

# Comportement mécanique de l'os cortical en croissance

## 1 Introduction

Plusieurs études ont été menées pour déterminer les propriétés mécaniques de l'os cortical chez l'adulte : flexion [32, 36, 63, 80, 126, 126, 148], tension [14, 28, 93, 98, 125], compression [28, 89, 100, 101, 125, 126] et caractérisation ultrasonore [13, 50, 61, 63, 118].

A l'inverse, peu d'études ont été menées sur le comportement mécanique de l'os en croissance (partie I.4, Table I.5). De plus, en raison de la rareté de ces spécimens pour les tests de laboratoire, la plupart de ces études ont été menées sur peu d'échantillons. Par ailleurs, la représentativité de ces échantillons est douteuse, car en grande partie associés à des pathologies de l'enfant.

La difficulté d'obtenir un nombre d'échantillons suffisant et homogène pour une étude significative ne permet pas un consensus sur les données mécaniques de référence de l'os en croissance. Pourtant, ces données sont essentielles dans plusieurs domaines comme le calcul numérique pour implémenter les modèles en données mécaniques ou en imagerie pour l'amélioration des outils diagnostiques (techniques non-irradiantes, images en dynamique).

Dans cette étude, nous proposons une comparaison des propriétés mécaniques de l'os enfant avec de l'os adulte. Les paramètres étudiés par différents essais de caractérisation du matériau sont :

- **la rigidité** et **l'anisotropie** à l'échelle mésoscopique via une caractérisation ultrasonore non-destructive dans les 3 axes principaux de l'os ;
- **l'élasticité** et **la résistance à la rupture** à l'échelle mésoscopique en utilisant un essai de compression dans la direction axiale ;
- **l'élasticité**, **la plasticité** et **la dureté** à l'échelle microscopique en utilisant la nanoindentation instrumentée.

## 2 Matériel et Méthodes

### 2.1 Préparation des échantillons

Les échantillons d'os cortical pédiatrique proviennent de chirurgies correctrices effectuées par le Pr Launay dans le service de chirurgie orthopédique de l'hôpital de La Timone (Marseille, France). Tous les patients étaient mobiles avant l'opération et n'ont reçu aucun traitement connu pour affecter le remodelage osseux.

Pour cette étude, 27 échantillons de fibula et 7 échantillons de fémur ont été recueillis chez 31 enfants âgés de 1 à 18 ans. Du fait de la rareté et de la taille des échantillons prélevés, tous les échantillons n'ont pas pu être testés sur l'ensemble du protocole détaillé à la Figure I.16 (page 36). La répartition des échantillons pour chaque essai est détaillée sur la Figure III.1. Avant les essais, les échantillons ont été conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$ , enveloppés dans une gaze imbibée de PBS (Phosphate Buffer Saline).

Les échantillons d'os cortical adulte proviennent de 17 fibulae de donneurs âgés de 50 à 95 ans et servent de référence (Figure III.1).

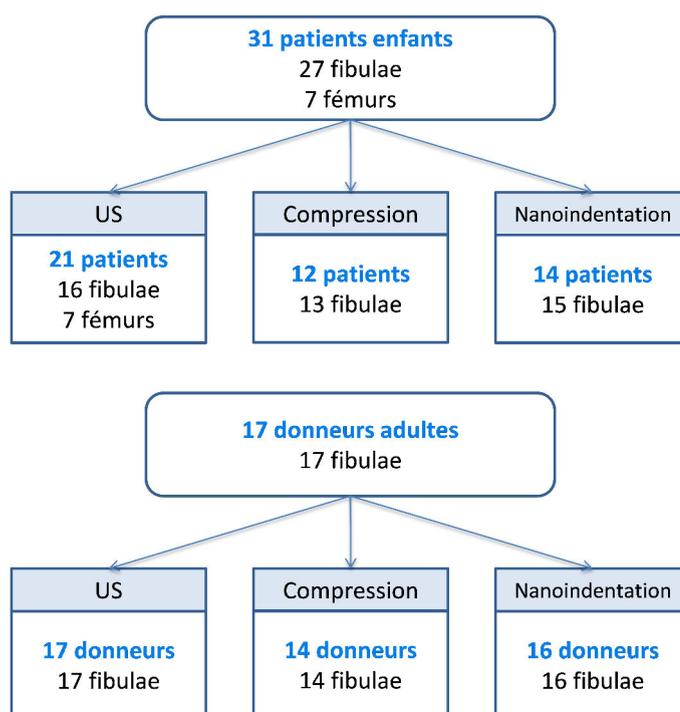


FIGURE III.1 – Répartition des échantillons suivant les essais.

Les échantillons ont été décongelés à température ambiante. Pour la caractérisation par méthode ultrasonore et la compression, nous utilisons les éprouvettes cubiques du chapitre II. Pour la nanoindentation, les échantillons ont été testés sur des blocs de résine. Sur ces blocs, des surfaces plates et parallèles ont été produites grâce à une fraise (Polycut E, Reichert-Jung, Germany).

## 2.2 Caractérisation mécanique par méthode ultrasonore

Les essais de caractérisation ultrasonore ont été mis en place avec l'aide du Dr Philippe Lasaygues, Dr Cécile Baron et Dr Cédric Payan au sein du Laboratoire de Mécanique et d'Acoustique (LMA) à Marseille.

Pour ces essais, nous avons testé (Figure III.1, page 66) :

- 16 fibulae et 7 fémurs de 21 patients enfants. Age moyen :  $10 \pm 6$  ans (1-18 ans) ;
- 17 fibulae de 17 patients adultes. Age moyen :  $76 \pm 13$  ans (50-95 ans).

Les tests sont effectués sur des os bruts découpés en cubes de 2 mm de côté (Voir protocole général à la Figure I.16, page 36).

### 2.2.1 Approche théorique

Le comportement élastique du matériau est modélisé par un tenseur d'ordre 4  $C_{ijkl}$  contenant 81 coefficients élastiques. Le nombre de coefficients indépendants est réduit à 21 en tenant compte de la symétrie des tenseurs de contraintes et de déformations, et de la stabilité énergétique du tenseur. On a :

$$\sigma_{ij} = C_{ijkl} \cdot \varepsilon_{kl}$$

$\sigma_{ij}$  sont les éléments du tenseur des contraintes, et  $\varepsilon_{kl}$  les éléments du tenseur des déformations. Les 21 coefficients  $C_{ijkl}$  caractérisent la matrice de rigidité des constantes élastiques. L'hypothèse d'un comportement orthotrope de l'os nécessite la détermination de neuf coefficients élastiques indépendants du tenseur d'élasticité  $C_{ijkl}$ .

Pour simplifier l'écriture, on adopte souvent une notation de 1 à 6, appelée notation de Voigt :

$$C_{IJ} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & C_{13} & 0 & 0 & 0 \\ C_{21} & C_{22} & C_{23} & 0 & 0 & 0 \\ C_{31} & C_{32} & C_{33} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & C_{44} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & C_{55} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & C_{66} \end{bmatrix}$$

Les relations entre les coefficients élastiques et les vitesses des ondes ultrasonores sont les suivantes :

$$C_{ii} = \rho V_{ii}^2$$

$$C_{44} = \rho V_{23}^2 = \rho V_{32}^2$$

$$C_{55} = \rho V_{13}^2 = \rho V_{31}^2$$

$$C_{66} = \rho V_{12}^2 = \rho V_{21}^2$$

$$C_{12} = \sqrt{(C_{11} + C_{66} - 2\rho V_{12/12}^2)(C_{22} + C_{66} - 2\rho V_{12/12}^2)} - C_{66}$$

$$C_{13} = \sqrt{(C_{11} + C_{55} - 2\rho V_{13/13}^2)(C_{33} + C_{55} - 2\rho V_{13/13}^2)} - C_{55}$$

$$C_{23} = \sqrt{(C_{22} + C_{44} - 2\rho V_{23/23}^2)(C_{33} + C_{44} - 2\rho V_{23/23}^2)} - C_{44}$$

$V_{ii}$  : vitesse de l'onde de compression se propageant dans la direction  $x_i$  avec un mouvement des particules dans la direction  $x_i$  ;

$V_{ij}$  : vitesse de l'onde de cisaillement se propageant dans la direction  $x_i$  avec un mouvement des particules dans la direction  $x_j$  ;

$V_{ij/ij}$  : vitesse quasi-longitudinale ou quasi-transverse de l'onde de compression ou de cisaillement se propageant dans la direction  $\frac{(x_i+x_j)}{\sqrt{2}}$  avec un mouvement des particules dans le plan i-j.

L'obtention des vitesses quasi-longitudinale et quasi-transverse requiert une découpe à 45° supplémentaire pour les échantillons cubiques (Figure III.2) [5]. La petite taille des échantillons de cette étude (2 mm de côté) a rendu impossible l'usinage de ces découpes supplémentaires. Cette étude se focalise sur la détermination des vitesses de propagation des ondes de compression et de cisaillement et donc sur les éléments diagonaux de la matrice de rigidité.

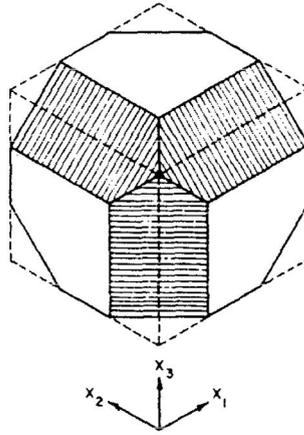


FIGURE III.2 – Découpe des échantillons pour la caractérisation ultrasonore selon Ashman et al. [5].

### 2.2.2 Mesures ultrasonores

Pour trouver des éléments diagonaux de la matrice de rigidité, nous devons déterminer la vitesse de propagation des ondes de compression et de cisaillement. Deux montages expérimentaux ont été utilisés : le premier permettant le calcul des vitesses des ondes de compression et le second pour le calcul des vitesses des ondes de cisaillement. Pour les deux, nous supposons un milieu non dispersif et nous déterminons la vitesse de l'onde se propageant dans la direction  $x_i$  en utilisant une méthode de comparaison. Le temps mis par une onde ultrasonore pour la traversée d'un échantillon entre les deux transducteurs est estimée comme ceci :

$$\begin{aligned} t_{sample} &= t_{ref} - t_{sample} + t_{ref} \\ &= -\Delta t + t_{ref} \\ &= -\Delta t + \frac{l_{ref}}{V_{ref}} \end{aligned}$$

D'où la vitesse de propagation de l'onde :

$$V_{ij} = \frac{l_{sample_i}}{-\Delta t + \frac{l_{ref}}{V_{ref}}}$$

$V_{ij}$  : vitesse de l'onde de compression ( $i = j$ ) ou de cisaillement ( $i \neq j$ ) ;  
 $V_{ref}$  : vitesse de l'onde ultrasonore dans le milieu de référence ;  
 $t_{sample}$  : temps de vol de l'onde en présence de l'échantillon ;  
 $t_{ref}$  : temps de vol de l'onde dans le milieu de référence ;  
 $\Delta t = t_{ref} - t_{sample}$  ;  
 $l_{sample_i}$  : épaisseur de l'échantillon dans la direction  $x_i$  ;  
 $l_{ref}$  : épaisseur du milieu de référence.

### 2.2.2.1 Mesure des vitesses des ondes de compression

Les essais ont été réalisés sur le banc d'essai ultrasons spécialement développé par le LMA pour des échantillons de petites tailles, et validé par des essais sur os bovin. Le banc d'essai dispose de deux transducteurs fonctionnant en émission-réception (Pinducers, VP1093, fréquence centrale de 5MHz, CTS Valpey Corporation, Hopkinton, MA). L'ensemble est immergé dans une cuve remplie d'eau.

Une première mesure, la mesure de référence, est effectuée sans échantillon entre les deux transducteurs. Le matériau de référence est donc l'eau. Sur un abaque, nous vérifions la célérité d'une onde ultrasonore se propageant dans l'eau en fonction de la température de celle-ci. Les mesures suivantes se font en plaçant l'échantillon entre les deux transducteurs. L'échantillon est maintenu aligné entre les deux transducteurs grâce à un bloc de gélatine (Figure III.3 et III.4). Trois vitesses sont mesurées dans l'échantillon. Elles correspondent aux vitesses de l'onde selon les trois directions de l'échantillon (radiale, tangentielle et axiale) que l'on notera respectivement  $V_{11}$ ,  $V_{22}$  et  $V_{33}$ .

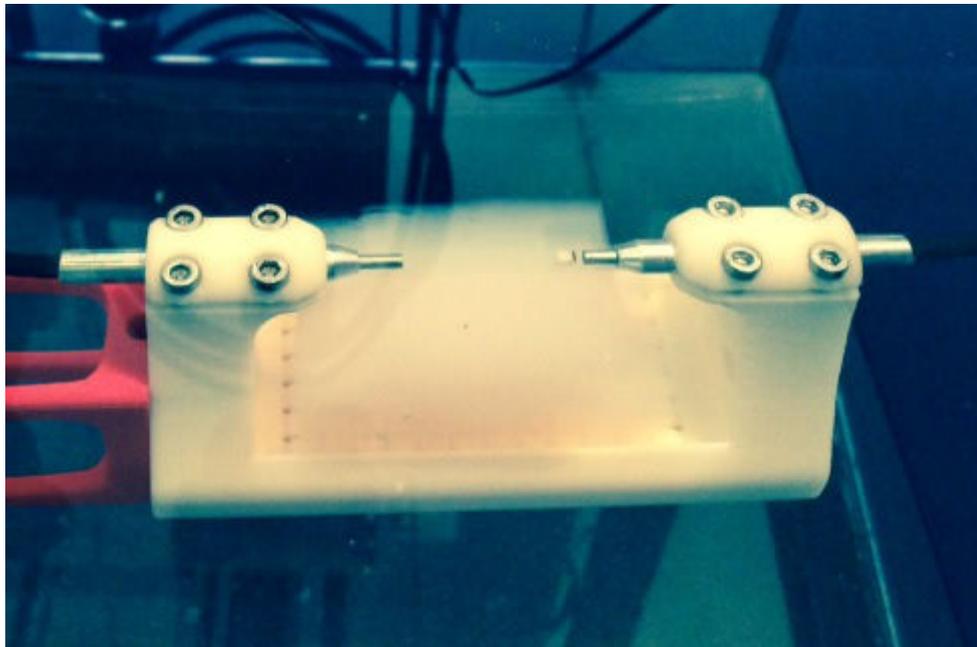


FIGURE III.3 – Photographie du montage des essais US avec pinducers.

### 2.2.2.2 Mesure des vitesses des ondes de cisaillement

Le banc d'essai dispose de deux transducteurs à ondes de cisaillement (Panametrics V156,

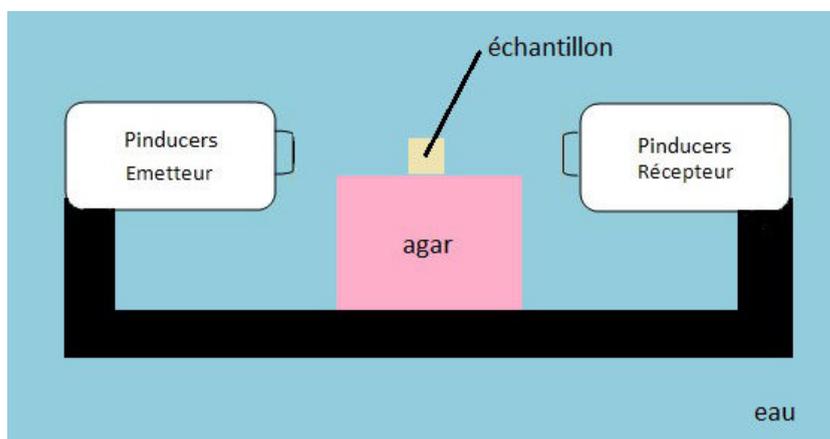


FIGURE III.4 – Schéma du montage des essais US avec pinducers.

5MHz, Inc., Waltham, MA), opérant en émission-réception. Une première mesure de référence est effectuée en plaçant un cube de 5 mm d'aluminium entre les deux transducteurs. De la même façon, nous testons les échantillons osseux en les plaçant en contact entre les deux transducteurs. Pour les deux types de mesure, un couplant a été utilisé pour assurer la transmission des ondes. Six vitesses sont mesurées dans l'échantillon : trois directions de propagation de l'onde et trois directions de propagation des particules (radiale, transverse et axiale). On notera  $V_{ij}$  avec  $i$  la direction de propagation de l'onde et  $j$  la direction de déplacement des particules.

### 2.3 Caractérisation mécanique par essai de compression

Les essais de compression ont été réalisés dans le cadre d'une collaboration avec le Dr Jean-Marc Allain et le Dr Hakim Gharbi au sein du Laboratoire de Mécanique des solides (LMS) de l'Ecole Polytechnique, Université Paris-Saclay.

Pour ces essais, nous avons testé (Figure III.1, page 66) :

- 13 fibulae de 12 patients enfants. Age moyen :  $13 \pm 3$  ans (6-18 ans) ;
- 14 fibulae de 14 patients adultes. Age moyen :  $72 \pm 13$  ans (50-91 ans).

Les tests sont effectués sur des os bruts découpés en cubes de 2 mm de côté (Voir protocole général à la Figure I.16, page 36).

Du fait des faibles dimensions des éprouvettes, le suivi de la déformation a été réalisé par la méthode de mesures de champs par corrélation d'images. Cette méthode permet de mesurer, pour une résolution fixée, le champ de déplacement élastique d'une face éclairée de l'échantillon soumis à une sollicitation mécanique (dans le cas présent, ce sera une compression). Ce champ de déplacement est obtenu en comparant deux images de la face éclairée, celle de l'échantillon non déformé (dite image de référence) et celle de l'échantillon déformé sous la sollicitation mécanique (dite image déformée). La comparaison d'images repose sur l'utilisation de la technique de corrélation, qui exploite une hypothèse de conservation du contraste local des images dans un voisinage des points dont on recherche le déplacement [68].

Préalablement aux essais de compression, la face observée de l'éprouvette doit être recouverte d'un nuage de point appelé mouchetis. Pour notre étude, nous voulons caracté-

riser les propriétés mécaniques dans la direction axiale de l'os, c'est pourquoi le mouchetis sera effectué sur une face perpendiculaire à l'axe longitudinal de l'os et dont les déformations seront mesurées par le système optique. Il est nécessaire d'avoir un fort contraste sur cette surface pour mettre en œuvre, dans de bonnes conditions, la technique de corrélation d'images (Figure III.5).

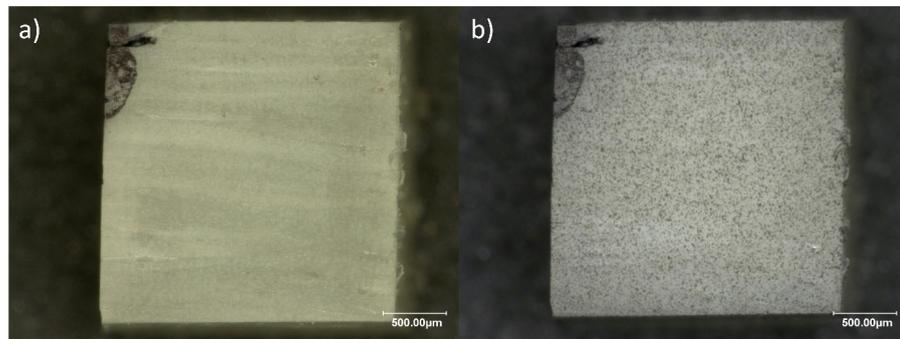


FIGURE III.5 – Préparation de l'échantillon avant compression. a)- Echantillon avant préparation. b)- Echantillon recouvert d'un mouchetis.

L'échantillon préparé est placé dans une presse uniaxiale équipée d'un capteur de charge de 5000 N. La mise en charge de l'échantillon est faite avec une vitesse de déplacement fixée à  $1 \mu\text{m s}^{-1}$ , pour rester dans le cas d'un essai quasi-statique, et correspondant à une vitesse de déformation de l'ordre de  $10^{-5} \text{ s}^{-1}$ .

L'acquisition des images de la face observée de l'échantillon est réalisée avec une caméra CCD équipée d'un objectif de microscope (Edmund Optics) de grandissement  $\times 5$  qui est placée devant l'échantillon (Figure III.6). La caméra utilisée (type Pike - Allied Vision Technologies) est connectée à un ordinateur dans lequel se trouve un logiciel qui fait l'acquisition des images et leur traitement. La taille d'un pixel de l'image est de  $0,6 \times 0,6 \mu\text{m}^2$  et le capteur fait  $2452 \times 2054$  pixels.

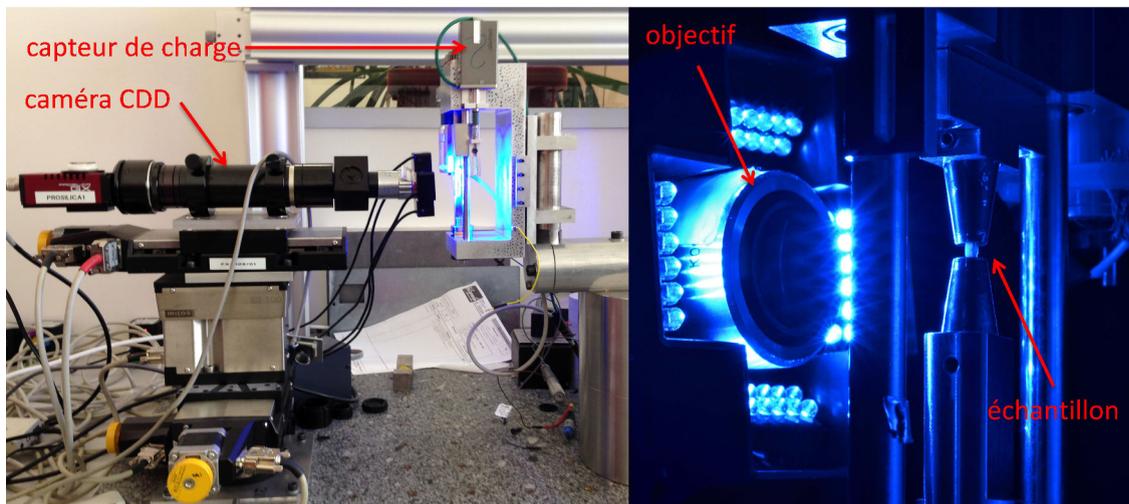


FIGURE III.6 – Photographie du montage de compression.

Le module d'Young ( $E_3$ ) est calculé à partir de la déformation ( $\varepsilon$ ) et de la contrainte ( $\sigma$ ) :

$$E_3 = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

$E_3$  est homogène à une pression. Il sera exprimé en gigapascal (GPa).

## 2.4 Caractérisation mécanique par nanoindentation instrumentée

Les essais de nanoindentation ont été réalisés dans le cadre d'une collaboration avec le Pr Philippe Zysset et le Dr Uwe Wolfram au sein de l'Institut de technologie chirurgicale et de biomécanique à Berne (Suisse).

Pour ces essais, nous avons testé (Figure III.1, page 66) :

- 15 fibulae de 14 patients enfants. Age moyen :  $10 \pm 4$  ans (4-18 ans) ;
- 16 fibulae de 16 patients adultes. Age moyen :  $76 \pm 13$  ans (50-95 ans).

Les tests sont effectués sur des blocs d'os inclus en résine MMA (Voir protocole général à la Figure I.16, page 36).

### 2.4.1 Principe

L'essai d'indentation consiste à faire pénétrer une pointe, appelée indenteur ou pénétrateur, de géométrie et propriétés mécaniques connues, dans un matériau (si possible plan) pour en déduire ses propriétés mécaniques : une mesure effort-déplacement permet de déterminer la dureté et le module élastique d'un matériau.

L'indenteur est constitué d'une pointe fabriquée dans un matériau très dur (diamant) pour limiter la complaisance du système d'indentation. Il s'agit généralement de pointes en diamant dont les propriétés mécaniques sont bien connues (module d'Young :  $E_d = 1141$  GPa et coefficient de Poisson :  $\nu_d = 0,07$ ). Cette pointe, appelée indenteur, est imprimée dans l'échantillon dont les propriétés sont à déterminer. La charge appliquée sur l'indenteur est augmentée jusqu'à ce que la profondeur de pénétration de l'indenteur dans l'échantillon atteigne une valeur prédéfinie. La charge est alors soit maintenue constante, soit supprimée. En micro- et nanoindentation, de faibles charges et de petites tailles d'indents sont utilisées. L'aire résiduelle dont les dimensions ne sont que de quelques micromètres pour la microindentation et de quelques nanomètres pour la nanoindentation est généralement trop petite pour être mesurée de manière fiable. Elle est donc assimilée à l'aire de contact au chargement maximum. L'aire de contact ( $A_c$ ) est déduite de la profondeur de pénétration de l'indenteur à charge maximale. La dureté du matériau est définie comme :

$$H = \frac{P_{max}}{A_c}$$

Avec :

- $H$ , la dureté de contact du matériau (en MPa). C'est un paramètre hybride entre un comportement élastique et plastique ;
- $P_{max}$ , l'effort de chargement maximal (en N) ;
- $A_c$ , l'aire de contact au chargement maximal (en  $\text{mm}^2$ ).

Pendant l'essai d'indentation, la profondeur de pénétration et le chargement sont enregistrés permettant de tracer la courbe effort-déplacement ( $P - h$ ). C'est à partir de cette courbe que sont déterminées les propriétés mécaniques du matériau dont notamment le

module d'Young ( $E$ ) ou le module d'indentation  $E^*$  (aussi appelé module de déformation plan).

$$E^* = \frac{E}{1 - \nu^2}$$

Dans la méthode développée par Oliver and Pharr [102], la courbe  $P - h$  de déchargement est ajustée par une courbe de régression en puissance de la forme :

$$P = \alpha(h - h_f)^m$$

Avec  $\alpha$ ,  $h_f$  et  $m$ , des paramètres d'ajustement. La raideur de contact est définie par la pente de la tangente à cette courbe au chargement maximal ( $S = \frac{dP}{dh}|_{P_{max}}$ ).

La profondeur de contact  $h_c$  est définie à partir de la raideur par la relation suivante :

$$h_c = h_{max} - \epsilon \frac{P_{max}}{S}$$

Avec  $\epsilon$ , coefficient adimensionnel caractéristique de la géométrie de l'indenteur (=0,75 pour un indenteur de type Berkovich). L'aire de contact est déduite de la profondeur de contact. En pratique, les indents n'ayant pas une géométrie parfaite, un étalonnage permet de déterminer une fonction d'aire qui relie la profondeur à l'aire de contact.

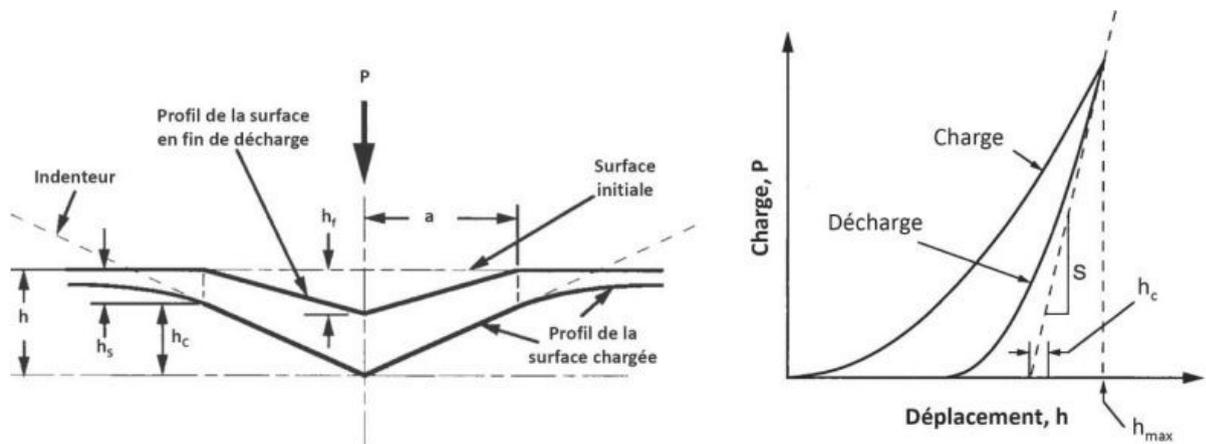


FIGURE III.7 – Principe de l'indentation instrumentée (gauche) et exemple de courbe charge-déplacement (droite), adapté de [102].

L'aire de contact permet d'évaluer le module d'Young réduit  $E_r$  donné par la somme des modules de déformation plane du matériau et de l'indenteur :

$$S = 2\beta \sqrt{\frac{A_c}{\pi}} E_r$$

Avec :

- $S$ , la raideur de contact de l'échantillon, calculée comme étant la pente de la tangente initiale du segment de déchargement sur la courbe charge/profondeur d'indentation ;
- $\beta$ , un coefficient de correction géométrique pour l'indenteur Berkovich ( $\beta = 1,034$ ).

Le module  $E_r$  est relié au module d'Young  $E$  de l'échantillon par la relation de la mécanique des contacts suivante :

$$\frac{1}{E_r} = \frac{1 - \nu_i^2}{E_i} + \frac{1 - \nu^2}{E}$$

Avec :

- $\nu_i$ , le coefficient de Poisson du matériau de l'indenteur ;
- $E_i$ , le module de Young du matériau de l'indenteur ;
- $\nu$ , le coefficient de Poisson du matériau testé ;
- $E$ , le module de Young de l'échantillon testé.

Les travaux élastique, plastique et total sont définis comme :

$$W_{tot} = \int_0^{h_m} P dh, \quad W_{elast} = \int_{h_m}^{h_p} P dh, \quad W_{plast} = W_{tot} - W_{elast}$$

avec  $h_m$  la profondeur maximale et  $h_p$  la profondeur résiduelle.

## 2.4.2 Essais de nanoindentation sur l'os cortical

Nous utilisons pour ces essais une machine de nanoindentation instrumentée Ultra Nano Hardness Tester (UNHT, CSM Instruments, Switzerland) équipée d'un indenteur de type berkovich. Les essais sont effectués selon l'axe longitudinal. Pour chaque échantillon, nous choisissons 10 régions d'intérêt (ROI). Dans chaque ROI, nous effectuons 5 indentations dans l'ostéon et 5 indentations dans l'os interstitiel. La profondeur maximale d'indentation est fixée à 1  $\mu\text{m}$  avec un taux de chargement de 100  $\text{mN min}^{-1}$ , un maintien à la force maximale de 30 s et un taux de déchargement de 400  $\text{mN min}^{-1}$ . Ce paramétrage a été choisi afin de minimiser les effets de fluage sur la mesure [141]. Le module d'indentation  $E^*$ , la dureté  $H$ , le travail élastique  $W_{elast}$  et le travail total  $W_{tot}$  ont été extraits en utilisant des méthodes standards [102, 110, 142].

## 2.5 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS 20.0 (IBM, Amonk, NY, USA), avec un seuil de 5% pour le risque alpha. Un test de Shapiro-Wilk a été utilisé pour évaluer la normalité de chaque distribution. Un test non paramétrique de Mann-Whitney a été utilisé pour détecter des différences significatives entre les variables des os enfants et adultes. Un test non paramétrique de Wilcoxon a été utilisé pour détecter des différences significatives entre les variables des compartiments étudiés (ostéon et interstitiel). Les corrélations ont été identifiées comme significatives ou non via le calcul du coefficient de corrélation de Spearman ( $r'$ ) ou de Pearson ( $R^2$ ).

### 3 Résultats

Tous les tableaux des résultats par échantillons sont situés dans l'annexe B.

#### 3.1 Propriétés mécaniques à l'échelle mésoscopique

##### 3.1.1 Caractérisation ultrasonore

Les moyennes et écart-types des mesures des coefficients de rigidité ( $C_{IJ}$ , en  $\text{g cm}^{-3}$ ) sont répertoriées dans la Table III.1. Les coefficients de rigidité entre les groupes adultes/enfants sont tous significativement différents (Table III.1) ; avec une diminution des coefficients de rigidité de -19%, -19%, -23%, -17%, -22% et -18% (de  $C_{11}$  à  $C_{66}$  respectivement) de l'adulte à l'enfant.

	Enfants (n=21)	Adultes (n=17)	p-values
	1-18 ans (10±6)	50-95 ans (76±13)	
	Moyenne (écart-type)	Moyenne (écart-type)	
$C_{11}$	15,1 (3,2)	17,7 (2,89)	<b>0,007</b>
$C_{22}$	14,8 (3,4)	17,7 (5,27)	<b>0,0233</b>
$C_{33}$	22,4 (5,7)	28,0 (3,71)	<b>0,044</b>
$C_{44}$	3,97 (0,843)	4,77 (0,62)	<b>0,0119</b>
$C_{55}$	3,81 (0,863)	4,64 (0,56)	<b>0,0118</b>
$C_{66}$	3,01 (0,499)	3,60 (0,69)	<b>0,024</b>

TABLE III.1 – Valeurs des coefficients de rigidité. Les p-values pour la comparaison entre les groupes sont obtenus en utilisant le test de Mann-Whitney.

La Figure III.8 présente l'évolution des coefficients de rigidité avec l'âge et la Table III.2 présente les corrélations obtenues entre l'âge et les coefficients de rigidité. Chez l'enfant en croissance, tous les coefficients sont fortement corrélés avec l'âge, alors que chez les adultes, seulement  $C_{33}$  et  $C_{55}$  sont liés à l'âge.

	Enfants		Adultes	
	r'	p-values	r'	p-values
$C_{11}$	0,602	<b>0,005</b>	-0,447	0,084
$C_{22}$	0,761	<b>&lt;0,0001</b>	-0,406	0,120
$C_{33}$	0,703	<b>0,001</b>	-0,634	<b>0,010</b>
$C_{44}$	0,579	<b>0,007</b>	-0,400	0,126
$C_{55}$	0,644	<b>0,002</b>	-0,555	<b>0,028</b>
$C_{66}$	0,639	<b>0,002</b>	-0,412	0,114

TABLE III.2 – Coefficients de corrélation de Spearman ( $r'$ ) obtenus entre les coefficients de rigidité et l'âge chez l'enfant et chez l'adulte.

La Table III.3 regroupe les résultats du test apparié de Wilcoxon pour la comparaison des  $C_{ij}$ . Les résultats pour les adultes et les enfants sont similaires : aucune différence significative n'a été trouvée entre  $C_{11}$  et  $C_{22}$  et entre  $C_{44}$  et  $C_{55}$ . Ceci confirme une isotropie transverse avec  $C_{33} > C_{11} = C_{22} > C_{44} = C_{55} > C_{66}$  pour chacun des groupes. Les résultats montre donc un plan d'isotropie correspondant avec le plan perpendiculaire à l'axe de l'os.

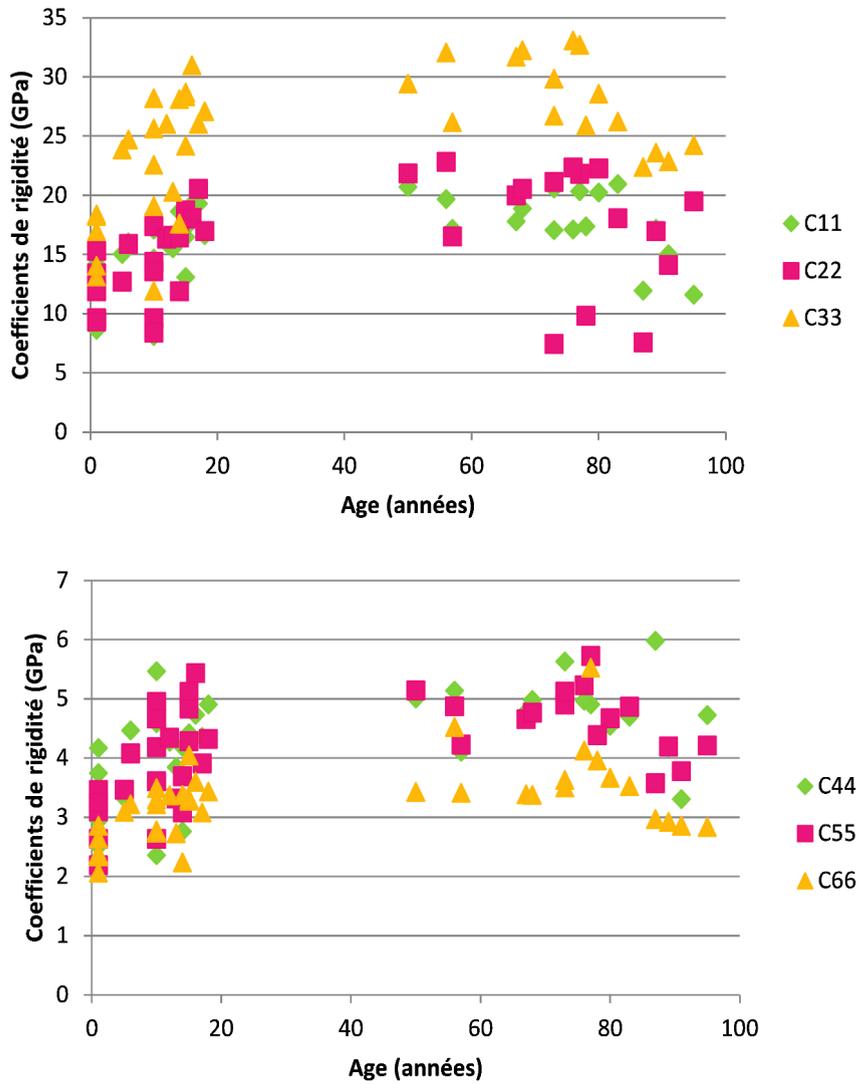


FIGURE III.8 – Evolution des coefficients de rigidité en fonction de l'âge.

p-values	$C_{11}$	$C_{22}$	$C_{33}$	$C_{44}$	$C_{55}$	$C_{66}$
$C_{11}$	1					
$C_{22}$	<b>0,6791</b>	1				
$C_{33}$	0,0004	0,0004	1			
$C_{44}$	0,0004	0,0004	0,0004	1		
$C_{55}$	0,0004	0,0004	0,0004	<b>&gt;0,999</b>	1	
$C_{66}$	0,0004	0,0004	0,0004	0,0006	0,0005	1

TABLE III.3 – Comparaison des  $C_{ij}$  via le test apparié de Wilcoxon chez l'enfant et chez l'adulte.

### 3.1.2 Essais de compression

Sur la Figure III.9, on peut voir les 13 courbes brutes contrainte/déformation obtenues pour la compression des échantillons d'os enfant.

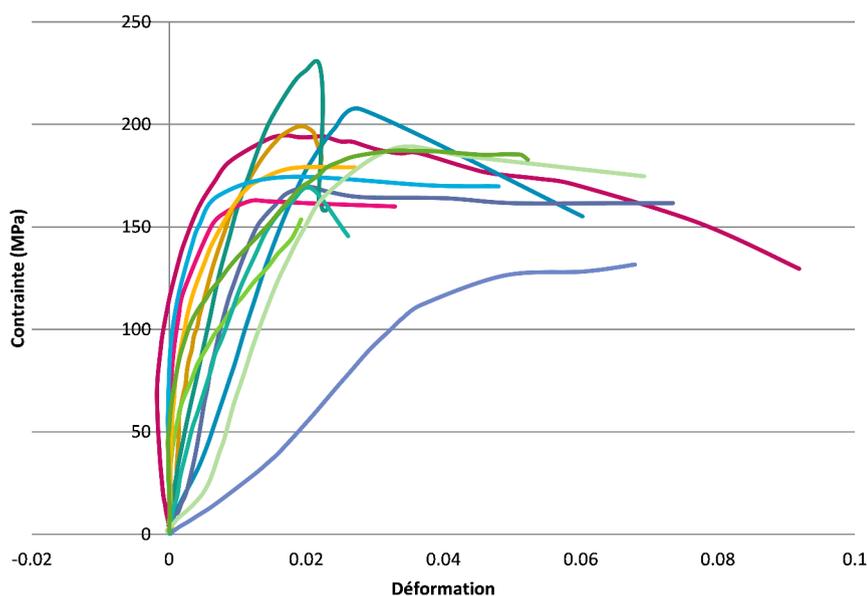


FIGURE III.9 – Courbes contrainte/déformation obtenues pour la compression des échantillons d'os enfant.

Les moyennes et écart-types des paramètres mécaniques obtenus par compression sont répertoriées dans la Table III.4. On observe une différence significative entre les groupes adultes/enfants pour la déformation maximale ( $p=0,0002$ ) et pour la contrainte maximale ( $p=0,029$ ). Pour le module d'Young, il n'y a pas de différence entre les deux groupes.

	Enfants (n=12) 6-18 ans (13±3) Moyenne (écart-type)	Adultes (n=14) 50-91 ans (72±13) Moyenne (écart-type)	p-values
$\varepsilon_{max}$ (%)	3,51 (3,04)	1,15 (0,60)	<b>0,0002</b>
$\sigma_{max}$ (MPa)	207,44 (114,07)	148,21 (37,00)	<b>0,029</b>
$E_3$ (GPa)	12,90 (5,50)	13,44 (4,52)	0,689

TABLE III.4 – Valeurs des paramètres mécaniques obtenus par compression. Les p-values pour la comparaison entre les groupes sont obtenues en utilisant le test de Mann-Whitney.

Aucune corrélation n'a été trouvée avec l'âge lorsque le test statistique est effectué sur les deux groupes séparément. Sur la Figure III.10, on peut voir l'évolution en fonction de l'âge de  $E_3$ ,  $\varepsilon_{max}$  et  $\sigma_{max}$ .

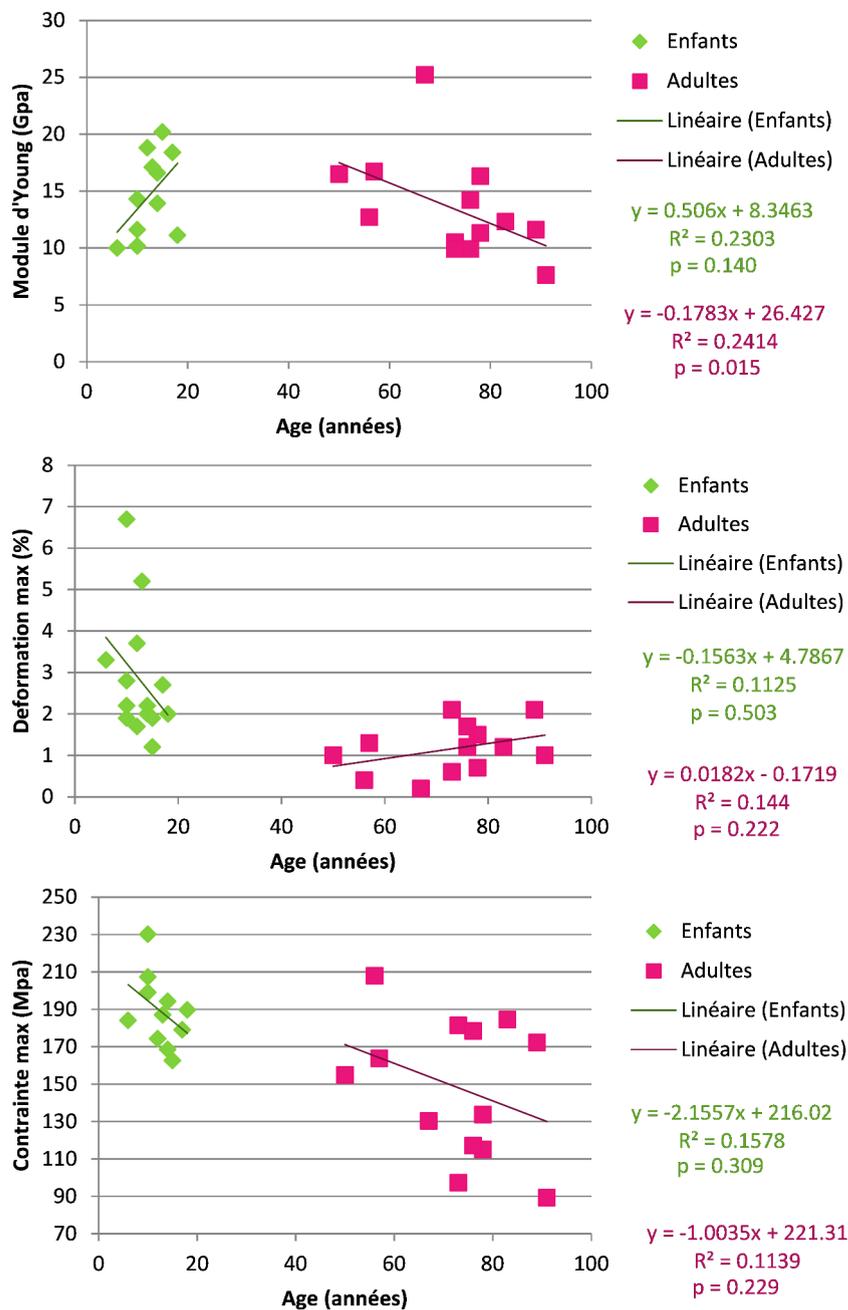


FIGURE III.10 – Evolution en fonction de l'âge de  $E_3$ ,  $\varepsilon_{max}$  et  $\sigma_{max}$  déterminés par essais de compression.

## 3.2 Propriétés mécaniques à l'échelle microscopique

### 3.2.1 Nanoindentation instrumentée

Les moyennes et écart-types des paramètres mécaniques obtenus par nanoindentation sont répertoriés dans la Table III.5. On observe une différence significative du module  $E^*$  entre les groupes adultes/enfants aussi bien dans le tissu ostéonal que dans l'interstitiel.

Pour les autres paramètres mesurés (i.e.  $H$ ,  $W_{plast}$  et  $W_{tot}$ ) on trouve une différence significative entre les deux groupes seulement pour les mesures faites dans le tissu interstitiel. Dans le tissu ostéonal, par rapport aux enfants, les adultes ont un module d'indentation plus élevé ( $E^*$  : +6,8%). Dans le tissu interstitiel, les adultes ont des valeurs plus élevées de module d'Young ( $E^*$  : +14,7%), de dureté ( $H$  : +10,8%), de travail plastique ( $W_{plast}$  : +8,8%) et de travail total ( $W_{tot}$  : +8,5%).

	Enfants (n=14) 4-18 ans (10±4) Moyenne (écart-type)	Adultes (n=16) 50-95 ans (76±13) Moyenne (écart-type)	p-values
<b>OSTEON</b>			
$E^*$ (GPa)	24,4 (1,93)	26,05 (1,86)	<b>0,037</b>
$H$ (MPa)	1039,83 (70,72)	1065,45 (86,03)	0,443
$W_{plast}$ (pJ)	5462,79 (332,55)	5657,22 (389,14)	0,324
$W_{tot}$ (pJ)	7109,75 (416,42)	7308,59 (497,57)	0,369
<b>INTERSTITIEL</b>			
$E^*$ (GPa)	25,8 (1,93)	29,61 (1,07)	< <b>0,0001</b>
$H$ (MPa)	1106,37 (79,20)	1225,94 (72,25)	<b>0,0004</b>
$W_{plast}$ (pJ)	5742,02 (271,83)	6246,73 (237,57)	<b>0,0001</b>
$W_{tot}$ (pJ)	7489,82 (347,44)	8124,64 (320,91)	<b>0,0003</b>

TABLE III.5 – Valeurs des paramètres mécaniques obtenus par nanoindentation. Les p-values pour la comparaison entre les groupes sont obtenues en utilisant le test de Mann-Whitney.

Pour les deux groupes étudiés, les résultats obtenus pour le tissu ostéonal et interstitiel sont significativement différents (enfants :  $0,003 < p < 0,010$ ; adultes :  $p=0,0005$ ). La Figure III.11 montre l'évolution de  $E^*$  et  $H$  en fonction de l'âge dans les deux compartiments étudiés. Chez l'enfant, on voit apparaître une forte corrélation avec l'âge de  $E^*$  ( $r'=0,561$ ,  $p=0,048$ ;  $r'=0,622$ ,  $p=0,026$  pour le tissu ostéonal et interstitiel respectivement) et de  $H$  ( $r'=0,575$ ,  $p=0,042$ ;  $r'=0,630$ ,  $p=0,024$  pour le tissu ostéonal et interstitiel respectivement).

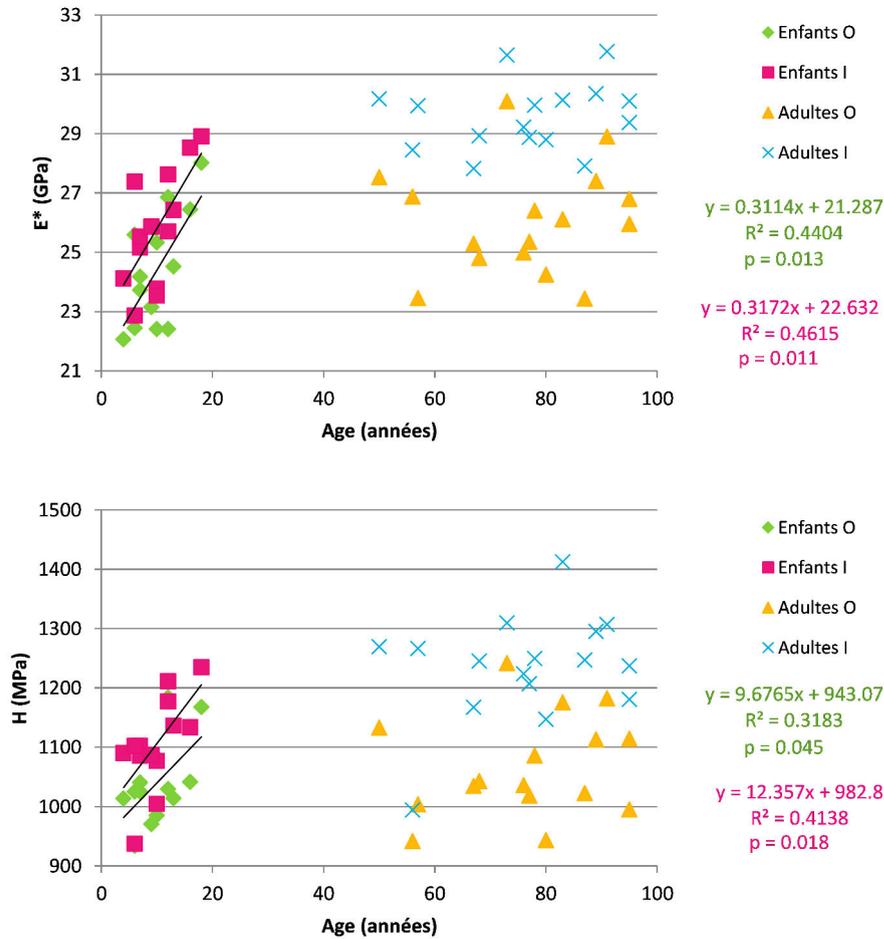


FIGURE III.11 – Evolution de  $E^*$  et  $H$  obtenus par nanoindentation en fonction de l'âge. O : tissu ostéonal ; I : tissu interstitiel.

## 4 Discussion

Dans cette étude, les propriétés mécaniques d'échantillons de tissu osseux d'adultes et d'enfants ont été comparées à différentes échelles, via l'utilisation de différentes techniques : caractérisation ultrasonore, compression et nanoindentation. Au vu de la rareté des spécimens, les échantillons d'os enfant ont été collectés sur des os longs (fibulae et fémurs) sans égard pour le genre. Les échantillons pour le groupe d'adultes contrôles ont été récupérés sur des fibulae avec un ratio homme/femme équilibré.

Les valeurs de propriétés mécaniques de la littérature sont généralement trouvées sur des fémurs ou des tibias ; à notre connaissance, il existe peu de données sur la fibula. Nos résultats contribuent donc à un nouveau lot de données et nous permettent de comparer les valeurs adultes et enfants sur un même site anatomique.

## 4.1 Propriétés mécaniques à l'échelle mésoscopique

### 4.1.1 Caractérisation ultrasonore

La caractérisation ultrasonore a permis de déterminer et de comparer les coefficients de rigidité chez les deux groupes étudiés. La méthode utilisée est basée sur la mesure des vitesses de propagation des ondes de compression et de cisaillement se propageant le long des différentes directions de l'os [13, 50, 61]. Ce procédé a été largement utilisé mais la gamme de fréquence des transducteurs doit être adaptée à la taille et la géométrie de l'échantillon. Dans cette étude, nous utilisons une fréquence de 5MHz pour les transducteurs ce qui permet d'obtenir une longueur d'onde plus grande que la taille typique des hétérogénéités du tissu osseux ( $<$  quelques centaines de microns) et plus petite que les dimensions de l'échantillon. Le choix de cette fréquence a permis de travailler sur des ondes de volume et sans phénomène de multi-diffusion. Le milieu est donc perçu comme étant homogène.

La contrainte la plus importante de cette étude a été la taille des spécimens d'os récupérés, et plus particulièrement la contrainte pour la dimension radiale qui est donnée par l'épaisseur corticale de l'os. Cette contrainte a empêché une découpe à  $45^\circ$  supplémentaire qui aurait permis de récupérer tous les coefficients de la matrice de rigidité [5] et ainsi remonter aux paramètres d'ingénierie classique : modules d'Young  $E_i$ , modules de cisaillement  $G_{ij}$  et coefficients de Poisson  $\nu_{ij}$  selon les trois directions principales de l'os.

Dans la littérature, les coefficients de rigidité longitudinaux ( $C_{11}$ ,  $C_{22}$  et  $C_{33}$ ) déterminés par méthode ultrasonore sur des échantillons adultes (fémurs et tibias) se situent entre 16,8 et 31,7 GPa [5, 16, 50, 73]. Nos résultats pour la fibula adulte se situent entre 17,7 et 28,0 GPa, ce qui est en accord avec la littérature.

Nos résultats montrent une augmentation des coefficients de rigidité avec l'âge jusqu'à la puberté, atteignant ainsi les valeurs adultes (Figure III.8). Le coefficient  $C_{33}$ , qui décrit le comportement élastique en traction-compression dans la direction axiale, montre une régression linéaire positive chez l'enfant ( $R^2=0,44$ ,  $p<0,01$ , Pearson) et négative chez l'adulte âgé ( $R^2=0,36$ ,  $p<0,015$ , Pearson). Cette tendance rappelle celle de l'évolution de la densité minérale osseuse avec l'âge [24, 25]. Une étude *in vivo* de Drozdowska and Pluskiewicz [49] a évalué la vitesse du son (SOS - speed of sound) dans les phalanges de la main, dans une population âgée de 7 à 80 ans. Les auteurs ont conclu que la SOS augmentait linéairement jusqu'à l'âge de 25-30 ans, après quoi les valeurs diminuaient de manière modérée. Ce travail diffère du nôtre par l'approche *in vivo* qui introduit l'effet des tissus mous et de la géométrie de l'os. De plus, cette étude est réalisée sur des phalanges, os qui n'a pas la même sollicitation mécanique que les os des membres inférieurs. Néanmoins, même avec la lacune dans le recouvrement de l'âge de population (enfants de 1-18 et adultes de 50-95), nos résultats présentent une tendance similaire sur les âges étudiés.

En ce qui concerne le comportement anisotrope de l'os cortical, la littérature contient différentes hypothèses. Certains auteurs considèrent l'os cortical comme orthotrope (trois plans de symétrie perpendiculaires, 9 coefficients de rigidité indépendants) [5, 73, 112]. D'autres assument qu'il peut être considéré comme isotrope transverse avec un comportement similaire dans les deux directions transverses mais différent dans la direction axiale (5 coefficients de rigidité indépendants) [112, 146].

Dans notre étude, l'obtention de seulement 6 des 9 coefficients de la matrice de rigidité (les coefficients diagonaux  $C_{ii}$ ) nous permet de trancher entre les deux hypothèses. Les résultats montrent une isotropie transverse pour les deux groupes.

Plusieurs études soulignent le fait que la mesure de la vitesse d'une onde ultrasonore dépend de la localisation anatomique et de l'emplacement circonférentiel [15, 112]. Rudy et al. [118] ont montré que l'anisotropie dépend de l'emplacement de l'échantillon le long de la diaphyse : leurs échantillons révèlent une isotropie transverse le long de la diaphyse et une orthotropie aux extrémités proximale et distale de la diaphyse. Dans notre étude, les échantillons sont extraits au niveau du tiers inférieur de la diaphyse, selon l'appréciation du chirurgien. Il est donc difficile de comparer nos résultats à ceux de Rudy et al. [118].

#### 4.1.2 Essai de compression

La compression a permis de déterminer et de comparer le module d'Young axial  $E_3$ , la déformation max  $\varepsilon_{max}$  et la contrainte max  $\sigma_{max}$  chez les deux groupes étudiés. Cette technique est largement utilisée pour décrire les paramètres mécaniques de l'os [28, 89, 100, 101, 125, 126], y compris en utilisant la méthode de mesures de champs par corrélation d'images [62, 132]. La limitation principale de cette étude est encore une fois la taille de l'échantillon qui impacte l'usinage de l'échantillon. La géométrie et le parallélisme des éprouvettes sont un point crucial de la réussite des essais. Les échantillons qui ne répondaient pas parfaitement aux critères stricts de géométrie ont dû malheureusement être exclus de l'étude.

Pour notre étude, nous avons choisi de découpler les résultats par groupe d'âge, afin de ne pas tenir compte de l'écart d'âge existant entre nos deux populations (enfants : 6-18 ans ; adultes : 50-95 ans). En effet, si l'on observe l'évolution du module d'Young axiale ( $E_3$ ) en fonction de l'âge (Figure III.10), le module d'Young augmente pendant la croissance, puis diminue chez les sujets âgés. Ces tendances expliquent le fait que nous ne retrouvons pas de différence statistique entre le module d'Young d'un os en croissance et celui d'un os adulte, et sont comparables à celles trouvées pour l'évolution du coefficient  $C_{33}$  avec l'âge. Ce résultat est contradictoire avec celui de l'étude de Ohman et al. [100] qui montre une différence significative pour le module d'Young entre ses deux groupes d'âge (Enfant/Adultes). Cependant, les échantillons du groupe adulte de ces auteurs sont extraits d'une population plus jeune que celle de notre étude (tranche d'âge : 22-61 ans contre 50-91 ans pour notre étude). Si l'on suit l'hypothèse que le module d'Young augmente avec l'âge, atteint un pic puis diminue, ceci pourrait expliquer l'obtention de modules d'Young plus élevés dans l'étude de Ohman et al. [100].

On observe une différence fortement significative entre les groupes adultes/enfants pour la déformation maximale ( $p=0,0002$ ) avec une valeur moyenne de  $\varepsilon_{max}$  deux fois plus élevée chez l'enfant que chez l'adulte. Ce paramètre décroît avec l'âge (Figure III.10). Ceci tend à faire penser que plus l'os vieillit, moins il est apte à se déformer, ce qui reflète bien ce que l'on observe cliniquement. De même, la contrainte maximale à rupture est bien supérieure (et significativement différente) chez l'enfant à celle obtenue dans le groupe adulte, ce qui conforte le fait que la résistance osseuse diminue avec l'âge. Ce caractère déformable de l'os en croissance pourrait expliquer les fractures partielles spécifiques des os longs chez l'enfant (Partie I.4.3.1, page 31).

## 4.2 Propriétés mécaniques à l'échelle microscopique

### 4.2.1 Nanoindentation

La nanoindentation a été utilisée dans plusieurs études pour déterminer les propriétés mécaniques de l'os cortical à l'échelle de l'ostéon [65, 115, 151]. Chez l'adulte, cette technique a déjà permis de comparer les propriétés mécaniques dans les compartiments

ostéonal et interstitiel. Chez l'enfant, elle a permis de comparer les propriétés mécaniques du tissu osseux de patients souffrant d'ostéogénèse imparfaite à celui de patients contrôles [2, 52, 75], sans distinction entre le tissu ostéonal et interstitiel. Dans cette étude, nous avons proposé de déterminer et de comparer les propriétés mécaniques à l'échelle du tissu dans les compartiments ostéonal et interstitiel chez l'adulte et l'enfant.

Dans notre étude, les essais ont été effectués sur des échantillons osseux inclus dans résine à base de MMA. Dans un article, Rodriguez Florez et al. [116] ont comparé les résultats de nanoindentation suivant différents protocoles de préparation de l'échantillon (enrobage et inclusion). Ils ont montré que les valeurs de  $E^*$  et les valeurs de viscosité du modèle étaient similaires pour des échantillons enrobés ou inclus. Cependant, la dureté était plus élevée pour les échantillons inclus dans le PMMA. Ceci semble provenir de l'infiltration de la résine dans les pores. Dans notre étude, les échantillons des deux groupes ont subi le même protocole de préparation. Cette préparation n'empêchera donc pas la comparaison entre les groupes.

Nos résultats montrent des propriétés mécaniques très différentes entre les deux groupes pour le tissu interstitiel. celles-ci sont, à l'exception de  $E^*$ , relativement similaires dans l'ostéon. De plus, nous observons que la comparaison entre les deux compartiments (ostéonal et interstitiel) montre une différence plus significative chez l'adulte ( $p < 0,0005$ ) que chez l'enfant ( $p < 0,010$ ).

Plusieurs types de tissus peuvent être retrouvés dans l'os cortical : les ostéons, l'os interstitiel et l'os primaire. L'ostéon provient du résultat d'un cycle de remodelage, c'est donc par définition de « l'os jeune ». Entre ces structures ostéonales se trouve du tissu interstitiel composé de vestiges d'anciens ostéons laissés par le remodelage secondaire, ainsi que de l'os primaire qui n'a pas encore été renouvelé. Le tissu interstitiel est donc considéré comme de « l'os ancien » alors que l'os primaire est plutôt de « l'os jeune ». De plus, nous savons que « l'os jeune » a un module d'Young plus faible que « l'os ancien » ( $E_{ostéon} < E_{interstitiel}$ ) [115, 151], ce qui laisse penser que  $E_{os\ primaire} < E_{interstitiel}$ .

Lors des mesures par nanoindentation, la distinction entre os primaire et os interstitiel n'a pas pu être faite. En effet, il n'y a pas de différence visible à cette échelle qui permettrait de trancher entre os interstitiel et os primaire. Par la nature et la définition même de l'os primaire, nous pouvons supposer que le pourcentage d'os primaire est plus important chez l'enfant, et qu'il diminue avec l'âge pour devenir quasiment inexistant chez l'adulte. En tenant compte de ces considérations, il est difficile de comparer les mesures faites supposément dans "l'os interstitiel" entre les deux groupes. La question est donc savoir si il est toujours pertinent de maintenir le terme de "tissu interstitiel" pour les mesures chez l'enfant.

### 4.3 Limites et perspectives de l'étude

Cette étude a été menée sur deux groupes d'échantillons : un groupe "enfant" âgé de 1 à 18 ans et un groupe "adulte" âgé de 50 à 95 ans, ces tranches d'âge pouvant varier selon les essais. Compte tenu de certains résultats, notamment l'évolution de  $C_{33}$  avec l'âge, il aurait été intéressant d'avoir également un groupe "adulte jeune" avec une population âgée de 20 à 45 ans. De même, si le groupe "enfant" avait contenu un plus grand nombre d'échantillons, nous aurions pu faire plusieurs sous-groupes d'âge afin d'étudier par stade l'évolution des propriétés mécaniques de l'os cortical.

Le facteur le plus limitant pour la réalisation de cette étude a été la taille des échan-

tillons. En effet, celle-ci impactait l'usinage des éprouvettes pour la compression et la caractérisation ultrasonore. En tenant compte de l'échelle des échantillons (quelques millimètres) et des outils de découpe à notre disposition (scie diamantée), le moindre défaut de découpe a eu un fort impact sur la géométrie finale désirée de l'éprouvette.

Ces contraintes ont également empêché l'évaluation de certains paramètres d'ingénierie classique ( $E$ ,  $G$  et  $\nu$ ) lors de la caractérisation ultrasonore. Néanmoins, une alternative existe via l'utilisation de la spectroscopie de résonance ultrasonore (ou RUS - *Resonant Ultrasound Spectroscopy*), qui permettrait, sous réserve d'une découpe des échantillons particulièrement rigoureuse, mais de géométrie uniquement parallélépipédique, d'acquérir tous les coefficients de la matrice de rigidité et donc d'obtenir  $E$ ,  $G$  et  $\nu$ , et ceci dans les trois directions privilégiées de l'os. Ceci est actuellement en cours de développement dans le Laboratoire d'Imagerie Biomédicale (UPMC, Paris 6).

Lors des essais de nanoindentation, il est apparu que la distinction entre l'os interstitiel et l'os primaire ne pouvait être faite. Une étude histomorphométrique effectuée au préalable et utilisant un microscope polarisé permettrait de différencier les deux tissus grâce à leur structure : structure tissé pour l'os primaire et structure lamellaire pour le tissu interstitiel. Il serait également envisageable de quantifier la densité d'os primaire dans chaque échantillon et ainsi d'observer son évolution avec l'âge.

## 5 Résumé du chapitre III

A l'échelle mésoscopique, la compression dans la direction axiale a mis en avant une déformation maximale et une contrainte maximale plus importante chez l'enfant que chez l'adulte âgé, ceci sans différence significative dans les valeurs de module d'Young.

Cette différence d'élasticité se retrouve dans les trois directions principales de l'os puisque la caractérisation mécanique via l'utilisation des ultrasons a montré des coefficients de rigidité diagonaux ( $C_{ii}$ ) plus faibles sur les échantillons d'os pédiatrique. Malgré, les différences de propriétés mécaniques entre l'os en croissance et l'os mature, l'os cortical montre une isotropie transverse dans les deux groupes étudiés avec  $C_{11} = C_{22}$ ,  $C_{44} = C_{55}$ ,  $C_{axial} > C_{transverse}$  et plan 1-2 = plan d'isotropie.

A l'échelle microscopique, nous observons un comportement mécanique similaire entre l'adulte et l'enfant dans le compartiment ostéonal, avec toutefois un module d'indentation  $E^*$  plus faible chez l'enfant. En revanche, dans le compartiment interstitiel, le comportement mécanique entre l'adulte et l'enfant est très différent avec des valeurs d'élasticité, de dureté et de travail plus important chez l'adulte. Chez l'enfant, les différences de propriétés entre les compartiments ostéonal et interstitiel sont moins évidentes. Ces observations peuvent s'expliquer par la présence d'os primaire "jeune" dans le compartiment interstitiel de l'os pédiatrique.