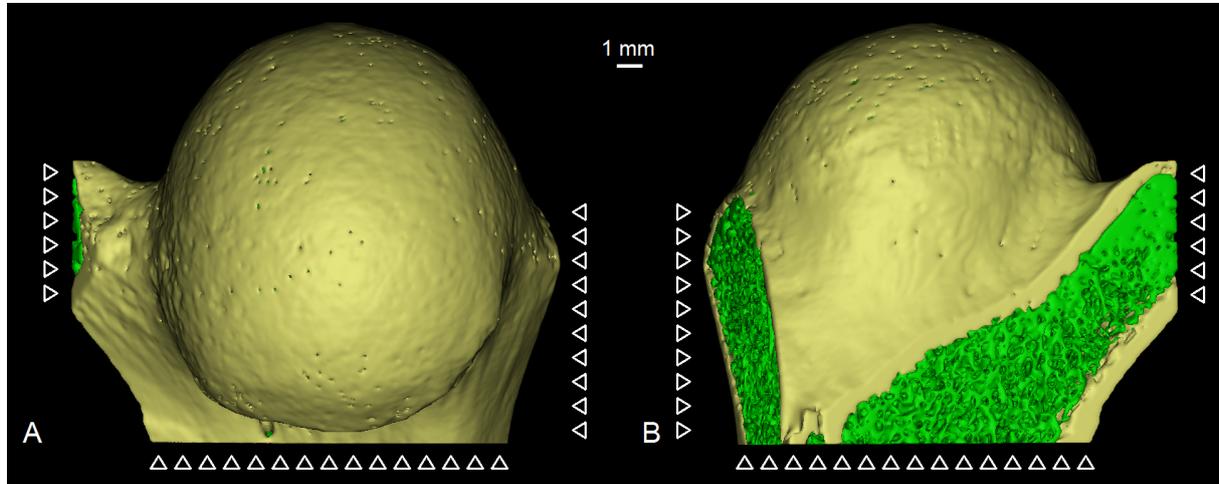


FIGURE 3.11 – Modèle *Trionyx* en vue dorsale (A) et ventrale (B).

3.3 Résultats

Parmi les quatre tortues actuelles, les modèles d'éléments finis de *Kinosternon* et de *Pelusios* ont subi un effet "porte-à-faux" (Figure 3.12). En effet, les cas de charges n° 1, n° 4 et n° 9 de *Kinosternon* et le cas de charge n° 38 de *Pelusios* chargeaient trop peu les travées osseuses. Leurs amplitudes anormalement élevées ne semblent pas avoir de sens physique et elles ont été surestimées par l'algorithme : chez *Kinosternon*, un seul cas de charge supporte 45,6 % du chargement global et 17,78 % pour le cas de charge le plus important de *Pelusios* (Tableau 3.1). Ces cas de charge ont donc été retirés par la suite (Figure 3.13, Tableau 3.2).

Les amplitudes des dix cas de charges les plus importants ont été listées par ordre décroissant : les amplitudes relatives sont très proches entre les différents modèles (Tableau 3.2). Toutes les amplitudes des différents cas de charge ont été classées par ordre décroissant pour les six spécimens de tortues (Figure 3.14). Ces courbes montrent une inflexion plus ou moins marquée selon les spécimens qui séparent des cas d'amplitudes importantes de ceux qui ont une amplitude plus proche de la moyenne. Ainsi, il est possible de juger de l'homogénéité d'un patron de chargement, s'il y a peu de cas de charge de forte amplitude (et donc, davantage de cas d'amplitudes proches) ou d'une hétérogénéité plus marquée, si les cas ont des amplitudes plus diversifiées. Une inflexion très proche du côté gauche indique un chargement homogène, alors qu'une inflexion plus éloignée caractérise un chargement plus hétérogène.

Chez les tortues cryptodires *Mauremys* et *Kinosternon*, le chargement est surtout localisé sur la partie ventrale de la tête articulaire humérale (Figure 3.13, A et B). Toutefois,

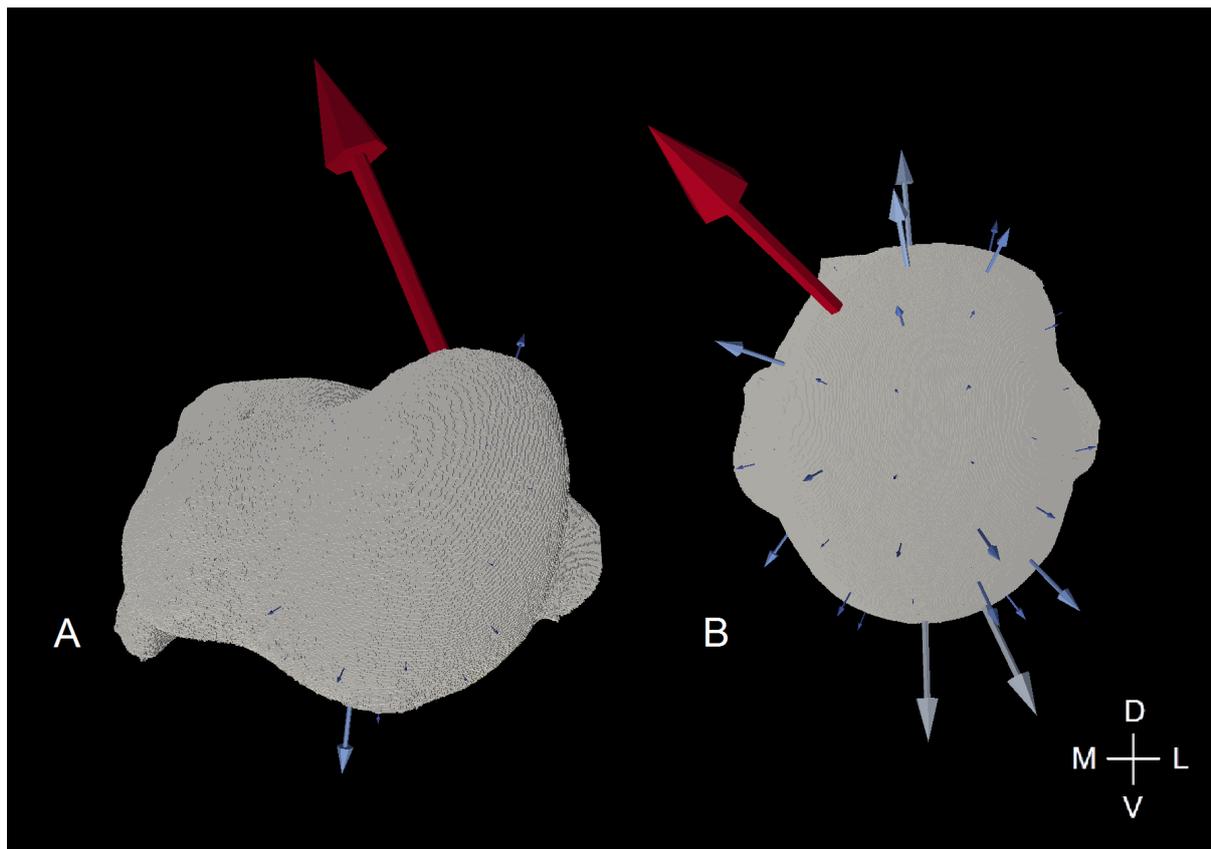


FIGURE 3.12 – Patrons de chargement calculés par l’algorithme (vues articulaires) chez les tortues actuelles *Kinosternon* (A) et *Pelusios* (B). Le schéma au centre oriente les figures : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

chez *Mauremys*, le patron reste très homogène avec des forces assez importantes au centre et sur la partie dorsale de la tête articulaire humérale (Figure 3.13, A). Cette homogénéité est très marquée en comparant les amplitudes : seulement deux cas de charge sont à gauche de l’inflexion et ont une amplitude bien plus importante que les autres (Figure 3.14). En revanche, chez *Kinosternon*, ce patron est beaucoup plus hétérogène que chez *Mauremys* : les forces importantes étant uniquement présentes ventralement (Figure 3.13, B). L’hétérogénéité plus accentuée de *Kinosternon* est également notable lors de la comparaison des amplitudes : huit cas de charge à gauche de l’inflexion (Figure 3.14).

La tortue pleurodire *Pelusios* montre un chargement important présent sur deux zones restreintes : sur une région ventrale et dans une moindre mesure, sur la partie dorsale (Figure 3.13, C). Ce patron est très hétérogène, les autres forces étant d’amplitudes beaucoup plus faibles. La comparaison des amplitudes atteste également de cette hétérogénéité : douze cas de charge à gauche de l’inflexion (Figure 3.14).

Chez la tortue cryptodire *Emys*, les forces les plus importantes sont localisées selon une ligne qui s’étend du bord ventro-latéral au coin médio-dorsal, les amplitudes des autres forces étant bien moins importantes (Figure 3.13, D). Ce patron semble hétérogène comme *Pelusios* : quatorze cas de charge à gauche de l’inflexion (Figure 3.14).

Chez la tortue cryptodire *Hylaeochelys*, le patron de chargement montre un pic très

TABLEAU 3.1 – Amplitudes estimées à partir des valeurs de densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire pour les dix plus importants cas de charges chez *Kinosternon* et *Pelusios*. Pour chaque spécimen, la colonne de gauche représente l'amplitude estimée par l'algorithme et celle de droite, son amplitude en pourcentage sur l'ensemble du modèle.

<i>Kinosternon</i>		<i>Pelusios</i>	
26,750	45,60 %	6,214	17,78 %
7,143	12,18 %	2,584	7,39 %
3,756	6,40 %	2,329	6,66 %
1,726	2,94 %	2,235	6,40 %
1,687	2,88 %	1,626	4,65 %
1,508	2,57 %	1,604	4,59 %
1,249	2,13 %	1,496	4,28 %
1,235	2,11 %	1,341	3,84 %
1,082	1,84 %	1,287	3,68 %
0,802	1,37 %	1,243	3,56 %
...
58,661	100 %	39,944	100 %

TABLEAU 3.2 – Amplitudes estimées à partir des valeurs de densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire pour les dix plus importants cas de charges chez *Mauremys*, *Kinosternon*, *Pelusios* et *Emys*. Les cas de charges n° 1, n° 4 et n° 9 de *Kinosternon* et le cas de charge n° 38 de *Pelusios* ont été retirés. Pour chaque spécimen, la colonne de gauche représente l'amplitude estimée par l'algorithme et celle de droite, son amplitude en pourcentage sur l'ensemble du modèle.

<i>Mauremys</i>		<i>Kinosternon</i>		<i>Pelusios</i>		<i>Emys</i>	
12,088	6,27 %	1,850	7,60 %	2,586	8,95 %	2,492	6,89 %
10,087	5,23 %	1,836	7,55 %	2,330	8,07 %	2,269	6,28 %
7,629	3,95 %	1,800	7,40 %	2,271	7,87 %	2,193	6,06 %
7,294	3,78 %	1,517	6,24 %	1,627	5,64 %	2,041	5,64 %
7,146	3,70 %	1,359	5,59 %	1,623	5,62 %	1,920	5,31 %
6,858	3,55 %	1,162	4,77 %	1,523	5,28 %	1,565	4,33 %
6,833	3,54 %	0,871	3,58 %	1,344	4,66 %	1,474	4,07 %
6,823	3,54 %	0,856	3,52 %	1,291	4,47 %	1,442	3,99 %
6,471	3,35 %	0,696	2,86 %	1,243	4,31 %	1,193	3,30 %
6,336	3,28 %	0,687	2,82 %	1,216	4,21 %	1,139	3,15 %
...
192,931	100 %	24,334	100 %	28,876	100 %	36,163	100 %

important dorsalement (Figure 3.15, A). En effet, plus de 25 % du chargement global est supporté par le cas de charge n° 9 (indice d'inhomogénéité de 7,71 ; Tableau 3.3). Il a déjà été remarqué précédemment pour *Kinosternon* et *Pelusios* (Figure 3.12) qu'un tel pic correspondait à un cas de charge qui ne chargeait pas assez le compartiment trabéculaire.

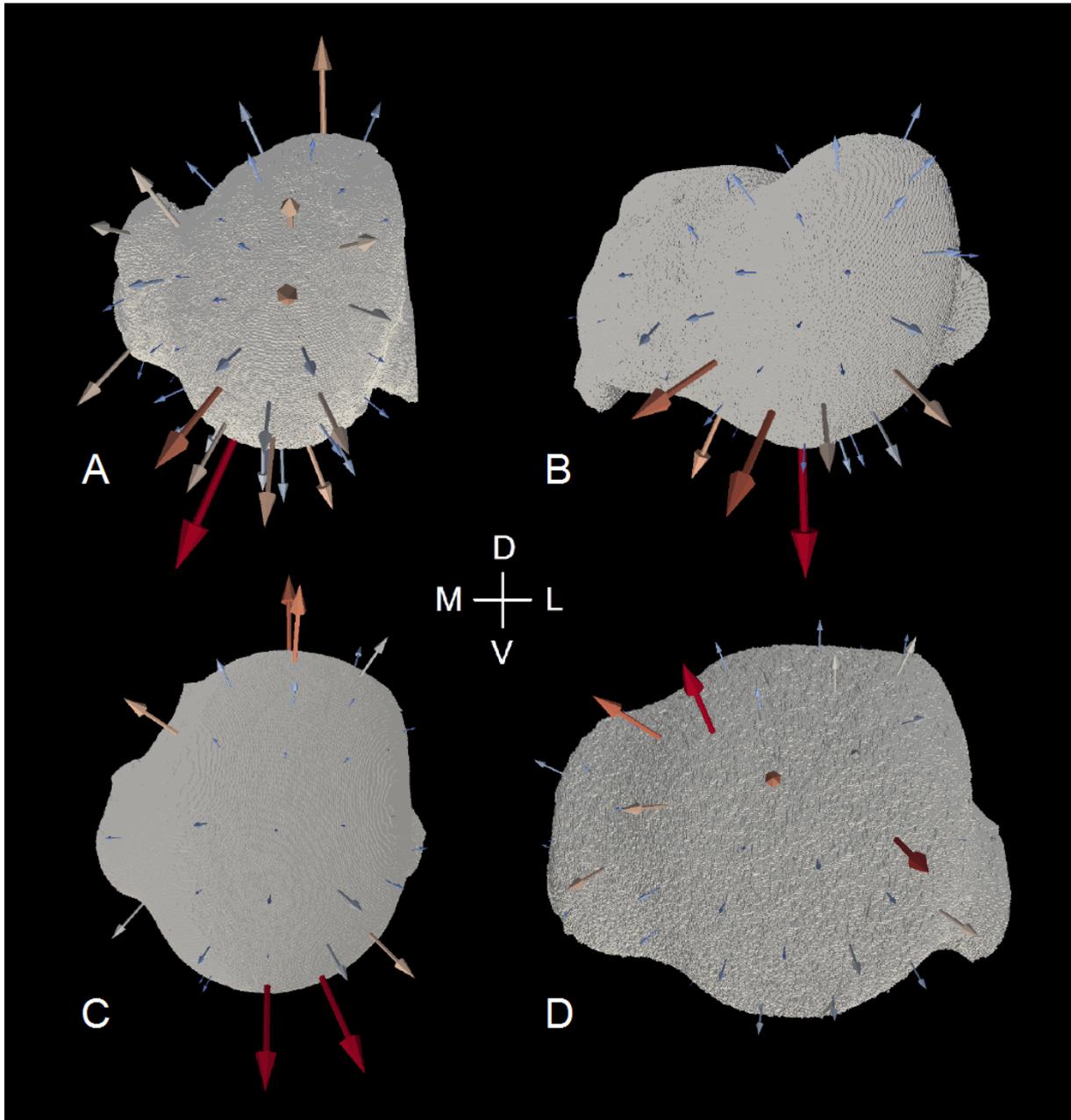


FIGURE 3.13 – Patrons de chargement calculés par l’algorithme (vues articulaires) chez les tortues actuelles *Mauremys* (A), *Kinosternon* (B), *Pelusios* (C) et *Emys* (D). Les cas de charges n° 1, n° 4 et n° 9 de *Kinosternon* et le cas de charge n° 38 de *Pelusios* chargeaient trop peu les travées osseuses et ont donc été retirés. Le schéma au centre oriente les figures : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

En retirant ce cas de charge de l’analyse, on obtient un chargement concentré sur deux zones, sur la région dorsale et dans une moindre mesure sur la partie ventro-médiale, avec une hétérogénéité assez prononcée (Figure 3.15, B). Cette hétérogénéité est moins visible en comparant les amplitudes des cas de charge : six cas de charge à gauche de l’inflexion (Figure 3.14). Toutefois, cette inflexion n’est pas très marquée et pourrait être décalée à

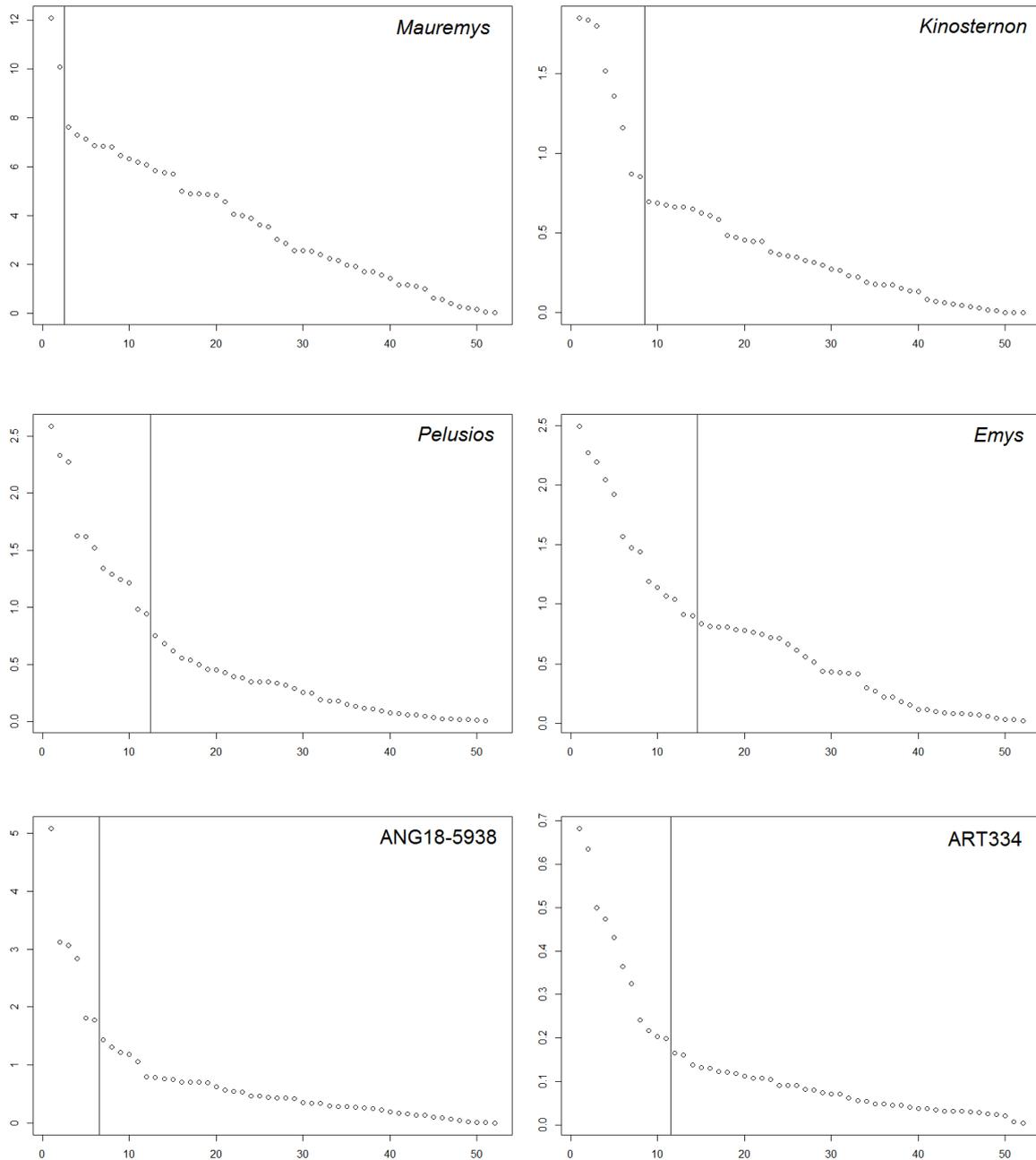


FIGURE 3.14 – Amplitudes pour les différents cas de charges, estimées à partir des valeurs de densités d'énergie de déformation extraites du compartiment trabéculaire et classées par ordre décroissant chez *Mauremys*, *Kinosternon*, *Pelusios*, *Emys*, ANG18-5938 et ART334. Les cas à effet "porte-à-faux" ont été fixés à zéro. L'inflexion au niveau de la ligne verticale permet de séparer les cas d'amplitudes très importantes de ceux d'amplitude proche de la moyenne.

TABLEAU 3.3 – Amplitudes estimées à partir des valeurs du compartiment trabéculaire pour les dix plus importants cas de charges chez *Hylaeochelys* ANG18-5938, en incluant le cas n° 9 dans l'analyse ou en le retirant. Pour chaque condition, la colonne de gauche représente l'amplitude estimée par l'algorithme et celle de droite, son amplitude en pourcentage sur l'ensemble du modèle.

Avec le cas n° 9		Sans le cas n° 9	
12,984	25,42 %	5,081	13,11 %
4,847	9,49 %	3,117	8,04 %
3,103	6,08 %	3,064	7,91 %
3,044	5,96 %	2,831	7,30 %
2,823	5,53 %	1,816	4,68 %
1,808	3,54 %	1,777	4,58 %
1,765	3,46 %	1,436	3,71 %
1,415	2,77 %	1,312	3,39 %
1,306	2,56 %	1,214	3,13 %
1,185	2,32 %	1,189	3,07 %
...
51,079	100 %	38,752	100 %

droite de cinq cas de charge.

Chez la tortue cryptodire *Trionyx*, le patron de chargement est concentré dorsalement (Figure 3.16). Aucun cas de charge n'est surestimé par rapport aux autres (Tableau 3.4). Il ne montre pas de cas de charge "porte-à-faux" : les deux cas les plus importants n° 7 et n° 3 ont un indice d'inhomogénéité largement supérieur à 8 (29,47 et 30,44 respectivement). Le patron de chargement semble homogène graphiquement et en comparant les amplitudes des cas de charge : onze cas de charge à gauche de l'inflexion (Figure 3.14). Mais cette inflexion n'est pas très marquée et pourrait être décalée à gauche de quatre cas de charge.

3.4 Discussion

3.4.1 Comparaison entre tortues actuelles

Les amplitudes relatives (en pourcentage) sont extrêmement proches entre les modèles (Tableau 3.2, Figure 3.14). Les résultats graphiques et les amplitudes estimées de ces modèles sont cohérents. Ceci permet de vérifier un fonctionnement conforme de l'algorithme, bien que l'effet "porte-à-faux" soit toujours préoccupant et nécessite des recherches supplémentaires.

Pour les fémurs de mammifères de Christen et al. (2015), l'amplitude est très élevée sur un seul cas de charge qui supporte la grande majorité du poids corporel. Pour les spécimens de tortues actuelles étudiés dans ce chapitre, les charges sont beaucoup plus réparties sur la tête articulaire : entre 6,27 % et 8,95 % du chargement est concentré sur le cas de charge le plus important (Tableau 3.2).

Les deux tortues cryptodires nageuses *Mauremys* et *Kinosternon* montrent un patron de chargement très similaire : des forces plus importantes ventralement (Figure 3.13, A et B). De plus, au sein d'un même patron, les amplitudes entre deux cas de charge proches

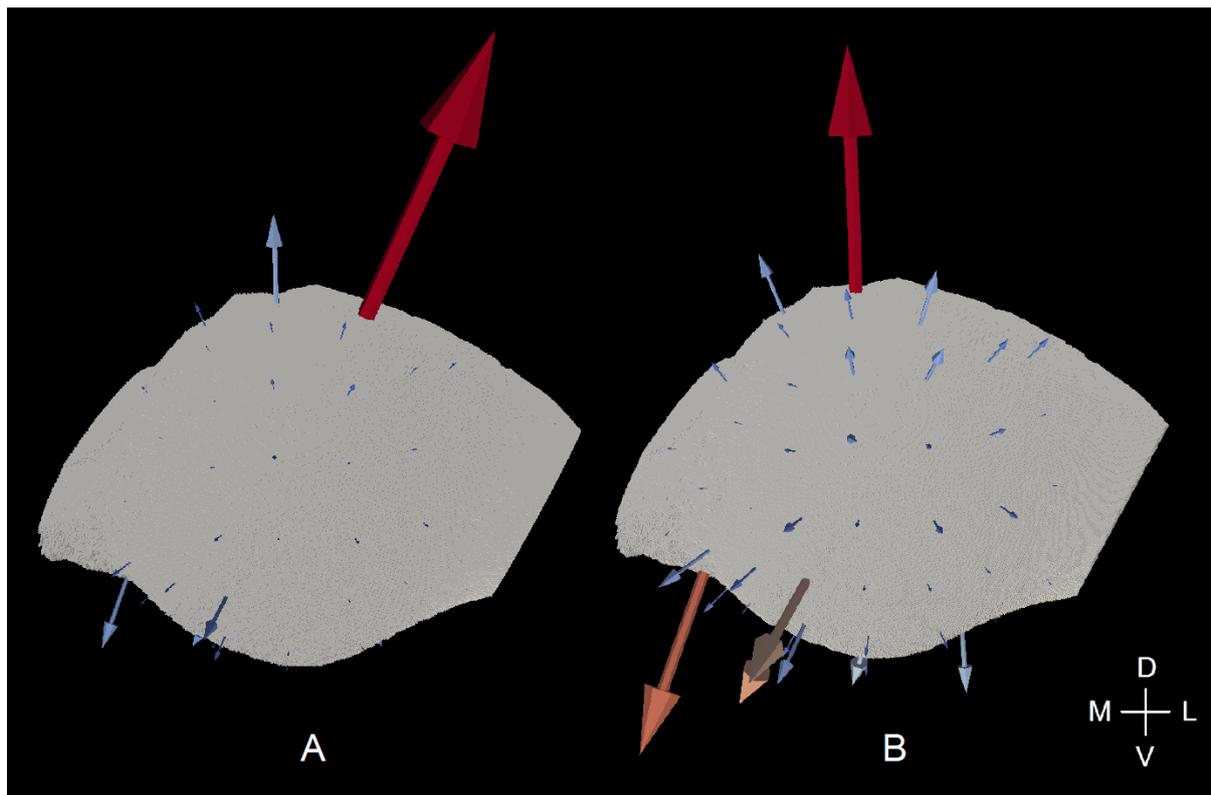


FIGURE 3.15 – Patron de chargement calculé par l’algorithme (vue articulaire) chez la tortue fossile *Hylaeochelys* ANG18-5938 (Crétacé inférieur, Angeac-Charente). A, tous les cas de charges ont été pris en compte ; B, le cas de charge n° 9 chargeait trop peu les travées osseuses et a donc été retiré. Le schéma en bas à droite oriente la figure : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

ne sont pas très différentes traduisant une certaine homogénéité : deux et huit cas de charge à gauche de l’inflexion respectivement.

Les deux tortues marcheuses (*Pelusios* et *Emys*) n’ont pas le même patron de chargement (Figure 3.13, C et D). *Pelusios* montre deux chargements importants très localisés ventralement et dorsalement, tandis qu’*Emys* arbore une ligne de force d’amplitudes élevées de l’extrémité ventro-latérale au bord médio-dorsal. Cette différence de chargement entre *Pelusios* et *Emys* peut être liée aux locomotions différentes entre pleurodires et cryptodires. Comme il a été évoqué plus haut, à cause de la fusion entre le pelvis et la carapace, les pleurodires montrent une plus faible protection fémorale au cours de la locomotion que les cryptodires (Mayerl et al. 2016).

Les patrons des deux tortues marcheuses diffèrent fortement de ceux des deux tortues nageuses. Les tortues marcheuses ont des patrons de chargements plus hétérogènes que les tortues nageuses. Ceci est particulièrement visible sur la Figure 3.14 : les tortues nageuses ont deux et huit cas de charge à gauche de l’inflexion, contrairement aux tortues marcheuses qui en ont douze et quatorze. Cette hétérogénéité peut être due à des forces plus importantes causées par une marche plus fréquente sur terre pour ces deux espèces. Ceci diminuerait l’amplitude relative des autres forces sur la tête humérale. Pour l’humérus des tortues, il a été montré que les amplitudes de pression étaient significativement plus

TABLEAU 3.4 – Amplitudes estimées à partir des valeurs du compartiment trabéculaire pour les dix plus importants cas de charges chez *Trionyx* MNHN.F.ART334. La colonne de gauche représente l’amplitude estimée par l’algorithme et celle de droite, son amplitude en pourcentage sur l’ensemble du modèle.

<i>Trionyx</i>	
0,682	9,50 %
0,635	8,85 %
0,500	6,96 %
0,474	6,61 %
0,431	6,00 %
0,364	5,07 %
0,325	4,52 %
0,241	3,36 %
0,217	3,02 %
0,204	2,84 %
...	...
7,179	100 %

fortes au cours de la phase d’appui de la marche, que pendant la phase de poussée de la nage (Young et al. 2017).

Dans l’introduction, il a été supposé que les tortues nageuses auraient un chargement principalement ventral, alors que les tortues marcheuses montreraient plutôt un chargement dorsal. Cette hypothèse semble validée pour les deux tortues nageuses *Mauremys* et *Kinosternon*. En revanche, les tortues marcheuses ne montrent pas le patron de chargement attendu, mais plutôt deux pics ventral et dorsal (pour *Pelusios*) ou un chargement au centre de la tête humérale (pour *Emys*). Plusieurs raisons peuvent expliquer ce résultat. Premièrement, le poids de ces deux tortues, en milieu aquatique, est diminué par la poussée d’Archimède qui lui est opposée : ainsi, la flottabilité pourrait influencer les patrons de chargement. Deuxièmement, le critère analysé est la préférence locomotrice qui est une tendance, et non un caractère discret : il y a donc plusieurs patrons de chargement possibles. Par exemple, on peut envisager que ce spécimen de *Pelusios* passait autant de temps à nager qu’à marcher, ce qui pourrait expliquer ces pics dorsal et ventral.

3.4.2 Inférence sur *Hylaeochelys*

Le patron corrigé du spécimen ANG18-1938 montre un chargement focalisé sur deux zones : la région dorsale et la partie ventro-médiale (Figure 3.15, B). En comparant avec les autres spécimens actuels de tortues, ceux qui montrent un chargement proche de celui de ANG18-5938 sont *Mauremys* (Figure 3.13, A) et *Pelusios* (Figure 3.13, C).

Chez *Mauremys*, le patron est homogène (deux cas de charge à gauche de l’inflexion, Figure 3.14) avec des forces importantes au centre et sur la partie dorsale de la tête articulaire humérale (Figure 3.13, A). Chez *Pelusios*, il y a un chargement important sur deux zones très localisées ventralement et dorsalement et le patron est très hétérogène (Figure 3.13, C). ANG18-5938 est proche de *Pelusios* du point de vue de l’hétérogénéité graphique du chargement, mais plus proche de *Mauremys* pour la répartition des forces

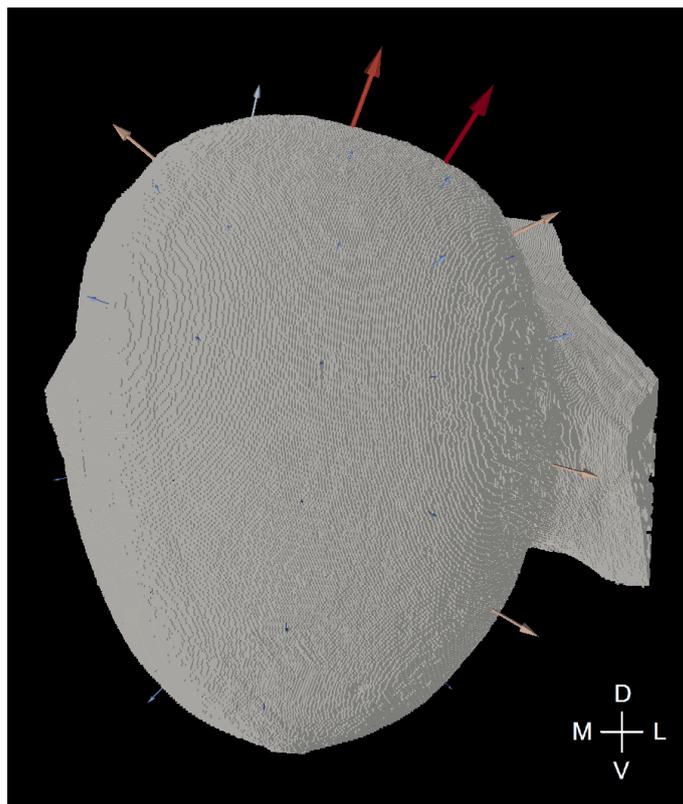


FIGURE 3.16 – Patron de chargement calculé par l’algorithme (vue articulaire) chez la tortue fossile *Trionyx* MNHN.F.ART334 (Miocène, Artenay). Le schéma en bas à droite oriente la figure : dorsal (D), latéral (L), médial (M) et ventral (V).

importantes (les cas de charge ventraux sont plus importants médialement chez *Mauremys* que chez *Pelusios*). En comparant les amplitudes des cas de charge, ANG18-5938 a six cas de charge à gauche de l’inflexion : il est homogène et plus proche de *Mauremys* (deux cas de charge) que de *Pelusios* (douze cas de charge), bien qu’il reste possible que l’inflexion ait lieu plus loin vers onze cas de charge (Figure 3.14).

Deux interprétations sont donc possibles : ANG18-5938 peut être plutôt marcheur comme *Pelusios* ou plutôt nageur comme *Mauremys*. Dans la littérature, on sait uniquement qu’*Hylaeochelys* est un taxon d’eau douce (Pérez-Garcia & Ortega 2014), ce qui ne permet pas de favoriser l’une des deux hypothèses.

En revanche, *Hylaeochelys* et *Mauremys* sont des cryptodires, alors que *Pelusios* est un pleurodire. Si *Hylaeochelys* était plutôt marcheur, il semble plus probable que son patron de chargement ressemblerait à celui d’un autre cryptodire comme *Emys*, plutôt qu’à celui d’un pleurodire comme *Pelusios*. Or, son patron de chargement diffère complètement de celui d’*Emys*. Ainsi, l’hypothèse que *Hylaeochelys* serait plutôt nageur comme *Mauremys* est privilégiée, bien que l’autre possibilité ne soit pas complètement écartée.

3.4.3 Inférence sur *Trionyx stiriacus*

Le chargement du spécimen MNHN.F.ART334 se trouve localisé uniquement sur la région dorsale (Figure 3.16). En comparant avec les autres tortues cryptodires, c’est *Emys*

qui montre des forces importantes situées au plus près de la partie dorsale (Figure 3.13). On retrouve aussi des forces d'amplitude élevée localisées seulement sur la partie dorsale sur les fémurs mammaliens précédemment étudiés (Figure 2.4). En comparant les amplitudes des cas de charge (Figure 3.14), ART334 a onze cas de charge à gauche de l'inflexion : il est plutôt hétérogène et proche des tortues marcheuse *Pelusios* (douze cas de charge) et *Emys* (quatorze cas de charge).

Selon son patron de chargement et l'hétérogénéité de ses cas de charge, le spécimen MNHN.F.ART334 de *Trionyx stiriacus* serait plutôt marcheur comme *Emys*. Les forces étant situées uniquement dorsalement et davantage que chez *Emys*, il est possible que ce spécimen soit uniquement marcheur et peut être même terrestre.

Beaucoup de variations locomotrices existent au sein du genre *Trionyx*. En effet, les deux locomotions ont déjà été observées chez un spécimen de *T. triungis* (Burghardt et al. 1996). Deux espèces de *Trionyx* de même taille peuvent avoir des comportements locomoteurs différents : *T. muticus* se nourrit principalement dans la colonne d'eau, alors que *T. spiniferus* consomme des cadavres au fond de l'eau (Williams & Christiansen 1981). Des différences comportementales ont aussi été mises en évidence avec un dimorphisme sexuel chez *T. muticus* : les mâles vivent dans les eaux peu profondes et lézardent fréquemment au soleil, alors que les femelles vivent dans les eaux plus profondes et lézardent moins (Plummer 1977).

3.4.4 Limitations de l'étude

Plusieurs limitations doivent être prises en compte dans cette étude. Premièrement, le nombre de spécimens est assez faible. D'autres tortues ont pu être scannées et pourront prochainement aider à renforcer les interprétations de ces analyses. De plus, la variation intraspécifique n'a pas été prise en compte. Toutefois, on sait que, chez les primates, les patrons de chargement sont largement similaires entre les individus d'une même espèce (Synek et al. 2019).

Deuxièmement, d'autres problèmes peuvent être directement liés à la segmentation. Par exemple, il est possible que le spécimen de *Mauremys* soit un subadulte. Les trous présents sur sa surface articulaire ont été comblés par un ajout de voxels d'os. Cette reconstruction a pu biaiser le résultat de l'analyse algorithmique et le patron de chargement obtenu. D'autre part, il est difficile d'obtenir un scan utilisable à partir d'un spécimen fossile. Beaucoup de spécimens contiennent un remplissage sédimentaire avec une densité très proche de celle de l'os, n'offrant ainsi aucun contraste. Par exemple, ANG18-5938 contenait de la pyrite dans ses travées et ses canaux. Le seuillage choisi et la segmentation réalisée peuvent également altérer le patron de chargement final. Cependant, selon Synek & Pahr (2018), le seuillage peut influencer l'amplitude absolue d'un cas de charge. Mais dans les analyses présentées ici, on s'intéresse principalement aux amplitudes relatives par rapport aux autres cas de charge.

Ensuite, certains biais peuvent être causés par les modèles d'éléments finis et par l'algorithme d'estimation des charges. On a vu précédemment que les conditions aux limites pouvaient influencer les résultats de manière significative. Le modèle de *Kinosternon* est fixé par deux conditions aux limites, ceux de *Hylaeochelys* et de *Trionyx* par quatre et les autres par trois. Ces fixations avaient été choisies au cas par cas pour limiter l'effet probable des travées présentes dans les processus musculaires. Mais changer le nombre de

conditions aux limites pourrait également être un biais à envisager. Enfin, l'algorithme d'estimation des charges reste encore occasionnellement perturbé par cet effet "porte-à-faux" qui nécessite des recherches supplémentaires.

3.5 Conclusion

Un patron de chargement a pu être estimé à partir des humérus provenant de quatre tortues actuelles. Il semble possible de séparer les espèces selon leur préférence locomotrice (nageuse ou marcheuse), même si davantage de spécimens doivent être inclus dans l'étude. On peut donc supposer qu'un chargement principalement dorsal serait caractéristique d'un animal marcheur et qu'un chargement ventral pourrait être spécifique à un animal nageur. L'ajout d'espèces uniquement terrestres (comme *Centrochelys sulcata*) ou nageuses (comme *Caretta caretta*) pourrait permettre de confirmer cette hypothèse.

De plus, les locomotions des deux tortues fossiles, *Hylaeochelys* du Crétacé inférieur et *Trionyx stiriacus* du Miocène, ont pu être inférées. Cette méthode est applicable pour le clade des tortues, bien qu'un certain nombre de problèmes, comme l'effet "porte-à-faux", doivent encore être résolus. Dans le futur, cet algorithme pourrait également être utilisé sur d'autres vertébrés et serait un outil efficace pour inférer la locomotion d'espèces éteintes.

3.6 Références bibliographiques

Blob, R. W., Mayerl, C. J., Rivera, A. R., Rivera, G., & Young, V. K. (2016). "On the fence" versus "All in" : insights from turtles for the evolution of aquatic locomotor specializations and habitat transitions in tetrapod vertebrates. *Integrative and comparative biology*, 56(6), 1310-1322.

Broin, F. de (1977). Contribution à l'étude des Chéloniens. Chéloniens continentaux du Crétacé et du Tertiaire de France. *Mémoires de la Muséum National d'Histoire Naturelle, C*, 38, 1-366.

Burghardt, G. M., Ward, B., & Rosscoe, R. (1996). Problem of reptile play : Environmental enrichment and play behavior in a captive Nile soft-shelled turtle, *Trionyx triunguis*. *Zoo Biology : Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association*, 15(3), 223-238.

Christen, P., Ito, K., Galis, F., & van Rietbergen, B. (2015). Determination of hip-joint loading patterns of living and extinct mammals using an inverse Wolff's law approach. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 14(2), 427-432.

Cordero, G. A., & Swarth, C. W. (2010). Notes on the movement and aquatic behavior of some kinosternid turtles. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 26(1), 233-235.

Davenport, J., Munks, S. A., & Oxford, P. J. (1984). A comparison of the swimming of marine and freshwater turtles. *Proceedings of the Royal Society of London B : Biological Sciences*, 220(1221), 447-475.

Duméril, A. H. A. (1856). Note sur les Reptiles du Gabon. *Revue et magasin de zoologie pure et appliquée*. (2) 8, 369-377.

Duméril, A. M. C., & Bibron., G. (1851). In AMC Duméril and AHA Duméril. *Catalogue méthodique de la collection des reptiles du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris*. Gide and Boudry, Paris. 224 p.

- Ficetola, G. F., & De Bernardi, F. (2006). Is the European " pond " turtle *Emys orbicularis* strictly aquatic and carnivorous?. *Amphibia Reptilia*, 27(3), 445-447.
- Ficetola, G. F., Padoa-Schioppa, E., Monti, A., Massa, R., De Bernardi, F., & Bottoni, L. (2004). The importance of aquatic and terrestrial habitat for the European pond turtle (*Emys orbicularis*) : implications for conservation planning and management. *Canadian Journal of Zoology*, 82(11), 1704-1712.
- Fraysse, N. P. (2002). Contribution à l'étude de l'émyde lépreuse (*Mauremys leprosa*, Schweigger, 1812). Doctoral dissertation. École nationale vétérinaire de Toulouse. Toulouse.
- Gray, J. (1944). Studies in the mechanics of the tetrapod skeleton. *Journal of Experimental Biology*, 20(2), 88-116.
- Hogervorst, T., Bouma, H. W., & De Vos, J. (2009). Evolution of the hip and pelvis. *Acta Orthopaedica*, 80(sup336), 1-39.
- Linnaeus, C. (1758). *Systema Naturae*, Volume 1 (tenth edition). Laurentius Salvius, Holmia, 824 p.
- Lydekker, R. (1889). On certain chelonian remains from the Wealden and Purbeck. *Quarterly Journal of the Geological Society*, 45(1-4), 511-518.
- Mayerl, C. J., Brainerd, E. L., & Blob, R. W. (2016). Pelvic girdle mobility of cryptodire and pleurodire turtles during walking and swimming. *Journal of Experimental Biology*, 219(17), 2650-2658.
- Morales-Verdeja, S. A., & Vogt, R. C. (1997). Terrestrial movements in relation to aestivation and the annual reproductive cycle of *Kinosternon leucostomum*. *Copeia*, 123-130.
- Néraudeau, D., Allain, R., Ballèvre, M., Batten, D.J., Buffetaut, E., Colin, J.-P., Dabard, M.-P., Daviero-Gomez, V., El Albani, A., Gomez, B., Grosheny, D., Le Lœuff, J., Leprince, A., Martín-Closas, C., Masure, E., Mazin, J.-M., Philippe, M., Pouech, J., Tong, H., Tournepiche, J.-F., & Vullo, R. (2012). The Hauterivian–Barremian lignitic bone bed of Angeac (Charente, SW France) : stratigraphical, palaeobiological and palaeogeographical implications. *Cretaceous Research*, 37, 1-14.
- Pérez-García, A., & Ortega, F. (2014). A new species of the turtle *Hylaeochelys* (Eucryptodira) outside its known geographic and stratigraphic ranges of distribution. *Comptes Rendus Palevol*, 13(3), 183-188.
- Peters, K.F. (1855). Schildkrötenreste aus den österreichischen Tertiär-Ablagerungen. *Denkschriften der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, mathematisch-naturwissenschaftliche Classe* 9 :1–22.
- Plummer, M. V. (1977). Activity, habitat and population structure in the turtle, *Trionyx muticus*. *Copeia*, 431-440.
- Romer, A. S. (1956). *Osteology of the Reptiles*. Chicago : University of Chicago Press.
- Schweigger, A.F. (1812). *Prodromus monographiae Cheloniorum*. *Königsberger Archiv für Naturwissenschaften und Mathematik*, 1 : 271-368, 406-462.
- Synek, A., & Pahr, D. H. (2018). Plausibility and parameter sensitivity of micro-finite element-based joint load prediction at the proximal femur. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 17(3), 843-852.
- Synek, A., Dunmore, C. J., Kivell, T. L., Skinner, M. M., & Pahr, D. H. (2019). Inverse remodelling algorithm identifies habitual manual activities of primates based on metacarpal bone architecture. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 18(2), 399-410.

Vitt, L. J., & Caldwell, J. P. (2014). Herpetology : An introductory biology of amphibians and reptiles. Norman, Oklahoma : University of Oklahoma Press.

Vremir, M., Codrea, V., & Farkas, B. (1997). *Trionyx stiriacus* Peters, 1855 (Reptilia, Testudines) from the Sarmatian (Middle Miocene) of Minisu de Sus (Romania). *Annales historico-naturales Musei Nationalis Hungarici* 89, 43–52.

Wiley, J. S., & Blob, R. W. (2004). Tail kinematics of juvenile common snapping turtles during aquatic walking. *Journal of herpetology*, 38(3), 360-370.

Williams, T. A., & Christiansen, J. L. (1981). The niches of two sympatric softshell turtles, *Trionyx muticus* and *Trionyx spiniferus*, in Iowa. *Journal of herpetology*, 303-308.

Young, V. K. H., Wienands, C. E., Wilburn, B. P., & Blob, R. W. (2017). Humeral loads during swimming and walking in turtles : implications for morphological change during aquatic reinvasions. *Journal of Experimental Biology*, 220(21), 3873-3877.

Zug, G. R. (1971). Buoyancy, locomotion, morphology of the pelvic girdle and hind limb, and systematics of cryptodiran turtles. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan* 142 :1–98.

Conclusion et perspectives

Conclusion

Au cours de cette thèse, deux techniques différentes ont été utilisées : l'étude des volumes sphériques de travées et une méthode d'estimation des chargements articulaires. Toutefois, ces deux méthodes sont complémentaires et elles ont été appliquées dans un but initial commun : chercher des relations entre les architectures trabéculaires des tétrapodes et leurs modes de vie. Par la suite, ceci permettra de préciser les modes de vie des vertébrés fossiles, qui ont mené à la terrestrialisation, ainsi que ceux qui sont retournés au milieu aquatique.

Volumes d'intérêt dans les métaphyses humérales des reptiles non-aviens

A travers cette étude, plusieurs informations ont pu être extraites. Parmi tous les paramètres trabéculaires mesurés, seule la fraction volumique osseuse (BV/TV) a montré un signal phylogénétique significatif. Les relations allométriques des paramètres trabéculaires semblent communes pour tous les amniotes, voire tous les tétrapodes. Selon les analyses discriminantes linéaires, les différents modes de vie sont bien séparés au sein des espaces morphologiques, alors que la capacité prédictive est plus limitée avec une procédure de validation croisée. De plus, les premières données montrent que les reptiles amphibies auraient des travées plus orientées que les terrestres.

Méthode d'estimation des charges articulaires

Une méthode d'estimation des charges a été programmée sous la forme d'un algorithme et validée au cours de cette thèse. L'utilisation de modèles contrôlés sphériques a permis de mettre en évidence un biais possible, lié aux conditions aux limites de fixation. L'analyse de l'ensemble des densités d'énergie de déformation est principalement dominée par celles de l'enveloppe corticale, plutôt que par celles du compartiment trabéculaire. En revanche, les patrons trabéculaires sont complètement différents. L'analyse provenant des patrons trabéculaires peut aussi aboutir à une anomalie, l'effet "porte-à-faux", où les travées se trouvent sous-chargées. Enfin, l'application d'une cinquantaine de cas de charge, répartis de façon homogène, est conseillée pour avoir une bonne représentation du chargement.

Cette méthode a permis d'estimer le patron de chargement sur des têtes humérales de quatre tortues actuelles. Les résultats suggèrent une discrimination possible entre une nage et une marche, selon la localisation de leur chargement principal (plutôt ventrale ou dorsale respectivement). Les locomotions de deux tortues fossiles ont aussi pu être inférées.

Au cours de cette thèse, la méthode d'estimation des charges a été appliquée sur un nouveau cadre : avec des os de formes plus complexes que des modèles sphériques. Différents biais, liés aux fixations des modèles, au nombre et à la répartition des cas de charge, ainsi qu'à la forme globale de l'os, ont été mis en évidence.

Applicabilité à la terrestrialisation ?

Enfin, il est nécessaire de savoir si ces méthodes peuvent être applicables à la problématique de la terrestrialisation. Les humérus de certains vertébrés fossiles proches des premiers tétrapodes, tels qu'*Eusthenopteron*, *Hyneria* et *Acanthostega*, montrent de vastes réseaux trabéculaires à travers leurs histologies virtuelles (Sanchez et al. 2014, 2016, Kamska et al. 2019).

Il est donc tout à fait possible d'extraire une sphère d'os spongieux de ces humérus, afin de mesurer différents paramètres trabéculaires. Étant donné que la phylogénie a un effet négligeable sur les travées (un seul paramètre a montré un signal phylogénétique significatif), on pourrait comparer ces trois espèces avec les reptiles déjà échantillonnés. Toutefois, il faudrait trouver la même zone d'extraction que celles de ces reptiles : à savoir, dans la métaphyse proximale, à l'endroit où le processus pectoral est le plus développé. Il est également envisageable de déterminer une nouvelle zone homologue pour extraire les volumes d'intérêt chez tous les spécimens.

En revanche, pour le degré d'anisotropie, il a été montré que les comparaisons devaient se limiter à un clade assez restreint, comme celui de la classe ou de l'ordre. Ainsi, comparer l'anisotropie trabéculaire des trois vertébrés fossiles cités plus haut avec celui d'un tétrapode actuel, n'aurait aucun sens. Cependant, comparer les degrés d'anisotropie de différents vertébrés fossiles de part et d'autre de la terrestrialisation serait tout à fait réalisable, à condition d'avoir de bonnes conditions de préservation. Mais avant d'envisager d'étudier ces spécimens, il est nécessaire de valider cette méthode sur d'autres groupes actuels qui montrent les trois modes de vie (aquatique, amphibie et terrestre), comme par exemple, celui des tortues.

Dans cette thèse, la méthode d'estimation des charges a été utilisée sur des tortues actuelles et fossiles. Ce groupe était idéal pour tester cette méthode : leurs locomotions s'effectuent uniquement avec leurs membres (aucune ondulation latérale du corps et les queues sont réduites) et il n'y a pas de front d'ossification dans les os (ce qui simplifie nettement les modèles). Mais ce groupe est difficilement comparable avec les premiers vertébrés, proches des tétrapodes, qui se sont adaptés au milieu terrestre. Ceux-ci avaient probablement une locomotion terrestre plutôt proche de celle des poissons osseux, nommés "mudskippers" (Oxudercinae) : ces derniers utilisent des mouvements coordonnés de leurs queues et une propulsion simultanée des membres antérieurs pour se déplacer sur le sol (McInroe et al. 2016, Nyakatura 2016). Cette utilisation prépondérante des membres antérieurs a déjà été inférée chez *Ichthyostega* (Pierce et al. 2012). Toutefois, les potentielles premières pistes d'empreintes de tétrapodes suggèrent un mode de locomotion similaire à celui des salamandres (Niedzwiedzki et al. 2010, Nyakatura 2016). Dans tous les cas, ces modes de locomotion sont trop différents de ceux des tortues. Il est encore trop tôt pour utiliser les résultats de cet algorithme, afin d'émettre une inférence convenable sur la locomotion des premiers tétrapodes.

De plus, il est essentiel d'avoir une surface articulaire continue pour utiliser cette méthode. Dans le cas inverse, un travail supplémentaire de segmentation est nécessaire. Contrairement à *Eusthenopteron*, les humérus d'*Hyneria* et d'*Acanthostega* possèdent une surface articulaire exploitable pour une application de cette méthode (Sanchez et al. 2014, 2016, Kamska et al. 2019). Pour l'humérus d'*Eusthenopteron*, une couche de cartilage devrait être ajoutée sur les épiphyses, avant une utilisation éventuelle de la méthode.

Ainsi, ces deux méthodes pourraient être utilisées sur la problématique de la terrestrialisation. Mais avant toute chose, il est primordial de les tester sur d'autres groupes actuels et fossiles, afin de mieux comprendre les liens entre chargements articulaires et locomotions/écologies.

Perspectives

Méthode d'estimation des charges

Prise en compte du front d'ossification

Beaucoup de spécimens de squamates ne sont actuellement pas utilisables par cette méthode. En effet, ils présentent un front d'ossification qui sépare l'épiphyse et la surface articulaire, de la métaphyse. Il serait possible d'appliquer différents cas de charge sur la surface articulaire, mais le nombre de travées de l'épiphyse serait faible et le front d'ossification a généralement un plan irrégulier. Deux possibilités sont envisageables.

La première option consisterait à utiliser des volumes d'intérêt, composés uniquement de l'épiphyse humérale. Pour ces modèles, les conditions limites de fixation seraient fixées au niveau du plan du front d'ossification.

Une autre alternative inclut des volumes d'intérêt semblables à ceux utilisés pour les tortues, à l'exception faite que le front d'ossification serait aussi présent. Ce front serait rempli d'éléments finis et un matériau propre lui serait attribué, peut-être avec des propriétés mécaniques proches de celles du cartilage. Ainsi, on pourrait comparer ces deux expériences avec un volume d'intérêt d'un autre squamate sans front d'ossification, comme par exemple, le spécimen de *Tiliqua scincoides* (Annexe E).

Détermination des efforts musculaires

Cette méthode a fourni des résultats cohérents dans l'estimation des chargements articulaires. Une nouvelle expérience pourrait être de chercher à estimer les tractions musculaires. Il serait donc possible d'utiliser les deux processus musculaires des humérus proximaux des tortues. En revanche, les forces à appliquer ne seraient pas normales à la surface des processus et il faudrait estimer les angles. Un des moyens envisageables pourrait être d'appliquer successivement trois forces pour chaque élément chargé, chacune correspondant à un seul vecteur cartésien. Les trois forces donneraient une force résultante : avec différents éléments chargés, il serait possible d'obtenir un patron de traction musculaire. Ainsi, on pourrait obtenir des différences de tractions musculaires entre les tortues nageuses et marcheuses.

Taxons supplémentaires

Des résultats prometteurs ont été obtenus à partir des humérus des tortues. Les travées des tortues amphibiennes étaient plus orientées que celles des terrestres. Un signal locomoteur a pu être extrait grâce à la méthode d'estimation des charges. Les méthodes appliquées dans cette thèse (l'extraction d'un volume d'intérêt sphérique et la méthode d'estimation des charges) devraient être utilisées sur un plus grand échantillonnage de tortues actuelles

et fossiles, afin d'explorer plus en détails ces liens entre les travées et les écologies/locomotions. Des volumes d'intérêts seront également extraits dans leurs processus musculaires proximaux et dans les épiphyses.

Il serait également intéressant d'utiliser ces deux méthodes sur le clade de crocodyliens. Dans ce groupe, des espèces fossiles ont montré une posture parasagittale (baurusuchidae), ainsi que des écologies strictement terrestres (aetosauria) et aquatiques (metriorhynchidae), et l'analyse de leurs humérus pourrait renforcer les résultats préliminaires de ces méthodes (Clarac et al. 2017, Leardi et al. 2018).

Un humérus de *Claudiosaurus germaini* (MNHN.F.MAP571) a pu récemment être extrait d'un nodule. Il s'agit d'un reptile provenant du permien (environ 255 millions d'années) de Madagascar, qui possèdent des membres légèrement modifiés pour une locomotion aquatique (Houssaye 2009). De plus, ses membres et ses vertèbres sont ostéosclérotiques (il y a des augmentations de la compacité interne), suggérant également un mode de vie aquatique (Buffrénil & Mazin 1989, Houssaye 2009). Le chargement articulaire humérale du spécimen de *Claudiosaurus* sera comparé avec ceux de lézards terrestres (*Sphenodon*, *Tiliqua* et *Polychrus*) et de crocodyliens amphibies (*Alligator* et *Crocodylus*), afin d'inférer sa locomotion et son mode de vie.

Enfin, ces deux méthodes sont applicables à la problématique du retour au milieu aquatique, chez un grand nombre d'autres groupes de vertébrés actuels et fossiles : cétacés, ichthyosaures, mosasaures...

Références bibliographiques

Buffrénil, V. de, & Mazin, J. M. (1989). Bone histology of *Claudiosaurus germaini* (Reptilia, Claudiosauridae) and the problem of pachyostosis in aquatic tetrapods. *Historical Biology*, 2(4), 311-322.

Clarac, F., Buffrénil, V. de, Brochu, C., & Cubo, J. (2017). The evolution of bone ornamentation in Pseudosuchia : Morphological constraints versus ecological adaptation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 121 (2), 395-408.

Houssaye, A. (2009). "Pachyostosis" in aquatic amniotes : a review. *Integrative Zoology*, 4(4), 325-340.

Kamska, V., Daeschler, E. B., Downs, J. P., Ahlberg, P. E., Tafforeau, P., & Sanchez, S. (2019). Long-bone development and life-history traits of the Devonian tristichopterid *Hyneria lindae*. *Earth and Environmental Science Transactions of The Royal Society of Edinburgh*, 109(1-2), 75-86.

Leardi, J. M., Pol, D., & Gasparini, Z. (2018). New Patagonian baurusuchids (Crocodylomorpha ; Notosuchia) from the Bajo de la Carpa Formation (Upper Cretaceous ; Neuquén, Argentina) : new evidences of the early sebecosuchian diversification in Gondwana. *Comptes Rendus Palevol*, 17(8), 504-521.

McInroe, B., Astley, H. C., Gong, C., Kawano, S. M., Schiebel, P. E., Rieser, J. M., Choset, H., Blob, R. W., & Goldman, D. I. (2016). Tail use improves performance on soft substrates in models of early vertebrate land locomotors. *Science*, 353(6295), 154-158.

Niedzwiedzki, G., Szrek, P., Narkiewicz, K., Narkiewicz, M., & Ahlberg, P. E. (2010). Tetrapod trackways from the early Middle Devonian period of Poland. *Nature*, 463(7277), 43.

Nyakatura, J. A. (2016). Learning to move on land. *Science*, 353(6295), 120-121.

Pierce, S. E., Clack, J. A., & Hutchinson, J. R. (2012). Three-dimensional limb joint mobility in the early tetrapod *Ichthyostega*. *Nature*, 486 (7404), 523–526.

Sanchez, S., Tafforeau, P., & Ahlberg, P. E. (2014). The humerus of *Eusthenopteron* : a puzzling organization presaging the establishment of tetrapod limb bone marrow. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 281(1782), 20140299.

Sanchez, S., Tafforeau, P., Clack, J. A., & Ahlberg, P. E. (2016). Life history of the stem tetrapod *Acanthostega* revealed by synchrotron microtomography. *Nature*, 537(7620), 408.

Annexe A

Plasse et al. 2019 - Additional Files

Additional file 1 : R script for Two-block partial least squares analysis. **En ligne** : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jmor.20996>

Additional file 2 : Scan parameters according to the specimens : voxel size (μm), number of images, exposure (ms), voltage (kV), current (μA) and filter (unknown or 0.2 mm of copper).

Additional file 3 : Fiji macro to acquire trabecular parameters. **En ligne** : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jmor.20996>

Additional file 4 : Phylogeny of studied specimens, modified from Zheng & Wians (2016) and Shaffer et al. (2017). Color represents the Bone volume fraction (BV/TV).

Additional file 5 : Trabecular parameters scaling against TV (Total Volume) for all reptiles, only Squamata and only Testudines. The two variables of each regression were log-transformed. The regression is defined by its slope (a_{obs}), its coefficient of determination R^2 and its p-value ($H_0 : a_{obs} = 0$). CI 95% represents the confidence intervals to 95% of the observed slope (a_{obs}). Significant results are in bold (P-value < 0.05). See Table 2 for abbreviations.

Additional file 6 : Predicted lifestyle for each species according to LDAs with cross-validation (CV). The gray color indicates a wrong prediction.

Additional file 7 : Supplementary data about locomotor postures with associated bibliographic references.

Additional file 8 : Supplementary data about linear discriminant analyses : singular values (extracted in R with \$svd), proportions of between-group variance (which is explained by each linear discriminant) and coefficients of linear discriminants (extracted with \$scaling).

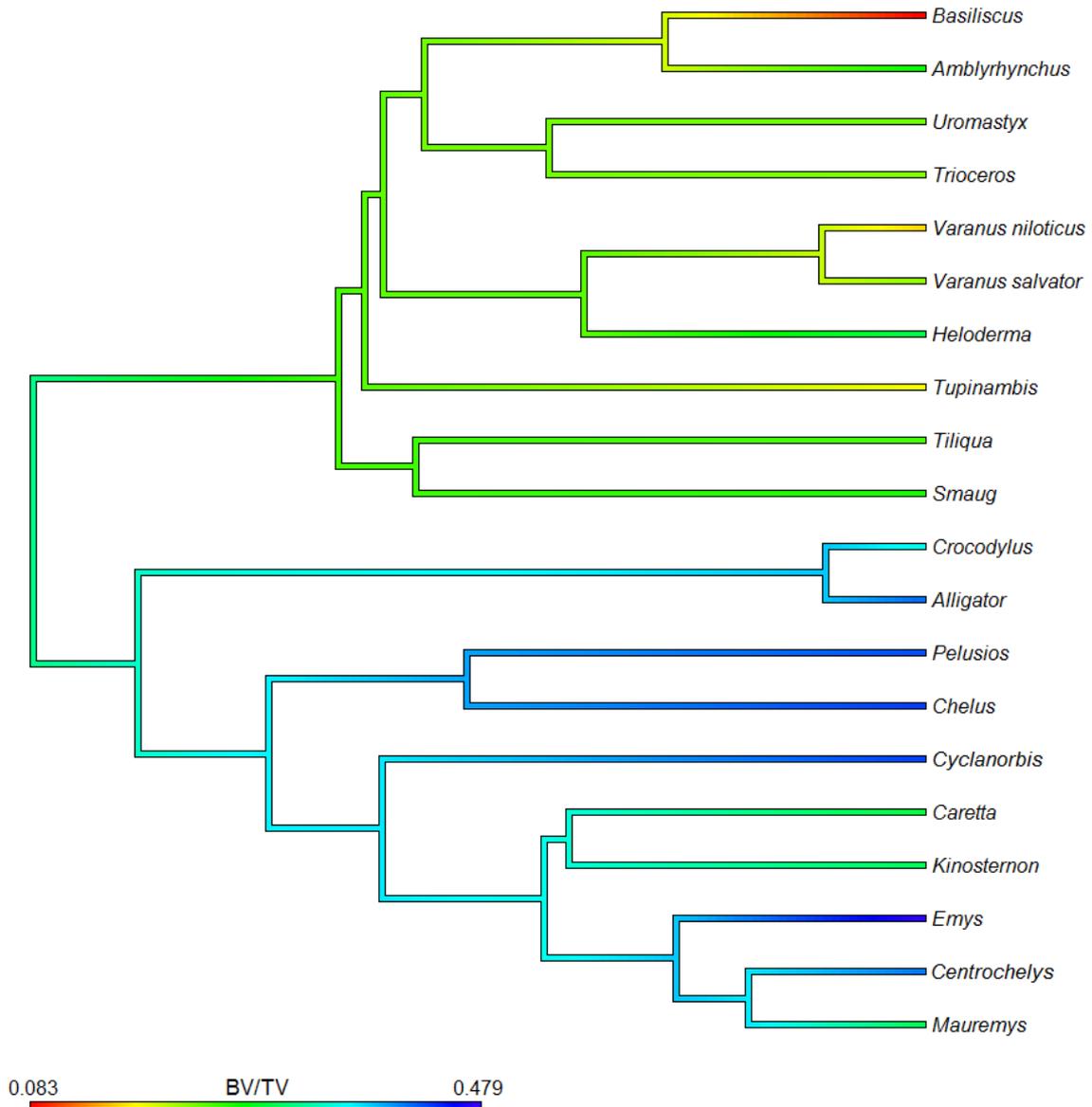
Additional File 2

Scan parameters according to the specimens: voxel size (μm), number of images, exposure (ms), voltage (kV), current (μA) and filter (unknown or 0.2 mm of copper).

Species	Catalogue number	Voxel Size (μm)	Number of images	Exposure (ms)	Voltage (kV)	Current (μA)	Filter
<i>Alligator mississippiensis</i>	MNHN-ZA-AC-1876-282	50.406	1650	500	100	230	0.2mm Cu
<i>Crocodylus niloticus</i>	MNHN-ZA-AC-2005-71	60.060	1700	500	140	420	0.2mm Cu
<i>Amblyrynchus cristatus</i>	Michel Laurin's personal collection	26.251	2600	333	140	180	Unknown
<i>Basiliscus vittatus</i>	MNHN-ZA-AC-1883-1830	15.147	1500	500	70	150	0.2mm Cu
<i>Heloderma suspectum</i>	MNHN-ZA-AC-1950-174	24.169	2000	333	90	260	Unknown
<i>Smaug giganteus</i>	MNHN-ZA-AC-1964-53	13.604	1350	500	70	170	0.2mm Cu
<i>Tiliqua scincoides</i>	MNHN-ZA-AC-1898-285	23.209	1500	500	70	150	0.2mm Cu
<i>Triceros johnstoni</i>	MNHN-ZA-AC-2004-2	16.362	1500	500	70	150	0.2mm Cu
<i>Tupinambis teguixin</i>	MNHN-ZA-AC-1967-96	24.169	2000	333	90	260	Unknown
<i>Uromastyx acanthinura</i>	MNHN-ZA-AC-1909-2	23.209	1500	500	70	150	0.2mm Cu
<i>Varanus niloticus</i>	MNHN-ZA-AC-1968-152	24.169	2000	333	90	260	Unknown
<i>Varanus salvator</i>	MNHN-ZA-AC-1977-4	50.406	1650	500	100	230	0.2mm Cu
<i>Caretta caretta</i>	MNHN-ZA-AC-1975-21	113.825	1875	500	100	260	0.2mm Cu
<i>Chelus fimbriatus</i>	MNHN-ZA-AC-1930-365	40.409	2300	500	160	250	0.2mm Cu
<i>Emys orbicularis</i>	MNHN-ZA-AC-2014-2	16.362	1500	500	70	150	0.2mm Cu
<i>Centrochelys sulcata</i>	MNHN-ZA-AC-1974-68	97.174	1500	500	100	230	0.2mm Cu
<i>Kinosternon leucostomum</i>	MNHN-ZA-AC-1911-309	13.604	1350	500	70	170	0.2mm Cu
<i>Mauremys leprosa</i>	MNHN-ZA-AC-1885-418	23.209	1500	500	70	150	0.2mm Cu
<i>Pelusios gabonensis</i>	MNHN-ZA-AC-1934-373	40.409	2300	500	160	250	0.2mm Cu
<i>Cyclanorbis senegalensis</i>	MNHN-ZA-AC-1889-384	50.406	1650	500	100	230	0.2mm Cu

Additional file 4

Phylogeny of studied specimens, modified from Zheng & Wians (2016) and Shaffer et al. (2017).
Color represents the Bone volume fraction (BV/TV).



Additional file 5

Trabecular parameters scaling against TV (Total Volume) for all reptiles, only Squamata and only Testudines. The two variables of each regression were log-transformed. The regression is defined by its slope (a_{obs}), its coefficient of determination R^2 and its p-value ($H_0: a_{\text{obs}}=0$). CI 95% represents the confidence intervals to 95% of the observed slope (a_{obs}). Significant results are in bold (P-value < 0.05). See Table 2 for abbreviations.

Parameters	All					Squamata					Testudines				
	a_{obs}	CI 95%	R^2	P-Value	a_{obs}	CI 95%	R^2	P-Value	a_{obs}	CI 95%	R^2	P-Value			
Av.Br.Len	0.1796	0.1482; 0.2109	0.8894	4.85E-10	0.1691	0.1119; 0.2264	0.8529	1.37E-04	0.1935	0.1348; 0.2521	0.9156	1.94E-04			
Tb.Th	0.2031	0.1601; 0.2460	0.8459	9.80E-09	0.1637	0.0767; 0.2506	0.7019	0.002478	0.1985	0.1351; 0.2618	0.9075	2.57E-04			
Tb.Sp	0.1363	0.0776; 0.1951	0.5691	1.22E-04	0.1514	0.0666; 0.2362	0.6794	0.003357	0.1839	0.1660; 0.2018	0.9906	2.61E-07			
BS/TV	-0.335	-0.5091; -0.1609	0.4759	0.0007638	-0.4104	-0.8267; 0.0058	0.3926	0.05258	-0.4503	-0.6214; -0.2792	0.8736	0.0006632			
BV/TV	0.06044	-0.0268; 0.1477	0.1053	0.1627	0.02427	-0.1574; 0.2059	0.01173	0.7659	-0.007963	-0.0799; 0.0640	0.01206	0.7957			
Conn.D	-0.3436	-0.5046; -0.1826	0.5277	0.0002868	-0.2892	-0.4639; -0.1145	0.6456	0.005108	-0.5066	-0.6742; -0.3390	0.9011	0.0003139			
DA	-0.03439	-0.0743; 0.0056	0.1537	0.08735	0.0038	-0.0829; 0.0905	0.001273	0.922	-0.04601	-0.0969; 0.0049	0.4493	0.06892			
Tb.N	-0.1426	-0.2200; -0.0652	0.4545	0.001116	-0.1394	-0.2871; 0.0083	0.3718	0.06124	-0.2064	-0.2683; -0.1446	0.9175	0.0001815			

Additional file 6

Predicted lifestyle for each species according to LDAs with cross-validation (CV). The gray color indicates a wrong prediction.

Species	Ecology	LDAs on original variables						
		basic	without BVTV	two variables removal	on PCA scores	2 groups	3 groups	
<i>Caretta</i>	Aquatic	Terrestrial	Aquatic	Terrestrial	Terrestrial	Amphibious	Ground	Ground
<i>Chelus</i>	Aquatic	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Amphibious	Amphibious	Ground	Ground
<i>Cyclanorbis</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Aquatic	Water	Water	Amphibious
<i>Amblyrynchus</i>	Amphibious	Amphibious	Climber	Amphibious	Aquatic	Ground	Ground	Amphibious
<i>Alligator</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Water	Water	Amphibious
<i>Emys</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Aquatic	Water	Water	Amphibious
<i>Kinosternon</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Water	Water	Amphibious
<i>Pelusios</i>	Amphibious	Amphibious	Fossorial	Amphibious	Amphibious	Water	Water	Amphibious
<i>Mauremys</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Ground	Ground	Amphibious
<i>Crocodylus</i>	Amphibious	Climber	Climber	Amphibious	Amphibious	Ground	Ground	Amphibious
<i>Smaug</i>	Terrestrial	Aquatic	Fossorial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Ground	Aquatic
<i>Tiliqua</i>	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Ground	Ground
<i>Tupinambis</i>	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Ground	Ground	Ground
<i>Varanus niloticus</i>	Terrestrial	Fossorial	Fossorial	Fossorial	Fossorial	Ground	Ground	Ground
<i>Varanus salvator</i>	Terrestrial	Aquatic	Aquatic	Aquatic	Aquatic	Climber	Water	Aquatic
<i>Heloderma</i>	Fossorial	Climber	Terrestrial	Fossorial	Fossorial	Ground	Ground	Ground
<i>Uromastyx</i>	Fossorial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Fossorial	Ground	Ground	Ground
<i>Centrochelys</i>	Fossorial	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Water	Water	Amphibious
<i>Basiliscus</i>	Climbing	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Ground	Ground	Ground
<i>Trioeceros</i>	Climbing	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Terrestrial	Ground	Amphibious

LDAs on residuals variables (against TV) + BTVV

Species	Ecology	classic	without BTVV	two variables removal	on PCA scores	2 groups	3 groups
<i>Caretta</i>	Aquatic	Amphibious	Fossorial	Fossorial	Amphibious	Water	Amphibious
<i>Chelus</i>	Aquatic	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Ground	Ground
<i>Cyclanorbis</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Water	Amphibious
<i>Amblyrynchus</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Water	Amphibious
<i>Alligator</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Water	Amphibious
<i>Emys</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Water	Amphibious
<i>Kinosternon</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Ground	Amphibious
<i>Pelusios</i>	Amphibious	Amphibious	Fossorial	Amphibious	Amphibious	Water	Aquatic
<i>Mauremys</i>	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Water	Amphibious
<i>Crocodylus</i>	Amphibious	Fossorial	Fossorial	Fossorial	Fossorial	Ground	Ground
<i>Smaug</i>	Terrestrial	Fossorial	Aquatic	Fossorial	Fossorial	Ground	Ground
<i>Tiliqua</i>	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Ground	Ground
<i>Tupinambis</i>	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Ground	Ground
<i>Varanus niloticus</i>	Terrestrial	Fossorial	Fossorial	Fossorial	Fossorial	Ground	Ground
<i>Varanus salvator</i>	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Ground	Ground
<i>Heloderma</i>	Fossorial	Aquatic	Terrestrial	Fossorial	Aquatic	Water	Ground
<i>Uromastyx</i>	Fossorial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Ground	Ground
<i>Centrochelys</i>	Fossorial	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Amphibious	Water	Amphibious
<i>Basiliscus</i>	Climbing	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Terrestrial	Ground	Ground
<i>Triceros</i>	Climbing	Fossorial	Amphibious	Fossorial	Fossorial	Ground	Amphibious

Additional file 7

Supplementary data about locomotor postures with associated bibliographic references.

Crocodylia

Although extant crocodylians are generally defined as semi-erect, each posture (sprawling, semi-erect and erect) can be achieved by varying the amount of femoral adduction in *Alligator mississippiensis* (Gatesy 1991).

Squamata

Some specimens of *Uromastyx hardwickii* performs a belly-dragging walk during courtship (Ramesh & Sankaran 2013) and tracks of *Uromastyx aegyptius* (Cunningham 2000) suggest that a belly-dragging sprawling posture is performed. During the walk of *Basiliscus*, the body is alternatively supported by a foot and its contralateral hand and the hind leg is raised (Snyder 1949), so we can conclude that the belly is not dragged on the substrate. However, sprawling postures are unclear in *Heloderma*, *Amblyrhynchus* and *Smaug*: both postures can be performed depending on the specimens and behaviors, and data is on some case missing. In *Heloderma*, a belly-dragging sprawling posture is adopted in fat captive specimens or gravid females, but wild specimens seem to show a raised sprawling posture (Bogert & Martin del Campo 1956). Adults of marine iguana (*Amblyrhynchus cristatus*) show a preference to swim rather than to walk between two points with higher speeds and a lower metabolic expense (Gleeson 1979). They dive for their subtidal foraging activity, during which they must swim to overcome their buoyancy and stay submerged (Bartholomew et al. 1976). While its various

basking postures and both swimming and diving styles are described, to our knowledge no bibliographical data exists on its sprawling posture (Bartholomew 1966, Bartholomew et al. 1976). Based on our personal observations from videos, *Amblyrhynchus* will be rather a raised sprawler when walking. *Smaug giganteus* can raise itself off the ground by extending the legs during an aggressive display (Ruddock 2000). This display posture has been emphasized by Ruddock (2000), but it is unclear if *Smaug* is generally a belly-dragging sprawler.

Testudines

‘Bottom-walkers’ turtles walk on the bottom of the lakes or on land.

In good swimmers, such as marine turtles, the forelimbs are flapped up and down simultaneously (pelvic flippers are used as combined rudders and elevators); while freshwater species show a diagonal sequence gait, the forelimb being synchronized with the contralateral hindlimb and *vice versa* (Davenport et al. 1984).

Bibliographic references

Bartholomew, G. A. (1966). A field study of temperature relations in the Galapagos marine iguana. *Copeia*, 241-250.

Bartholomew, G. A., Bennett, A. F., & Dawson, W. R. (1976). Swimming, diving and lactate production of the marine iguana, *Amblyrhynchus cristatus*. *Copeia*, 709-720.

Bogert, C. M., & Martín del Campo, R. (1956). The gila monster and its allies: the relationships, habits, and behavior of the lizards of the family Helodermatidae. *Bulletin of the AMNH*, 109, article 1.

- Cunningham, P. (2000). Daily activity pattern and diet of a population of the Spinytailed Lizard, *Uromastyx aegyptius microlepis*, during summer in the United Arab Emirates. *Zoology in the Middle East*, 21(1), 37-46.
- Davenport, J., Munks, S. A., & Oxford, P. J. (1984). A comparison of the swimming of marine and freshwater turtles. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 220(1221), 447-475.
- Gatesy, S. M. (1991). Hind limb movements of the American alligator (*Alligator mississippiensis*) and postural grades. *Journal of Zoology*, 224(4), 577-588.
- Gleeson, T. T. (1979). Foraging and transport costs in the Galapagos marine iguana, *Amblyrhynchus cristatus*. *Physiological zoology*, 52(4), 549-557.
- Ramesh, M., & Sankaran, R. (2013). Natural History Observations on the Indian Spiny-tailed Lizard *Uromastyx hardwickii* in the Thar Desert. In *Faunal Heritage of Rajasthan, India* (pp. 295-310). Springer, New York, NY.
- Ruddock, L. (2000). *Social structure of the lizard, Cordylus giganteus* (Doctoral dissertation, Stellenbosch: Stellenbosch University).
- Snyder, R. C. (1949). Bipedal locomotion of the lizard *Basiliscus basiliscus*. *Copeia*, 1949(2), 129-137.

Additional file 8

Supplementary data about linear discriminant analyses: singular values (extracted in R with \$svd), proportions of between-group variance (which is explained by each linear discriminant) and coefficients of linear discriminants (extracted with \$scaling).

On raw data:

Basic:

Singular values / proportions of between-group variance:

LD1: 6.7861495 / 83.35 %

LD2: 2.8885536 / 15.10 %

LD3: 0.7623667 / 1.05 %

LD4: 0.5258842 / 0.5 %

Coefficients of linear discriminants:

	LD1	LD2	LD3	LD4
AvBrLen	62. 68824169	20. 97523736	-0. 764821556	21. 55219650
TbTh	-66. 64356588	-9. 10896260	42. 130370391	-25. 57742242
TbSp	-3. 92539211	-5. 06073715	-17. 840522224	-12. 18269229
BSTV	-0. 07981528	0. 03071373	-0. 210619552	0. 25730893
ConnD	-0. 08997817	0. 01151508	-0. 005960856	0. 03854576
BVTV	-19. 26227138	4. 71590409	-20. 580515705	0. 62588614
DA	-13. 67920251	2. 49744034	-0. 363432923	-0. 75407045
TbN	5. 38170864	0. 04278483	0. 848721129	-2. 89317581

BV/TV removal:

Singular values / proportions of between-group variance:

LD1: 5.7075633 / 78.94 %

LD2: 2.8498179 / 19.68 %

LD3: 0.5436613 / 0.72 %

LD4: 0.5239605 / 0.67 %

Coefficients of linear discriminants:

	LD1	LD2	LD3	LD4
AvBrLen	54. 745735012	19. 23416146	-4. 968105887	21. 06429198
TbTh	-83. 924755237	1. 46285594	-1. 320534496	-26. 20557456
TbSp	4. 277315467	-7. 59675636	13. 131390097	-8. 87433789
BSTV	-0. 007207776	0. 01279817	0. 110043187	0. 30430166
ConnD	-0. 074096031	0. 01339772	-0. 002808375	0. 03963843
DA	-12. 745842825	3. 27341649	3. 538062053	0. 42752331
TbN	3. 608747181	0. 20989895	1. 284492830	-2. 58641403

Two correlated variables (BS/TV + Tb.Sp) removal:

Singular values / proportions of between-group variance:

LD1: 6.6687302 / 84.11 %

LD2: 2.8289403 / 15.14 %

LD3: 0.5685122 / 0.61 %

LD4: 0.2762497 / 0.14 %

Coefficients of linear discriminants:

	LD1	LD2	LD3	LD4
AvBrLen	59.75660390	-17.800771403	-15.0909174	-0.82681990
TbTh	-70.39807276	13.120153983	39.4197574	2.22195072
ConnD	-0.09003823	-0.008409367	-0.0327339	-0.02078773
BVTV	-15.75473886	-8.291237724	-10.7706337	-2.41791402
DA	-13.36154833	-2.720324005	0.4205548	-1.71897045
TbN	5.17830024	-0.218964467	2.0499572	1.69560612

On PCA scores:

Singular values / proportions of between-group variance:

LD1: 9.1408873 / 86.65 %

LD2: 3.1344550 / 10.19 %

LD3: 1.5432211 / 2.47 %

LD4: 0.8142863 / 0.69 %

Coefficients of linear discriminants:

	LD1	LD2	LD3	LD4
Di m. 1	0.02120074	-0.05208927	0.04518488	0.1880316
Di m. 2	-2.36130676	0.68268815	-0.05163842	0.1283556
Di m. 3	-0.26429762	-0.23209876	-0.09501396	0.6425437
Di m. 4	4.13941317	0.68148537	-0.66468655	0.6915586
Di m. 5	-2.42299657	-1.67546672	-0.14745960	0.6458270
Di m. 6	2.99456231	2.18411023	4.30104451	0.7586047
Di m. 7	6.12029403	1.75917299	-0.12466558	1.1499500
Di m. 8	-5.79458233	-6.87428014	3.07708428	0.0168297

Two groups: water and ground:

Singular value:

LD1: 5.606851

Coefficients of linear discriminants:

	LD1
AvBrLen	1. 14311442
TbTh	-0. 53873368
TbSp	-1. 21974027
BSTV	0. 14507268
ConnD	0. 04573422
BVTV	14. 21095939
DA	6. 10361591
TbN	-2. 39417626

Three groups: aquatic, amphibious and ground:

Singular values / proportions of between-group variance:

LD1: 6.335459 / 82.59 %

LD2: 2.908783 / 17.41 %

Coefficients of linear discriminants:

	LD1	LD2
AvBrLen	40. 00180653	-27. 25217444
TbTh	-32. 91838088	21. 93284844
TbSp	-8. 08823942	6. 72423203
BSTV	-0. 10410000	-0. 11086974
ConnD	-0. 06264236	-0. 01567942
BVTV	-20. 43938039	-4. 24230666
DA	-10. 07105842	-0. 98698937
TbN	3. 69190233	0. 55420637

On size-corrected data:

Basic:

Singular values / proportions of between-group variance:

LD1: 5.2481238 / 83.70 %

LD2: 1.9364184 / 11.39 %

LD3: 1.1008915 / 3.68 %

LD4: 0.6344895 / 1.22 %

Coefficients of linear discriminants:

	LD1	LD2	LD3	LD4
scAvBrLen	-49.63157172	-29.07041912	11.140324290	5.13629200
scTbTh	40.24394991	30.75936443	44.499049402	-28.36267302
scTbSp	2.36481774	-1.27238022	-6.112863153	11.19663657
scBSTV	0.06240061	-0.03130606	-0.091661113	0.27994509
BTV	27.33294610	-6.09938329	-29.355359168	9.38711091
scConnD	0.07264293	0.01095636	-0.001815992	0.02421247
scDA	13.20081638	1.18818539	-0.233084133	0.82897795
scTbN	-4.94577140	-1.14701754	2.704637855	-1.30966179

BV/TV removal:

Singular values / proportions of between-group variance:

LD1: 4.2828774 / 80.33 %

LD2: 1.9155827 / 16.07 %

LD3: 0.7451627 / 2.43 %

LD4: 0.5175937 / 1.17 %

Coefficients of linear discriminants:

	LD1	LD2	LD3	LD4
scAvBrLen	-31.77499810	-31.130155552	0.789673195	16.80599458
scTbTh	63.79562788	21.043023884	1.100416353	-24.23446878
scTbSp	-8.17414293	1.381931985	-12.712930498	-3.74179980
scBSTV	0.00579368	-0.017016701	-0.093861804	0.30281029
scConnD	0.06169298	0.009468181	-0.007425216	0.03036805
scDA	11.36824890	0.854951741	0.771738504	2.50829089
scTbN	-2.66646356	-1.526941324	-0.486561334	-1.60239823

Two correlated variables (BS/TV + Tb.Sp) removal:

Singular values / proportions of between-group variance:

LD1: 5.2113080 / 84.09 %

LD2: 1.9328414 / 11.57 %

LD3: 1.0664067 / 3.52 %

LD4: 0.5154425 / 0.82 %

Coefficients of linear discriminants:

	LD1	LD2	LD3	LD4
scAvBrLen	-47.68168974	29.97657737	6.5205830	16.02092796
scTbTh	43.70869287	-28.52157084	37.4400028	-24.54482691
BTV	24.34959791	4.50160122	-23.5409203	1.46821852
scConnD	0.07276318	-0.01066532	-0.0018656	0.03398202
scDA	12.93299704	-1.27145613	0.3099471	-0.16051033
scTbN	-4.73715342	1.25166250	2.4095257	-1.19105970

On PCA scores:

Singular values / proportions of between-group variance:

LD1: 5.2481238 / 83.70 %

LD2: 1.9364184 / 11.39 %

LD3: 1.1008915 / 3.68 %

LD4: 0.6344895 / 1.22 %

Coefficients of linear discriminants:

	LD1	LD2	LD3	LD4
Di m. 1	-0.2597927	0.03775869	0.12996878	0.10757982
Di m. 2	-1.1339038	0.56253852	-0.22303923	-0.07748603
Di m. 3	-0.0635372	0.41193509	0.35345660	-0.38314902
Di m. 4	0.2657259	0.06784491	-0.60059972	0.90552449
Di m. 5	-0.4080878	0.60658987	-0.33848242	0.94745244
Di m. 6	6.8570349	2.99209916	0.53337461	0.35976107
Di m. 7	-1.9963800	-1.50076511	0.09919518	-0.80398915
Di m. 8	4.8718366	-0.10510511	-5.13453380	-2.67814220

Two groups: water and ground:

Singular value:

LD1: 6.371926

Coefficients of linear discriminants:

	LD1
scAvBrLen	- 18. 32125664
scTbTh	- 8. 05361314
scTbSp	6. 20299097
scBSTV	0. 14097008
BTV	29. 87034058
scConnD	0. 04586492
scDA	7. 91219054
scTbN	- 3. 51874876

Three groups: aquatic, amphibious and ground:

Singular values / proportions of between-group variance:

LD1: 5.029700 / 85.80 %

LD2: 2.045812 / 14.20 %

Coefficients of linear discriminants:

	LD1	LD2
scAvBrLen	25. 50883155	- 12. 19859728
scTbTh	- 14. 56068851	55. 36375443
scTbSp	- 4. 82051559	- 4. 86077450
scBSTV	- 0. 12556431	- 0. 07273925
BTV	- 22. 44042786	- 25. 22735656
scConnD	- 0. 05544099	0. 01070599
scDA	- 9. 32595585	1. 28564770
scTbN	3. 45104649	1. 06912945

Annexe B

Script matlab "surface.m"

```
1
2 clear all, close all, clc
3
4 M = dlmread('surface_ART334.txt'); % Charger le fichier txt
5 surface = array2table(M) % Transformer txt en table
6 save('surface.mat', 'surface');
7 % Sauve dans le dossier sous forme d une variable
8
9
10 a=200; % rayon de la boule
11 coo = [56 105 97]; % coordonnees de l element
12 load surface.mat
13 surfacePoints = surface ;
14 s1(:,1:3)=surface(:,1:3);
15 s2(:,1:3)=surface(:,4:6);
16 s3(:,1:3)=surface(:,7:9);
17 %s = [s1 ; s2 ; s3] ;
18
19 [ n ] = normalVector( coo , s1 , a )
```

Annexe C

Script python "Jarvis.py"

```
1
2 # -*-coding:utf-8 -*
3 # Importation des variables environnementales :
4 # source /opt/faim-7.1/setenv.sh (a taper dans le terminal)
5 # python jarvis.py pelusios.vti (a taper dans le terminal)
```

C.1 Importer les modules Python

```
1
2 from __future__ import division
3 import argparse
4 import os
5 import sys
6 import numpy
7 from numpy.core import *
8 import vtk
9 import vtkn88
10 from vtk.util.numpy_support import vtk_to_numpy, numpy_to_vtk
11 parser = argparse.ArgumentParser (description="Algorithme d'estimation
12 des charges")
13 parser.add_argument ("input_file",help="An input image file of the
14 segmented data; must be in VTK XML format (.vti).")
15 args = parser.parse_args()
```

C.2 Créer la boucle

```
1
2 from math import *
3 loadcases=open("loadcases.txt","r")
4 for line in loadcases:
5     if line:
6         ld=line
7         ld=ld.split("\t") # Créer une liste
8         ld[-1]=ld[-1].rstrip('\n') # enlever \n dernier caractere
9         print ld
10        number=ld[0]
11        element=ld[1]
12        Xmatlab = float(ld[2])
13        Ymatlab = float(ld[3])
14        Zmatlab = float(ld[4])
```

```

15     norme= sqrt(Xmatlab*Xmatlab)+sqrt(Ymatlab*Ymatlab)+sqrt(Zmatlab*
Zmatlab)
16     Xcorr=-int(round(10000*Xmatlab/norme))
17     Ycorr=-int(round(10000*Ymatlab/norme))
18     Zcorr=-int(round(10000*Zmatlab/norme))
19     print "Loadcase ", number
20     print "Element ", element
21     if Xcorr>0:
22         lettre_X0=Xcorr
23         lettre_X1=0
24     elif Xcorr<0:
25         lettre_X0=0
26         lettre_X1=Xcorr
27     print "X0 =", lettre_X0
28     print "X1 =", lettre_X1
29     if Ycorr>0:
30         lettre_Y0=Ycorr
31         lettre_Y1=0
32     elif Ycorr<0:
33         lettre_Y0=0
34         lettre_Y1=Ycorr
35     print "Y0 =", lettre_Y0
36     print "Y1 =", lettre_Y1
37     if Zcorr>0:
38         lettre_Z0=Zcorr
39         lettre_Z1=0
40     elif Zcorr<0:
41         lettre_Z0=0
42         lettre_Z1=Zcorr
43     print "Z0 =", lettre_Z0
44     print "Z1 =", lettre_Z1
45

```

C.3 Importer du fichier d'entrée

```

1
2     print "Reading", args.input_file
3     reader = vtk.vtkXMLImageDataReader()
4     reader.SetFileName(args.input_file)
5     reader.Update()
6     image = reader.GetOutput()
7     if not image:
8         print "No image data read."
9         sys.exit(1)
10    print "Read image with point dimensions", image.GetDimensions()
11

```

C.4 S'assurer de la connectivité

```

1
2     connectivity_filter = vtkn88.vtkn88ImageConnectivityFilter()
3     connectivity_filter.SetExtractionModeToLargestRegion()
4     connectivity_filter.SetInputData(image)
5     connectivity_filter.Update();
6     image = connectivity_filter.GetOutput()
7

```

C.5 Générer un maillage d'éléments finis

```
1
2 geometry_generator = vtkn88.vtkn88ImageToMesh()
3 geometry_generator.SetInputData(image)
4 geometry_generator.Update()
5 geometry = geometry_generator.GetOutput()
6 print "Generated %d elements and %d nodes." % \
7 (geometry.GetNumberOfCells(), geometry.GetNumberOfPoints())
8
```

C.6 Enregistrer la géométrie dans un fichier .vtu

```
1
2 writer = vtk.vtkXMLUnstructuredGridWriter()
3 geometry_file = "b.vtu"
4 print "Writing geometry to", geometry_file
5 writer.SetFileName(geometry_file)
6 writer.SetInputData(geometry)
7 writer.Write()
8 print ""
9
```

C.7 Définir les matériaux

```
1
2 sphere = vtkn88.vtkn88LinearIsotropicMaterial()
3 sphere.SetName("sphere_material")
4 sphere.SetYoungsModulus(1000) # En MPa
5 sphere.SetPoissonsRatio(0.3)
6
7 bones = vtkn88.vtkn88LinearIsotropicMaterial()
8 bones.SetName("bones_material")
9 bones.SetYoungsModulus(10000) # Meme valeur que Christen et al. 2012
10 bones.SetPoissonsRatio(0.3) # Meme valeur que Christen et al. 2012
11
```

C.8 Créer une table des matériaux

```
1
2 materialTable = vtkn88.vtkn88MaterialTable()
3 materialTable.AddMaterial (50, bones)
4 materialTable.AddMaterial (201, bones)
5 materialTable.AddMaterial (255, bones)
6
```

C.9 Créer le modèle d'éléments finis

```
1
2 generator = vtkn88.vtkn88ApplyTestBase()
3 generator.SetInputData(0, geometry)
4 generator.SetInputData(1, materialTable)
5 generator.Update()
6 model = generator.GetOutput()
7
```

C.10 Créer les ensembles de nœuds et d'éléments

```
1
2 print "Ensembles definis :"
3
4 setelements1 = array([element])
5 elements_vtk = numpy_to_vtk (setelements1, deep=1, array_type=vtk.
  VTK_ID_TYPE)
6 elements_vtk.SetName ("force")
7 model.AddElementSet (elements_vtk)
8 print "- force", number, "element", element
9
```

C.11 Conditions aux limites : fixations

```
1
2 model.ApplyBoundaryCondition (
3     "face_x0",
4     vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_X,
5     0,
6     "bottom_fixed")
7 model.ApplyBoundaryCondition (
8     "face_x0",
9     vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_Y,
10    0,
11    "bottom_fixed")
12 model.ApplyBoundaryCondition (
13    "face_x0",
14    vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_Z,
15    0,
16    "bottom_fixed")
17
18
19 model.ApplyBoundaryCondition (
20    "face_y0",
21    vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_X,
22    0,
23    "bottom_fixed")
24 model.ApplyBoundaryCondition (
25    "face_y0",
26    vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_Y,
27    0,
28    "bottom_fixed")
29 model.ApplyBoundaryCondition (
30    "face_y0",
31    vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_Z,
32    0,
33    "bottom_fixed")
34
35
36 model.ApplyBoundaryCondition (
37    "face_z0",
38    vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_X,
39    0,
40    "bottom_fixed")
41 model.ApplyBoundaryCondition (
42    "face_z0",
```

```

43     vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_Y,
44     0,
45     "bottom_fixed")
46 model.ApplyBoundaryCondition (
47     "face_z0",
48     vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_Z,
49     0,
50     "bottom_fixed")
51

```

C.12 Conditions aux limites : charge appliquée

```

1
2 model.ApplyLoad(
3     "force",
4     vtkn88.vtkn88Constraint.FACE_X0_DISTRIBUTION,
5     vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_X,
6     lettre_X0,
7     "force_X0")
8
9 model.ApplyLoad(
10    "force",
11    vtkn88.vtkn88Constraint.FACE_X1_DISTRIBUTION,
12    vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_X,
13    lettre_X1,
14    "force_X1")
15
16 model.ApplyLoad(
17    "force",
18    vtkn88.vtkn88Constraint.FACE_Y0_DISTRIBUTION,
19    vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_Y,
20    lettre_Y0,
21    "force_Y0")
22
23 model.ApplyLoad(
24    "force",
25    vtkn88.vtkn88Constraint.FACE_Y1_DISTRIBUTION,
26    vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_Y,
27    lettre_Y1,
28    "force_Y1")
29
30 model.ApplyLoad(
31    "force",
32    vtkn88.vtkn88Constraint.FACE_Z0_DISTRIBUTION,
33    vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_Z,
34    lettre_Z0,
35    "force_Z0")
36
37 model.ApplyLoad(
38    "force",
39    vtkn88.vtkn88Constraint.FACE_Z1_DISTRIBUTION,
40    vtkn88.vtkn88Constraint.SENSE_Z,
41    lettre_Z1,
42    "force_Z1")
43

```

C.13 Paramètres de post-traitement

```
1
2 info = model.GetInformation()
3 pp_node_sets_key = vtkn88.vtkn88SolverParameters.
  POST_PROCESSING_NODE_SETS()
4 pp_elem_sets_key = vtkn88.vtkn88SolverParameters.
  POST_PROCESSING_ELEMENT_SETS()
5 pp_elem_sets_key.Append (info, "force")
6 pp_node_sets_key.Append (info, "face_x0")
7 pp_node_sets_key.Append (info, "face_y0")
8 pp_node_sets_key.Append (info, "face_z0")
9
```

C.14 Créer le fichier .n88model

```
1
2 output_file = os.path.splitext(args.input_file)[0] + number + ".
  n88model"
3 output_file = os.path.split(output_file)[1]
4
5 print "Writing n88model file:", output_file
6 writer = vtkn88.vtkn88N88ModelWriter()
7 writer.SetInputData(model)
8 writer.SetFileName(output_file)
9 writer.Update()
10
```

C.15 Résoudre le modèle avec FAIM

```
1
2 strnumber=str(number)
3 os.system("faim --engine=nv --device=1 " + output_file)
4 print "FAIM has ended"
5
```

C.16 Extraire les densités d'énergie de déformation

```
1
2 output_txt = strnumber + ".txt"
3 os.system("n88extractfields -o " + output_txt + " StrainEnergyDensity,
  MaterialID " + output_file)
4 os.system("./sedtrab28 < " + output_txt)
5 os.rename('50.txt', strnumber + '_50.txt')
6 os.rename('201.txt', strnumber + '_201.txt')
7
```

Annexe D

Script matlab "load_estimation.m"

```
1
2 clear all, close all, clc
3
4
5 %% parametres
6 k = 0.02 ; % (MPa) valeur homeostasie
7 chemin1 = '/ptmp/mplasse/Bureau/Kinosternon/SED_154_trab' ;
8 chemin2 = '/ptmp/mplasse/Bureau/Kinosternon/SED_29_cort' ;
9
10
11 fcasTb = {'1_154','2_154','3_154','4_154','5_154','6_154','7_154',
12         '8_154','9_154','10_154','11_154','12_154','13_154','14_154',
13         '15_154','16_154','17_154','18_154','19_154','20_154','21_154',
14         '22_154','23_154','24_154','25_154','26_154','27_154','28_154',
15         '29_154','30_154','31_154','32_154','33_154','34_154','35_154',
16         '36_154','37_154','38_154','39_154','40_154','41_154',
17         '42_154','43_154','44_154','45_154','46_154','47_154','48_154',
18         '49_154','50_154','51_154','52_154'}
19
20 fcasCt = {'1_29','2_29','3_29','4_29','5_29','6_29','7_29','8_29',
21         '9_29','10_29','11_29','12_29','13_29','14_29','15_29','16_29',
22         '17_29','18_29','19_29','20_29','21_29','22_29','23_29',
23         '24_29','25_29','26_29','27_29','28_29','29_29','30_29','31_29',
24         '32_29','33_29','34_29','35_29','36_29','37_29','38_29','39_29',
25         '40_29','41_29','42_29','43_29','44_29','45_29','46_29',
26         '47_29','48_29','49_29','50_29','51_29','52_29'}
27
28 %% construction matrice des cas de charge A
29 % colonne = 1 cas de charge
30 % lignes = elements
31 % Tb
32 for i=1:length(fcasTb)
33     fname = [chemin1 '/' fcasTb{i} '.txt']
34     fileID = fopen(fname,'r');
35     Acol = fscanf(fileID,'%e');
36     fclose(fileID);
37     ATb(:,i) = Acol ;
38 end
39 clear Acol
40
```

```

30 %Ct
31 % for i=1:length(fcasCt)
32 %     fname = [chemin2 '/' fcasCt{i} '.txt']
33 %     fileID = fopen(fname,'r');
34 %     Acol = fscanf(fileID,'%e');
35 %     fclose(fileID);
36 %     ACt(:,i) = Acol ;
37 % end
38
39 %% reunion des SED Tb et Ct
40 %A = [ATb ; ACt] ;
41 A = [ATb
42     ];

```

Annexe E

Tests préliminaires avec *Tiliqua scincoides*

La méthode d'estimation des chargements articulaires a été testée à l'origine sur un squamate *Tiliqua scincoides* (Scincidae). Ce lézard a une posture avec des membres transversaux, une démarche symétrique (les membres gauche et droit d'un même côté bougent de façon alternée) et traîne sur son ventre : ce type de déplacement pourrait être une étape évolutive dans la locomotion des tétrapodes (Nyakatura et al. 2014).

Plusieurs tests ont été effectués sur cet humérus, dont les extrémités ne montraient pas de front d'ossification. Deux matériaux, "compartiment trabéculaire" et "enveloppe corticale", ont été définis avec les mêmes caractéristiques (un module de Young de 10 GPa et un coefficient de Poisson de 0,3). 19 cas de charge ont été appliqués au niveau de l'articulation de l'humérus.

Test 1 : Le modèle est contraint au niveau de la mi-diaphyse. L'humérus est orienté le long de l'axe Y. L'analyse a été effectuée uniquement à partir des densités d'énergie de déformation du matériau "compartiment trabéculaire". Les amplitudes sont plus importantes à proximité des deux processus musculaires et suggèrent une influence non négligeable des travées de ces deux parties.

Test 2 : Le modèle est contraint au niveau des plans X0, Y0, Z0 et Z1. L'analyse a été effectuée à partir des densités d'énergie de déformation des deux matériaux. Les amplitudes sont plus importantes sur les limites de la tête humérale. On s'attendrait plutôt à obtenir un ou deux chargement(s) important(s), davantage centré(s) sur la tête humérale.

Test 3 : Le modèle est contraint au niveau des plans X0, Y0, Z0 et Z1. L'analyse a été effectuée uniquement à partir des densités d'énergie de déformation du matériau "compartiment trabéculaire". Les résultats montrent un chargement plus important au centre de la tête humérale, que sur les bords, ce qui est cohérent avec un chargement attendu, comme ceux obtenu par Christen et al. (2015).

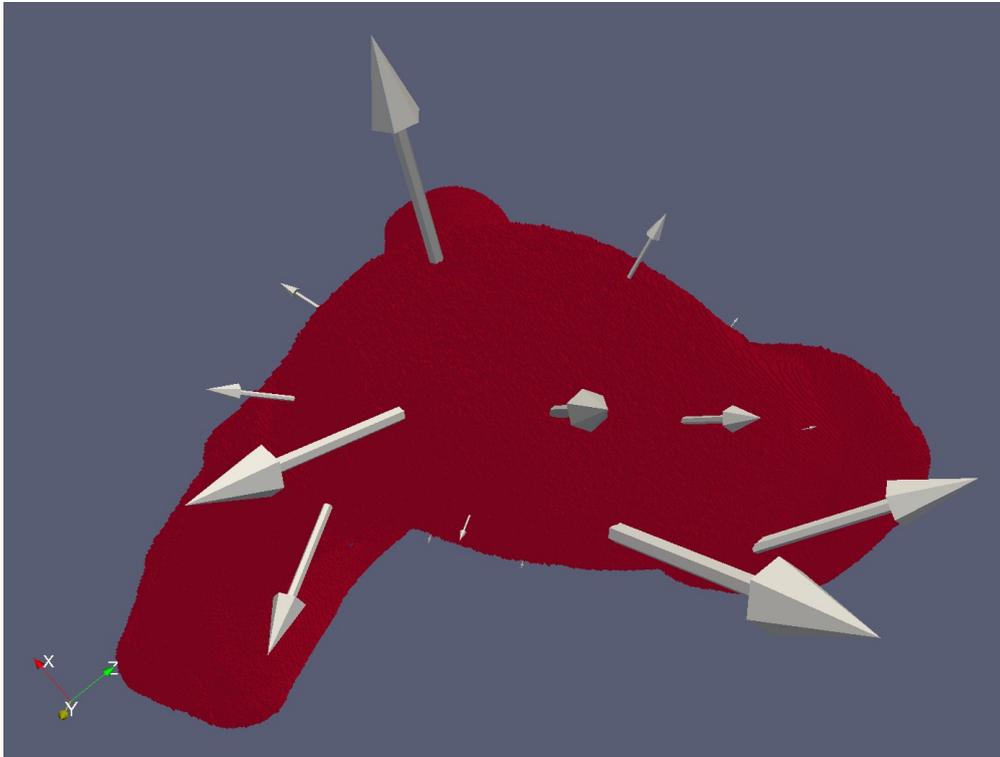
Références bibliographiques

Christen, P., Ito, K., Galis, F., & van Rietbergen, B. (2015). Determination of hip-joint loading patterns of living and extinct mammals using an inverse Wolff's law approach. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 14(2), 427-432.

Nyakatura, J. A., Andrada, E., Curth, S., & Fischer, M. S. (2014). Bridging "Romer's Gap" : limb mechanics of an extant belly-dragging lizard inform debate on tetrapod locomotion during the early carboniferous. *Evolutionary Biology*, 41(2), 175-190.

Test 1 :

Humérus proximal
Tiliqua scincoides
Compartiment trabéculaire



Vue articulaire



Vue craniale

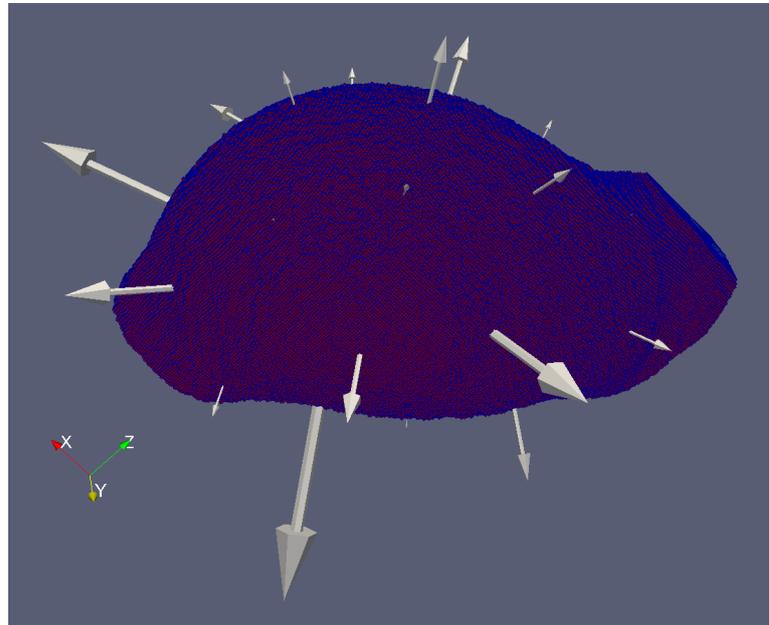


Vue caudale

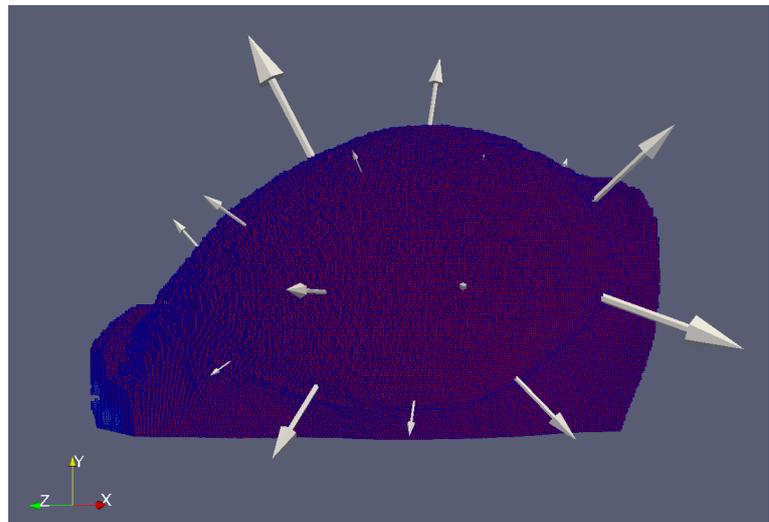
Test 2 :

Tête humérale
Tilapia scincoides
Toutes les SEDs

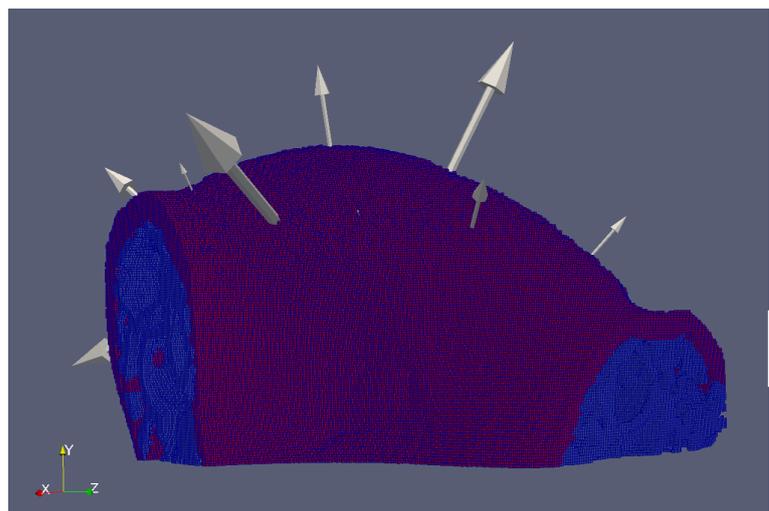
Vue articulaire



Vue craniale



Vue caudale



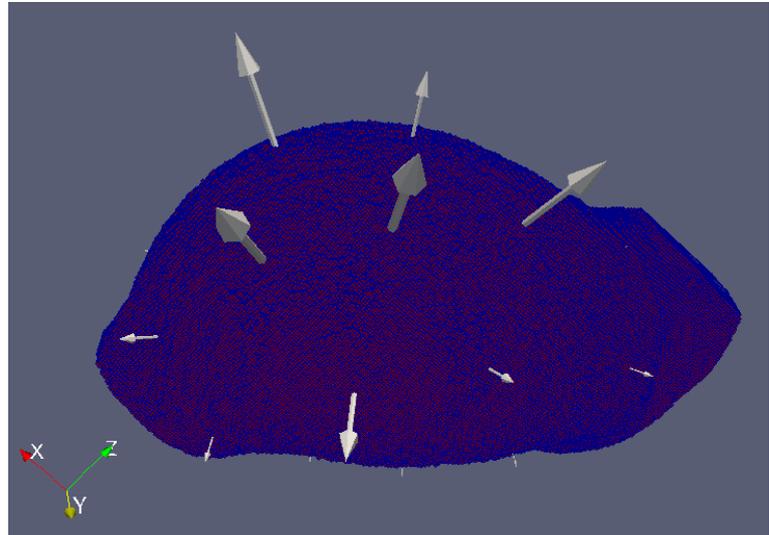
Test 3 :

Tête humérale

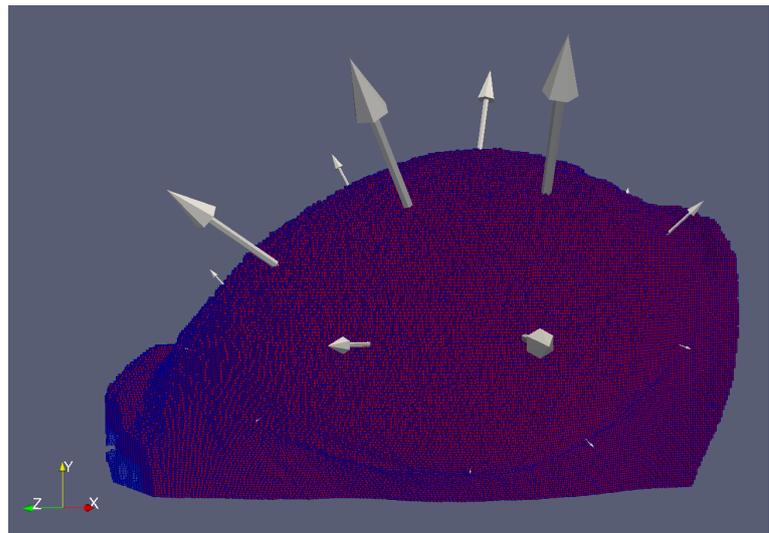
Tiliqua scincoides

Compartiment trabéculaire

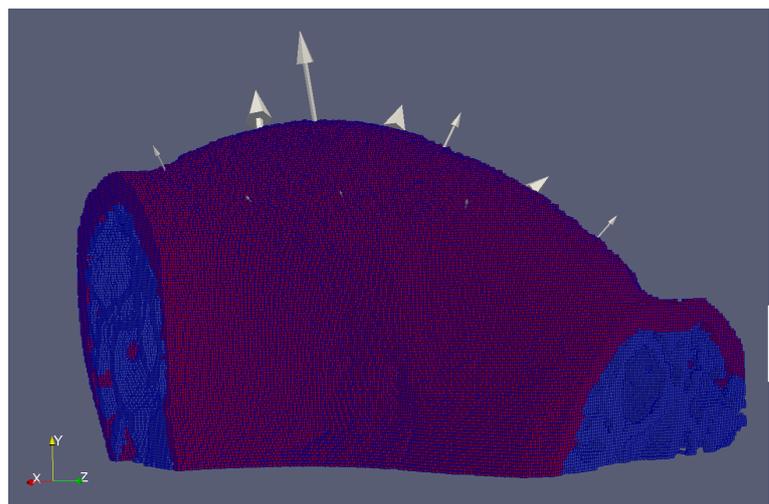
Vue articulaire



Vue craniale



Vue caudale



Résumé

Le mode de vie des tétrapodes éteints est souvent difficile à évaluer sans adaptations morphologiques évidentes, comme des palettes natatoires. Selon l'hypothèse de l'adaptation fonctionnelle de l'os, l'architecture de l'os trabéculaire s'adapte avec précision aux chargements physiologiques. Les études précédentes ont déjà montré une relation claire entre l'architecture trabéculaire et le comportement locomoteur, principalement chez les mammifères et les oiseaux. Toutefois, le lien entre l'architecture trabéculaire et le mode de vie a rarement été étudié. Ici, l'architecture trabéculaire de différents reptiles a été mise en relation avec une large variabilité de modes de vie (aquatique, amphibie, terrestre). Les humeri de squamates, de tortues et crocodyliens ont été scannés par micro-tomographie à rayons X. L'analyse de volumes sphériques extraits de la métaphyse proximale de ces humeri a montré un signal phylogénétique significatif pour un seul des paramètres trabéculaires mesurés. Les analyses discriminantes linéaires suggèrent une bonne séparation des modes de vie selon les espaces morphologiques. De plus, une nouvelle méthode a permis d'estimer des chargements articulaires à partir de modèles d'éléments finis, issus de têtes humérales entières de tortues. Des biais liés aux fixations de ces modèles et à la forme de ces articulations ont été identifiés. Des chargements différents ont été calculés entre les nages et la marche de tortues amphibies. Enfin, les locomotions de deux tortues fossiles ont été inférées. Grâce à ces deux méthodes, l'architecture trabéculaire semble être un outil efficace pour inférer le mode de vie et la locomotion de tétrapodes éteints, spécialement ceux impliqués dans la terrestrialisation ou les retours au milieu aquatique.

Mots-clés : adaptation fonctionnelle de l'os, chargement articulaire, architecture trabéculaire, Testudines, Squamata, mode de vie, humérus

Abstract

The lifestyle of extinct tetrapods is often difficult to assess when clear morphological adaptations, such as swimming paddles are absent. According to the hypothesis of bone functional adaptation, the architecture of trabecular bone adapts sensitively to physiological loadings. Previous studies have already shown a clear relation between trabecular architecture and locomotor behavior, mainly in mammals and birds. However, the link between trabecular architecture and lifestyle has rarely been examined. Here, trabecular architecture of different clades of reptiles has been correlated with a wide range of lifestyles (aquatic, amphibious, terrestrial). Humeri of squamates, turtles and crocodylians have been scanned with X-ray computed microtomography. The analysis of spherical volumes extracted from the proximal metaphyses of these humeri showed a significant phylogenetic signal for one of measured trabecular parameters. Linear discriminant analyses suggest a good separation of lifestyles in the morphological spaces. Furthermore, a new method allowed to estimate articular loadings for finite elements models from entire humeral heads of turtles. Biases related to fixations of these models and to their articular shapes has been identified. Different loadings has been calculated between the swimming and the walking of amphibious turtles. Finally, locomotions of two fossil turtles have been inferred. Thanks to these two methods, the trabecular architecture seems to be an effective tool to infer the lifestyle and the locomotion of extinct tetrapods, especially those involved in the terrestrialization and returns to aquatic environment.

Keywords : bone functional adaptation, articular loading, trabecular architecture, Testudines, Squamata, lifestyle, humerus