

Effet de la composition du tissu osseux et de son organisation sur le comportement mécanique de l'os cortical

1 Introduction

L'os cortical est un tissu complexe et multi-échelles dont la fonction principale est de résister aux contraintes mécaniques. La résistance osseuse dépend non seulement de la quantité de tissu osseux, mais aussi de sa qualité, et est caractérisée par la géométrie des os, la micro-architecture, le minéral, et le collagène.

Pendant la croissance, le tissu osseux se développe et ses propriétés mécaniques évoluent. Cependant, peu d'études ont été menées pour expliquer le comportement mécanique de l'os en croissance chez l'humain, en particulier sur l'os cortical [19, 20, 41]. Plusieurs études ont utilisé du tissu osseux animal pour étudier les changements dans le comportement mécanique pendant la croissance [57]. Dans ces études il a été constaté que la résistance, la rigidité et la densité du tissu osseux augmentaient avec l'âge. Bien que les modèles animaux peuvent être une bonne alternative pour comprendre les mécanismes et les tendances pendant la croissance, du tissu osseux humain est nécessaire pour enquêter sur les différences réelles entre les os adultes et enfants.

Plusieurs études sur l'os mature ont été menées pour expliquer le comportement mécanique de l'os. Ainsi, il a été démontré que le contenu minéral avait un rôle dans les propriétés élastiques du tissu osseux (résistance et rigidité) [22, 27, 37, 56, 148], alors que le collagène et les molécules de pontage semblent être liés au comportement plastique (ductilité et plasticité) [40, 133, 135, 138, 149].

Dans ce chapitre, nous proposons de faire le parallèle entre la composition étudiée au Chapitre II et le comportement étudié au Chapitre III.

2 Effet de la microarchitecture du réseau de pores sur l'élasticité du tissu osseux cortical à l'échelle mésoscopique

2.1 Introduction

La porosité intracorticale provient majoritairement des canaux de Havers et des canaux de Volkmann. Elle est un déterminant majeur de la résistance osseuse [91, 93, 121] et du risque de fracture [7, 11]. Aujourd'hui, elle est évaluée uniquement comme une fraction volumique de pores (pourcentage de vide).

Néanmoins, les canaux de Havers et les canaux de Volkmann forment un réseau tridimensionnel de canaux interconnectés [31, 34]. Pendant le remodelage osseux, la morphologie des canaux change et induit un changement architectural du réseau de pores. Ceci implique que, pour une porosité donnée, la façon dont le vide est organisé dans le volume osseux peut être différente (Figure II.8).

Dans ce travail, nous avons supposé que la microarchitecture du réseau poreux (taille des pores, distribution spatiale,...) de l'os cortical influence sa rigidité pendant la croissance.

Dans cette partie, nous proposons donc de mettre en lien l'étude sur l'architecture du réseau poreux faite par microtomographie (Chapitre II) avec l'étude de l'élasticité et de l'anisotropie de l'os cortical faite par essai ultrasonore (Chapitre III). Cette partie contient donc les résultats des échantillons qui ont été analysés par ces deux études, donc les résultats sur les fibulas de 13 enfants (âge moyen : 13 ± 4 ans) et 16 adultes (âge moyen : 75 ± 13 ans).

2.2 Résultats

Malgré les différences trouvées dans l'architecture du réseau poreux entre les enfants et les adultes, l'os cortical présente une isotropie transverse dans les deux groupes étudiés avec $C_{33} > C_{11} = C_{22} > C_{44} = C_{55} > C_{66}$. Cependant, par rapport aux enfants, tous les coefficients de rigidité sont plus élevés chez l'adulte (+ 11%, + 17% et + 22% pour les C_{11} , C_{22} et C_{33} , respectivement, et + 17%, + 23% et + 20% pour les C_{44} , C_{55} et C_{66} , respectivement)(Table IV.1).

	Enfants (n=13) 6-18 ans (13 ± 4) Moyenne (écart-type)	Adultes (n=16) 50-95 ans (75 ± 13) Moyenne (écart-type)	p-values
C_{11}	16,1 (2,5)	17,7 (3,6)	0,021
C_{22}	15,3 (2,5)	17,7 (6,1)	0,045
C_{33}	23,6 (4,4)	28,0 (5,1)	0,011
C_{44}	4,1 (0,8)	4,8 (0,6)	0,017
C_{55}	4,0 (0,9)	4,9 (1,1)	0,019
C_{66}	3,0 (0,4)	3,6 (1,0)	0,017

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

La Table IV.2 rapporte les coefficients de corrélation obtenus entre les coefficients de rigidité et les variables décrivant l'architecture du réseau poreux.

Chez les enfants, les coefficients de rigidité en traction-compression (C_{11} , C_{22} et C_{33}) sont corrélés négativement avec Po.V / TV ($-0,80 < r' < -0,52$) et Po.N ($-0,82 < r' < -0,72$)

et positivement avec Po.Sp ($0,48 < r' < 0,62$). Le coefficient élastique C_{33} est également corrélé avec Po.S/ Po.V ($r' = 0,70$).

Chez les adultes, les coefficients de rigidité en traction-compression (C_{11} , C_{22} et C_{33}) sont corrélés négativement avec Po.V / TV ($-0,71 < r' < -0,63$). Les coefficients élastiques C_{11} et C_{22} sont également corrélés avec Po.S/ Po.V ($r' = 0,69$ et $r' = 0,66$), Po.Dm ($r' = -0,67$ et $r' = -0,61$) et Po.Dm.SD ($r' = -0,70$ et $r' = -0,63$). Le coefficient élastique C_{33} est corrélé négativement avec Po.N ($r' = -0,59$) et positivement avec Po.Sp ($r' = 0,71$) et Po.Sp.SD ($r' = 0,72$).

	Coefficients élastiques					
	C_{11}		C_{22}		C_{33}	
	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes
Po.V / TV (%)	-0,52*	-0,64*	-0,52*	-0,71**	-0,80***	-0,63*
Po.S / Po.V (mm^{-1})	0,40	0,69*	0,41	0,66*	0,70*	0,38
Po.N (mm^{-1})	-0,80***	-0,21	-0,72**	-0,36	-0,82***	-0,59*
Po.Dm (μm)	-0,23	-0,67*	-0,17	-0,61*	-0,46	-0,30
Po.Dm.SD (μm)	-0,35	-0,70*	-0,11	-0,63*	-0,10	-0,41
Po.Sp (μm)	0,62*	0,32	0,51*	0,50*	0,48*	0,71**
Po.Sp.SD (μm)	0,35	0,24	0,28	0,54*	0,07	0,72**
ConnD (mm^{-3})	-0,05	-0,31	-0,38	-0,59*	-0,39	-0,17
DA	0,14	0,68*	0,30	0,63*	0,42	0,24
	C_{44}		C_{55}		C_{66}	
	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes
	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes
Po.V / TV (%)	-0,52*	-0,72**	-0,56*	-0,08	-0,65*	-0,13
Po.S / Po.V (mm^{-1})	0,52*	0,56*	0,50	0,01	0,64*	0,08
Po.N (mm^{-1})	-0,44	-0,67*	-0,60*	-0,25	-0,61*	-0,12
Po.Dm (μm)	-0,44	-0,64*	-0,30	-0,15	-0,56*	-0,13
Po.Dm.SD (μm)	-0,16	-0,72**	-0,02	-0,13	-0,48*	-0,16
Po.Sp (μm)	-0,05	0,70**	0,09	0,14	0,22	0,24
Po.Sp.SD (μm)	-0,44*	0,76**	-0,32	0,15	0,03	0,41
ConnD (mm^{-3})	-0,06	-0,20	-0,22	0,37	-0,13	-0,07
DA	0,56*	0,31	0,62*	-0,09	0,39	0,06

TABLE IV.2 – Coefficients de corrélation de Spearman (r') obtenus entre les différentes variables décrivant l'architecture du réseau poreux et les coefficients de rigidité (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$).

2.3 Discussion

Chez l'adulte, il est bien décrit que l'augmentation de la porosité avec l'âge est préjudiciable pour la résistance osseuse [7, 61, 93]. A l'échelle tissulaire, les variations de porosité corticale expliquent 62 à 98% de la variation des coefficients élastiques en tension-compression et en cisaillement [61, 107]. A l'échelle macroscopique, les variations de porosité explique la majorité des propriétés mécaniques des os longs [145]. Cependant, dans ces études, la porosité a été seulement considérée comme une fraction volumique de vide. Aucune information sur le rôle de la microarchitecture du réseau de pores sur le comportement mécanique de l'os n'est fournie.

Dans notre étude, les résultats montrent que les propriétés élastiques sont influencées

par la microarchitecture du réseau de pores indépendamment de l'évolution globale de la fraction volumique de pores. Les changements dans la séparation des pores et sa distribution ont été corrélés avec l'élasticité axiale en traction-compression. Ce résultat suggère que, pour une porosité donnée, la façon dont le vide est agencé dans le volume osseux affecte de manière significative l'élasticité de l'os.

Chez l'adulte, la séparation entre les pores influe majoritairement sur l'élasticité axiale (C_{33}), alors que l'élasticité transverse (C_{11} et C_{22}) est liée aux diamètres des pores. L'architecture du réseau poreux a donc une influence sur les propriétés d'anisotropie du tissu osseux. Dans une étude, Fan et al. [52] ont effectué des essais de nanoindentation sur du tissu osseux cortical. Ils ont mis en évidence des propriétés mécaniques différentes dans les directions axiale et transverse. Ceci implique que l'isotropie transverse du tissu osseux cortical chez l'adulte serait due à la fois aux propriétés du matériau osseux mais également à l'organisation du réseau de pores de l'os.

Chez l'enfant, la séparation entre les pores impacte l'élasticité de manière équivalente dans les trois directions de l'os et le diamètre des pores n'a montré aucun lien avec l'élasticité. Ces résultats montrent que le réseau poreux influence de manière isotrope les propriétés élastiques du tissu osseux. Les résultats du Chapitre III montrent néanmoins une isotropie transverse chez l'enfant. L'explication de ce comportement chez l'enfant serait donc due uniquement aux propriétés matériaux du tissu osseux.

3 Effet du contenu minéral et collagénique sur l'élasticité du tissu osseux cortical à l'échelle mésoscopique

3.1 Introduction

L'os est un matériau viscoélastique fortement anisotrope qui a la capacité de s'adapter en permanence aux changements de son environnement physiologique ou mécanique. La capacité de l'os à résister aux forces mécaniques dépend non seulement de la quantité de tissu osseux (géométrie de l'os), mais également de la qualité de ce tissu. La matrice osseuse est un système à deux phases dans lequel la phase minérale affecte la rigidité [22, 27, 37, 56, 148] alors que la phase organique (fibres de collagène) assure la ductilité et la capacité à absorber de l'énergie [40, 133, 135, 138, 149]. Des altérations dans les propriétés du collagène peuvent donc affecter les propriétés mécaniques de l'os et augmenter la susceptibilité à la fracture.

En orthopédie pédiatrique, on retrouve plusieurs types de fractures typiquement pédiatriques, comme la fracture en bois-vert (greenstick fracture). Celle-ci a permis de mettre en avant une différence de comportement mécanique entre les os longs de l'enfant et de l'adulte. Cependant, peu d'études ont été menées pour expliquer cette différence de comportement [19, 20, 41].

Dans cette partie, nous proposons de mettre en lien l'étude sur la composition du tissu osseux cortical faite par microtomographe et analyse biochimique (Chapitre II) avec l'évaluation des propriétés mécaniques de l'os cortical faite par essai ultrasonore (Chapitre III). Cette partie contient les résultats des échantillons qui ont été analysés par ces trois études, donc les résultats des essais effectués sur les fémurs et fibulae de 21 enfants (âge moyen : 10 ± 6 ans) et les fibulas de 16 adultes (âge moyen : 75 ± 13 ans).

3.2 Résultats

La Table IV.3 rapporte les coefficients de corrélation obtenus entre les coefficients de rigidité et les variables décrivant la composition du tissu osseux telles que la quantité de molécules de pontage immatures (DHLNL+HLNL) et matures (PYD+DPD), le ratio immatures/ matures (Imm/Mat) (Figure I.7, page 9), la densité minérale du tissu osseux (TMD) et sa distribution (TMD.SD).

Chez l'enfant, les résultats montrent une forte corrélation entre le ratio immatures/matures (Imm/Mat) et les coefficients de rigidité avec un r' compris entre $-0,662^*$ et $-0,788^{***}$. Cette relation est fortement liée à la décroissance de la quantité de molécules de pontage immatures ($-0,716^{***} < r' < -0,471^*$) et plus faiblement à la croissance de la quantité de molécules de pontage matures ($0,451^* < r' < 0,535^*$). On trouve également que la TMD est corrélée positivement avec cinq des six coefficients de rigidité avec un r' compris entre $-0,518^*$ et $-0,779^{**}$.

Chez l'adulte, le seul lien entre la composition chimique du collagène et la rigidité provient de la relation entre C_{11} et la quantité de molécules de pontage matures ($r' = 0,632^*$). Par contre, la TMD est fortement corrélée avec les coefficients élastiques de traction-compression ($r' = 0,559^*$, $r' = 0,668$ et $r' = 0,718^*$ pour C_{11} , C_{22} et C_{33} respectivement).

	Coefficients élastiques					
	C_{11}		C_{22}		C_{33}	
	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes
DHLNL+HLNL	$-0,631^*$	0,200	$-0,471^*$	0,085	$-0,657^*$	0,382
PYD+DPD	0,188	0,632*	0,535*	0,118	0,451*	0,309
Imm/Mat	$-0,694^{**}$	-0,006	$-0,662^*$	-0,141	$-0,788^{***}$	0,165
TMD	0,518*	0,559*	0,779**	0,668*	0,732*	0,718*
TMD.SD	0,379	-0,188	-0,061	-0,415	-0,018	-0,347
	C_{44}		C_{55}		C_{66}	
	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes
	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes	Enfants	Adultes
DHLNL+HLNL	$-0,625^*$	0,291	$-0,627^*$	0,329	$-0,716^{***}$	0,165
PYD+DPD	0,460*	0,312	0,470*	0,485	0,251	0,524
Imm/Mat	$-0,783^{***}$	0,035	$-0,762^{***}$	0,132	$-0,734^{**}$	-0,121
TMD	0,714*	0,215	0,707*	0,544*	0,496	0,159
TMD.SD	-0,168	-0,215	0,032	-0,153	0,132	-0,079

TABLE IV.3 – Coefficients de corrélation de Spearman (r') obtenus entre les différentes variables décrivant la composition tissulaire et les coefficients de rigidité (* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$).

La Figure IV.1 montre l'évolution du coefficient de rigidité en traction-compression de la direction axiale (C_{33}) en fonction de Imm/Mat, avec une forte relation linéaire entre les deux paramètres chez l'enfant ($R^2 = 0,62$, Pearson), mais pas de relation chez l'adulte.

La Figure IV.2 montre l'évolution du coefficient de rigidité en traction-compression de la direction axiale (C_{33}) en fonction du TMD.

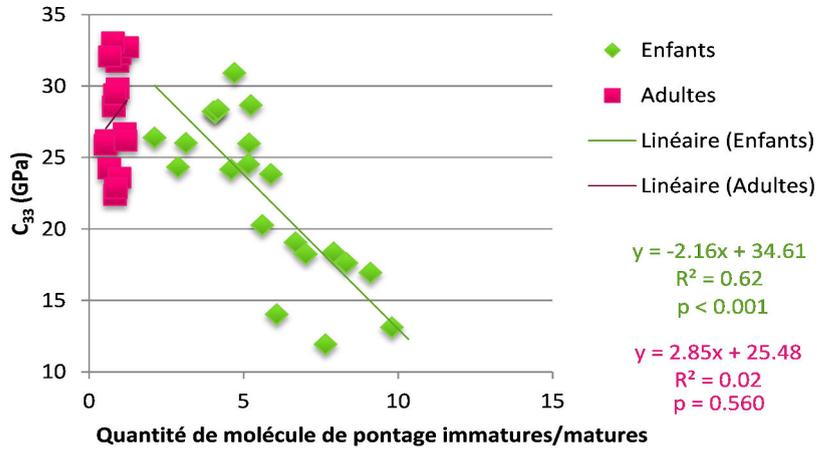


FIGURE IV.1 – Evolution du coefficient de rigidité axial en traction-compression en fonction du ratio entre la quantité de molécules de pontage immatures/matures.

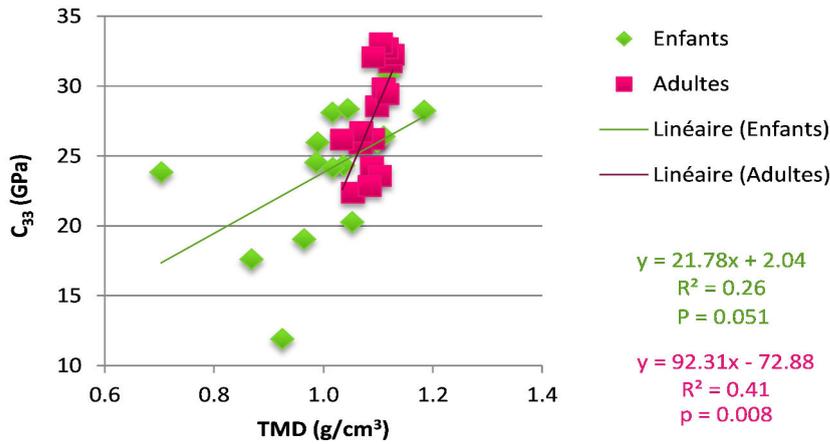


FIGURE IV.2 – Evolution du coefficient de rigidité axial en traction-compression en fonction de la TMD.

3.3 Discussion

Plusieurs études montrent que la résistance osseuse est principalement déterminée par la masse de tissu et la rigidité, qui est déterminée par la phase minérale [38, 39, 41], tandis que la matrice de collagène contribue essentiellement à la dureté de l'os [149] et à sa ductilité [40, 133, 135, 138, 149].

Avec l'âge, les propriétés de la matière minérale et du collagène évoluent ce qui modifie les propriétés du tissu osseux. Notre étude a montré que la minéralisation avait un impact sur la rigidité en traction-compression (C_{11} , C_{22} et C_{33}) de l'os cortical tout au long de la vie. Contrairement à des études qui ont montré que le collagène contribue à la dureté de l'os mais pas à sa rigidité [40, 138], nos résultats montrent que, dans notre groupe enfant, l'organisation des pontages entre les fibrilles de collagène (immatures ou matures) intervient

également sur la rigidité du tissu osseux et en particulier sur ses propriétés de cisaillement. La maturation de ces pontages (Imm/Mat) serait donc un facteur de la rigidification de la structure osseuse pendant la croissance.

L'os est un matériau composite : c'est l'intégration de la phase minérale sur la fibrille de collagène qui lui confère sa rigidité. Les changements dans les propriétés du collagène peuvent modifier le taux et la disposition du minéral dans les fibrilles. Ceci affecte en soi les propriétés mécaniques de l'os [40]. La qualité osseuse est donc déterminée par le minéral et le collagène, qui sont des variables interdépendantes. L'analyse du rôle spécifique de chacune de ses variables dans la solidité des os reste difficile tant les éléments sont interdépendants.

La résistance osseuse est expliquée, non seulement par l'interaction entre la phase minérale et le collagène, mais aussi par l'orientation des fibres de collagène selon la direction de la charge. Par exemple, le fémur est capable de résister à une charge de compression axiale significative sans aucun dommage important. En revanche, la même charge appliquée transversalement peut provoquer des fractures. Ainsi, la résistance de l'os est plus élevée dans la direction de l'orientation des ostéons qui correspond à la direction de la charge physiologique de l'os cortical. La différence dans l'orientation des fibrilles a probablement un rôle dans les propriétés mécaniques de l'os cortical [91].

En conclusion, notre étude montre une interaction conjointe du minéral et du collagène dans la rigidification de l'os en croissance. Cette interaction limite l'analyse de la contribution individuelle du collagène et du minéral. Ces interrelations complexes sont un défi pour enquêter sur le rôle indépendant des propriétés du collagène et du minéral comme un déterminant de la solidité des os pendant la croissance.

4 Effet des propriétés physico-chimiques sur les propriétés mécaniques du tissu osseux à l'échelle microscopique

4.1 Introduction

L'os est un matériau composite multi-échelles composé d'une matrice organique (réseau organisé de fibrilles de collagène de type I) remplie d'un composant minéral (cristaux d'apatite liés aux fibrilles de collagène) [113]. A l'échelle microscopique dans l'os cortical, le remodelage conduit à la formation d'ostéons [35]. Les ostéons sont composés de 5 à 30 lamelles concentriques avec différentes orientations de fibrilles de collagène. Ces lamelles sont disposées autour de canaux de Havers [113]. Les ostéons sont orientés le long de la diaphyse des os longs, et séparés par un tissu osseux interstitiel qui est composé d'anciens ostéons en partie remodelés.

Peu d'études portent sur le rôle des composants organiques et minéraux dans les propriétés mécaniques de l'os à l'échelle du tissu. L'étude de Bala et al. [8] a mis en évidence l'effet du minéral et du collagène sur les propriétés micromécaniques du tissu osseux cortical. Cette étude a été réalisée sur des échantillons d'os iliaque de 5 patientes ménopausées et ostéoporotiques. Les résultats confirment que la phase minérale affecte la déformation élastique de l'os cortical, alors que le collagène intervient dans ses propriétés plastiques [22, 40, 133, 135, 138, 149].

A notre connaissance, aucune étude de ce type n'a encore été effectuée pour comprendre le rôle des composants organiques et minéraux dans les propriétés mécaniques de l'os à l'échelle du tissu pendant la croissance. Dans cette partie, nous proposons donc de mettre en lien la composition du tissu osseux cortical analysée par FTIRM et microradiographie (Chapitre II) avec l'évaluation des propriétés mécaniques de l'os cortical faite par nanoindentation instrumentée (Chapitre III). Cette partie contient donc les résultats des échantillons qui ont été analysés par ces trois études, donc les résultats des essais effectués sur les fibulae de 13 enfants (âge moyen : 10 ± 4 ans) et 16 adultes (âge moyen : 76 ± 14 ans).

4.2 Résultats

4.2.1 Evolution des paramètres mécaniques et microstructuraux avec l'âge

Chez l'enfant, les résultats ont montré une corrélation positive entre l'âge et les paramètres mécaniques obtenus par nanoindentation : E^* ($r' = 0,560$), H ($r' = 0,494$), W_{plast} ($r' = 0,423$) et W_{tot} ($r' = 0,413$). Ces relations s'accompagnent d'une corrélation modérée entre l'âge et la carbonatation ($r' = 0,386$) et entre l'âge et l'index de minéralisation ($r' = 0,388$). Lorsque l'on ne tient compte que des mesures faites dans l'ostéon, on trouve une corrélation entre l'âge et la maturité du collagène ($r' = 0,565$).

Chez l'adulte, l'âge est relié à la maturité minérale ($r' = -0,467$) sans évolution des paramètres micromécaniques liée à l'âge.

Aucune corrélation n'a été trouvée entre le DMB et l'âge.

4.2.2 Corrélation entre les variables mécaniques et microstructurales

La Table IV.4 présente les différentes corrélations trouvées entre les variables mécaniques et microstructurales.

Chez l'enfant, les résultats montrent une corrélation modérée entre E^* et la carbonatation ($r' = 0,554$) et entre E^* et la maturité du collagène ($r' = 0,486$). Le DMB est lié à chacun des paramètres mécaniques étudiés : E^* ($r' = 0,567$), H ($r' = 0,509$), W_{plast} ($r' = 0,598$) et W_{tot} ($r' = 0,613$). L'index de minéralisation est lié à H ($r' = 0,418$) et à W_{tot} ($r' = 0,415$). Quand nous étudions séparément les mesures faites dans l'ostéon et dans l'os interstitiel, nous retrouvons une forte corrélation entre E^* et la carbonatation ($r' = 0,632$ et $r' = 0,819$ pour l'ostéon et l'os interstitiel respectivement) et entre H et la carbonatation dans l'os interstitiel seulement ($r' = 0,725$).

Chez l'adulte, E^* est corrélé négativement à la carbonatation ($r' = -0,437$) et positivement à l'index de minéralisation ($r' = 0,538$) et H est corrélé avec la cristallinité, la carbonatation et l'index de minéralisation ($r' = -0,485$, $r' = -0,486$ et $r' = 0,549$ respectivement). L'index de minéralisation est faiblement corrélé avec W_{plast} ($r' = 0,442$) et W_{tot} ($r' = 0,434$). Ici encore, le DMB est lié à chacun des paramètres mécaniques étudiés : E^* ($r' = 0,666$), H ($r' = 0,502$), W_{plast} ($r' = 0,556$) et W_{tot} ($r' = 0,531$).

Chez l'adulte, le DMB est corrélé avec l'index de minéralisation ($r' = 0,561^*$) et plus modérément avec la maturité du collagène ($r' = 0,357^*$). Chez l'enfant, le DMB est lié à l'index de minéralisation ($r' = 0,567^*$), la maturité du minéral ($r' = 0,456^*$) et plus fortement à la maturité du collagène ($r' = 0,685^{***}$).

	E^*	H	W_{plast}	W_{tot}
ENFANTS				
Cristallinité	0,032	0,080	-0,218	-0,249
Carbonatation	0,554*	0,366	0,229	0,183
Index de minéralisation	0,372	0,418*	0,375	0,415*
Maturité du minéral	0,092	-0,050	0,253	0,240
Maturité du collagène	0,486*	0,374	0,361	0,381
DMB	0,567*	0,509*	0,598*	0,613*
ADULTES				
Cristallinité	-0,304	-0,485*	-0,202	-0,246
Carbonatation	-0,437*	-0,486*	-0,274	-0,300
Index de minéralisation	0,538*	0,549*	0,442*	0,434*
Maturité du minéral	0,148	0,214	0,004	0,018
Maturité du collagène	0,288	0,351*	0,33	0,302
DMB	0,666***	0,502*	0,556*	0,531*

TABLE IV.4 – Coefficients de corrélation de Spearman (r') obtenus entre les différentes variables de la composition du tissu osseux et les paramètres mécaniques (* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$).

4.3 Discussion

A l'échelle de l'organe comme à l'échelle du tissu, les différents articles ont mis en évidence le rôle de chaque composant osseux dans le comportement mécanique de l'os cortical : le minéral agit sur la rigidité et l'élasticité alors que le collagène agit sur la ductilité et la plasticité [8, 22, 40, 133, 135, 138, 149]. Dans une étude similaire faite sur des échantillons osseux de femmes atteintes d'ostéoporose, Bala et al. [8] a mis en avant l'effet de la minéralisation sur l'élasticité du tissu osseux à l'échelle microscopique. Nous retrouvons cet effet chez nos sujets âgés. Nous observons également une corrélation positive entre E^* et la carbonatation chez l'enfant ($r' = 0,554$). Cette corrélation est retrouvée négative chez l'adulte ($r' = -0,437$). Ceci met en avant une composante plus précise de l'effet du minéral sur le comportement mécanique du tissu osseux : l'incorporation des ions CO_3 dans le cristal d'apatite.

Contrairement à ce qui est décrit chez l'adulte, le collagène semble avoir un rôle important à jouer dans l'élasticité du tissu osseux pendant la croissance. Comme le montrent les résultats du Chapitre II, les changements dans l'organisation des fibres de collagène sont importants pendant la croissance. L'évolution des pontages divalents en pontages trivalents viennent hiérarchiser la structure osseuse. Les cristaux d'apatite s'intégrant sur les fibrilles de collagène, ceci laisse supposer qu'un changement dans l'organisation du collagène peut provoquer un changement dans le taux et la disposition du minéral [40]. Ce changement semble avoir un impact aussi bien dans les propriétés mécaniques à l'échelle macroscopique (Partie 3) qu'à l'échelle microscopique.

5 Résumé du chapitre IV

Dans ce chapitre, nous avons étudié l'effet de la composition du tissu osseux et de son organisation sur le comportement mécanique de l'os cortical à différentes échelles.

A l'échelle macroscopique, le comportement élastique de l'os en croissance dépend de :

- la porosité et plus particulièrement de **la microarchitecture du réseau de pores**. Les changements dans le nombre de pores, la séparation des pores et sa distribution ont été corrélés avec l'élasticité axiale en traction-compression. Ces résultats suggèrent que, pour une porosité donnée, la façon dont le vide est façonné dans le volume osseux affecte de manière significative l'élasticité de l'os ;
- **la minéralisation du tissu osseux**. La TMD a été corrélée aux coefficients diagonaux de la matrice de rigidité (C_{ii}) ;
- **la maturation des molécules de pontage**. La quantité de molécules de pontage immatures (DHLNL+HLNL) ainsi que le ratio immatures/matures (Imm/Mat) ont été mis en lien avec les coefficients diagonaux de la matrice de rigidité (C_{ii}).

A l'échelle microscopique, l'élasticité de l'os en croissance dépend de **la minéralisation du tissu osseux, la carbonatation et la maturité du collagène**, alors que la dureté de celui-ci dépend plus spécifiquement de la minéralisation.

Conclusions et Perspectives

Les travaux menés dans le cadre de cette thèse avaient pour objectif de contribuer à l'amélioration des connaissances sur les propriétés mécaniques, structurales et tissulaires de l'os cortical en croissance. En clinique, les modalités d'imagerie du système osseux sont aujourd'hui performantes pour diagnostiquer et suivre la plupart des pathologies osseuses chez l'adulte. Or l'utilisation de ces techniques chez l'enfant est problématique : nocivité des radiations, anesthésie ou sédation nécessaire, etc. Pour ce qui est du domaine de la recherche, la simulation numérique permet aujourd'hui de valider et de comprendre de nombreux essais expérimentaux. Néanmoins, ces techniques nécessitent une base de données des propriétés mécaniques pour alimenter les modèles.

Les contraintes liées au manque sévère de données de référence sur l'os pédiatrique sont importantes. Ce travail proposait de comparer un groupe d'échantillons provenant d'enfants avec un retard de croissance à un groupe composé d'échantillons provenant d'adultes âgés. Cette comparaison se faisait en termes de microstructure, de propriétés mécaniques et biochimiques via la mise en place d'un protocole de manipulation complexe.

Un état de l'art sur les connaissances de l'os cortical nous a permis d'appréhender les principales méthodes de caractérisation des propriétés mécaniques, structurales et tissulaires de cet os. Les résultats publiés à ce jour sur l'os cortical pédiatrique montrent cependant une importante dispersion des propriétés mécaniques déterminées pour cet os et la difficulté d'obtenir des valeurs fiables et reproductibles. Le choix de la modalité de caractérisation, les conditions expérimentales, les variabilités intra- et inter-individus apparaissent comme des facteurs importants de cette disparité.

La première partie de nos recherches, abordée au chapitre II, a été focalisée sur l'évaluation des propriétés structurales et tissulaires de l'os cortical. L'objectif principal était d'obtenir de nouvelles données sur l'os cortical pédiatrique. Afin de pouvoir comparer les propriétés de l'os cortical en croissance avec celles de l'os mature, les mêmes essais de caractérisation ont été effectués sur une population d'enfants en croissance (âgés de 1 à 18 ans) et une population d'adultes (âgés de 50 à 95 ans). Cette comparaison a été effectuée sur une analyse par microradiographie quantitative et par tomographie, une analyse biochimique et une analyse par FTIRM. Cette caractérisation tissulaire a permis de montrer que, pendant la croissance, les différents composants de l'os cortical évoluaient pour atteindre un agencement vers une forme mature. Ainsi, nous avons pu observer une diminution du nombre de pores, de leur diamètre et de leur connectivité, une organisation plus ordonnée des ions à l'intérieur du cristal d'apatite, une minéralisation s'effectuant pendant le remodelage et une minéralisation due à l'âge, et enfin, une maturation des liaisons inter-fibrillaires.

La seconde partie de cette thèse a été dédiée à l'évaluation du comportement mécanique de l'os cortical. Ici encore, l'objectif était d'obtenir des données sur l'os cortical pédiatrique

à comparer avec de l'os mature. Cette comparaison a été faite en effectuant différents tests mécaniques : la caractérisation ultrasonore, la compression et la nanoindentation instrumentée. Cette caractérisation mécanique multi-échelles a permis de montrer que, pendant la croissance, l'os cortical devient plus rigide, et ceci dans ses trois directions de sollicitations principales (axiale, radiale et tangentielle), et moins déformable.

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'élasticité 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, ces 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 vu comme "interstitiel" de l'os pédiatrique.

La troisième et dernière partie de cette étude a été consacrée à déterminer l'effet de la composition du tissu osseux et de son organisation sur le comportement mécanique de l'os cortical. Pour cela, nous avons mis en relation les résultats des chapitres II et III. Cette étude a permis de confirmer l'effet de la minéralisation sur les propriétés élastiques de l'os cortical en croissance, comme cela avait été décrit dans plusieurs articles sur de l'os adulte. En revanche, nous avons également montré un effet de la maturité des liaisons collagéniques sur le caractère élastique de l'os cortical pédiatrique. Cet effet s'accompagne également d'une minéralisation de l'os cortical pendant la croissance. Ces résultats mettent en avant un lien entre l'intégration des cristaux d'apatite sur la fibrille de collagène et la structure hiérarchique même de celle-ci. Ainsi, pendant la croissance, la maturation du collagène, de laquelle dépend la minéralisation, a un rôle sur l'élasticité du tissu osseux cortical.

Cette étude a également permis de montrer que les propriétés élastiques sont influencées par la microarchitecture du réseau de pores indépendamment de l'évolution globale de la fraction volumique de pores. Ce résultat suggère que, pour une porosité donnée, la façon dont le réseau de pores est façonné dans le volume osseux affecte de manière significative l'élasticité de l'os.

En conclusion, nous avons pu montrer tout au long de ce travail de thèse que les os corticaux d'enfants présentent de nombreuses différences avec des os d'adultes, tant du point de vue de la qualité du tissu que du point de vue de la microstructure. Nous avons également mis en évidence l'importance de la structure multi-échelles et composite de l'os et de l'hétérogénéité de ses propriétés mécaniques.

Plusieurs développements peuvent être envisagés suite aux travaux de recherche présentés dans ce mémoire.

Un premier axe, très général, serait de poursuivre l'intégralité de cette étude pluridisciplinaire en envisageant une campagne d'essais à plus grande échelle avec un nombre d'échantillons plus élevé et des échantillons provenant de sites osseux différents. Ceci permettrait d'évaluer l'impact du site (porteur ou non) sur l'évolution des propriétés de l'os cortical pendant la croissance. En outre, il serait souhaitable d'obtenir des échantillons provenant d'une population d'adulte "jeune" (entre 20 et 45 ans). Cette étude permettrait également de développer un modèle numérique complet, et prenant en compte la croissance et le vieillissement.

Un deuxième axe serait d'étudier les propriétés de la matrice organique, notamment

son lien avec le comportement plastique de l'os cortical. Dans notre étude, les essais de compression n'ont pas permis de faire ce lien. Nous nous sommes donc focalisés sur le comportement de l'os cortical dans le domaine élastique. Cependant, la phase plastique est également primordiale puisqu'elle correspond aux déformations irréversibles de la structure. Par ailleurs, comme nous l'avons vu lors de notre étude bibliographique, le comportement plastique de l'os serait essentiellement lié aux propriétés de sa matrice organique. Il serait donc intéressant d'évaluer l'influence des propriétés de la phase collagénique de l'os en croissance sur son comportement dans le domaine plastique, notamment l'effet de l'organisation et l'orientation des fibrilles de collagène.

Un dernier axe à poursuivre concernerait l'étude de l'impact des propriétés microscopiques sur le comportement macroscopique de l'os en croissance. Au cours de ces travaux, nous avons pu identifier des différences significatives de structure et de composition à l'échelle du tissu entre un os en croissance et un os mature. Par ailleurs, nous avons également trouver des différences d'un point de vue comportement macroscopique. Néanmoins, notre protocole n'a pas permis de mettre en relation ces différences de propriétés à différentes échelles. Il serait donc intéressant d'étudier l'impact de l'aspect multi-échelle de l'os cortical.

Bibliographie

- [1] Agnew, A. M., Moorhouse, K., Kang, Y.-S., Donnelly, B. R., Pfefferle, K., Manning, A. X., Litsky, A. S., Herriott, R., Abdel-Rasoul, M., and Bolte, J. H. (2013). The Response of Pediatric Ribs to Quasi-static Loading : Mechanical Properties and Microstructure. *Annals of Biomedical Engineering*, 41(12) :2501–2514.
- [2] Albert, C., Jameson, J., Toth, J. M., Smith, P., and Harris, G. (2013a). Bone properties by nanoindentation in mild and severe osteogenesis imperfecta. *Clinical Biomechanics*, 28(1) :110–116.
- [3] Albert, C. I., Jameson, J., and Harris, G. (2013b). Design and validation of bending test method for characterization of miniature pediatric cortical bone specimens. *Proc Inst Mech Eng H*, 227(2) :105–113.
- [4] Allard, R. N. and Ashman, R. B. (1991). A comparison between cancellous bone compressive moduli determined from surface strain and total specimen deflection.
- [5] Ashman, R., Cowin, S., Van Buskirk, W., and Rice, J. (1984). A continuous wave technique for the measurement of the elastic properties of cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 17(5) :349–361.
- [6] Bala, Y. (2011). *Etude multi-échelles des effets osseux des bisphosphonates au cours du traitement de l'ostéoporose ménopausique*. PhD thesis, UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1.
- [7] Bala, Y., Bui, Q. M., Wang, X.-F., Iuliano, S., Wang, Q., Ghasem-Zadeh, A., Rozental, T. D., Bouxsein, M. L., Zebaze, R. M. D., and Seeman, E. (2015). Trabecular and cortical microstructure and fragility of the distal radius in women. *J. Bone Miner. Res.*, 30(4) :621–629.
- [8] Bala, Y., Depalle, B., Douillard, T., Meille, S., Clément, P., Follet, H., Chevalier, J., and Boivin, G. (2011). Respective roles of organic and mineral components of human cortical bone matrix in micromechanical behavior : An instrumented indentation study. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 4(7) :1473–1482.
- [9] Bala, Y., Farlay, D., and Boivin, G. (2013). Bone mineralization : from tissue to crystal in normal and pathological contexts. *Osteoporosis International*, 24(8) :2153–2166.
- [10] Bala, Y. and Seeman, E. (2015). Bone's Material Constituents and their Contribution to Bone Strength in Health, Disease, and Treatment. *Calcified Tissue International*, 97(3) :308–326.
- [11] Bala, Y., Zebaze, R., Ghasem-Zadeh, A., Atkinson, E. J., Iuliano, S., Peterson, J. M., Amin, S., Bjornerem, A., Melton, L. J., Johansson, H., Kanis, J. A., Khosla, S., and

- Seeman, E. (2014). Cortical porosity identifies women with osteopenia at increased risk for forearm fractures. *J. Bone Miner. Res.*, 29(6) :1356–1362.
- [12] Baum, T., Carballido-Gamio, J., Huber, M. B., Müller, D., Monetti, R., R ath, C., Eckstein, F., Lochm uller, E. M., Majumdar, S., Rummeny, E. J., Link, T. M., and Bauer, J. S. (2010). Automated 3d trabecular bone structure analysis of the proximal femur–prediction of biomechanical strength by CT and DXA. *Osteoporos Int*, 21(9) :1553–1564.
- [13] Baumann, A. P., Deuerling, J. M., Rudy, D. J., Niebur, G. L., and Roeder, R. K. (2012). The relative influence of apatite crystal orientations and intracortical porosity on the elastic anisotropy of human cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 45(16) :2743–2749.
- [14] Bayraktar, H. H., Morgan, E. F., Niebur, G. L., Morris, G. E., Wong, E. K., and Keaveny, T. M. (2004). Comparison of the elastic and yield properties of human femoral trabecular and cortical bone tissue. *J Biomech*, 37(1) :27–35.
- [15] Bensamoun, S., Ho Ba Tho, M.-C., Luu, S., Gherbezza, J.-M., and de Belleval, J.-F. (2004). Spatial distribution of acoustic and elastic properties of human femoral cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 37(4) :503–510.
- [16] Bernard, S., Grimal, Q., and Laugier, P. (2013). Accurate measurement of cortical bone elasticity tensor with resonant ultrasound spectroscopy. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*.
- [17] Berteau, J.-P. (2013). La biom ecanique de l’os de l’enfant en croissance, une aide   la prise en charge kin esith erapique. *Kin esith erapie, la Revue*.
- [18] Berteau, J.-P., Baron, C., Pithioux, M., Launay, F., Chabrand, P., and Lasaygues, P. (2014). In vitro ultrasonic and mechanic characterization of the modulus of elasticity of children cortical bone. *Ultrasonics*, 54(5) :1270–1276.
- [19] Berteau, J.-P., Gineyts, E., Pithioux, M., Baron, C., Boivin, G., Lasaygues, P., Chabrand, P., and Follet, H. (2015). Ratio between mature and immature enzymatic cross-links correlates with post-yield cortical bone behavior : An insight into greenstick fractures of the child fibula. *Bone*, 79 :190–195.
- [20] Berteau, J.-P., Pithioux, M., Follet, H., Guivier-Curien, C., Lasaygues, P., and Chabrand, P. (2012). Computed tomography, histological and ultrasonic measurements of adolescent scoliotic rib hump geometrical and material properties. *Journal of Biomechanics*, 45(14) :2467–2471.
- [21] Bjornerem, A., Bui, Q. M., Ghasem-Zadeh, A., Hopper, J. L., Zebaze, R., and Seeman, E. (2013). Fracture risk and height : an association partly accounted for by cortical porosity of relatively thinner cortices. *J. Bone Miner. Res.*, 28(9) :2017–2026.
- [22] Boivin, G., Bala, Y., Doublier, A., Farlay, D., Ste-Marie, L., Meunier, P., and Delmas, P. (2008). The role of mineralization and organic matrix in the microhardness of bone tissue from controls and osteoporotic patients. *Bone*, 43(3) :532–538.
- [23] Boivin, G. and Baud, C. A. (1984). Methods of Calcified Tissue Preparation. In *Microradiographic methods for calcified tissues*, pages 391–411. Dickson GR, Amsterdam, elsevier edition.

- [24] Bonjour, J. P. (1998). Delayed puberty and peak bone mass. *Eur J Endocrinol*, 139(3) :257–259.
- [25] Boot, A. M., de Ridder, M. A. J., van der Sluis, I. M., van Slobbe, I., Krenning, E. P., and Keizer-Schrama, S. M. P. F. d. M. (2010). Peak bone mineral density, lean body mass and fractures. *Bone*, 46(2) :336–341.
- [26] Bui, M., Bjonnerem, A., Ghasem-Zadeh, A., Dite, G. S., Hopper, J. L., and Seeman, E. (2013). Architecture of cortical bone determines in part its remodelling and structural decay. *Bone*, 55(2) :353–358.
- [27] Burr, D. B. (2002). The contribution of the organic matrix to bone’s material properties. *Bone*, 31(1) :8–11.
- [28] Burstein, A. H., Reilly, D. T., and Martens, M. (1976). Aging of bone tissue : mechanical properties. *J Bone Joint Surg Am*, 58(1) :82–86.
- [29] Bushby, A. J., Ferguson, V. L., and Boyde, A. (2004). Nanoindentation of bone : Comparison of specimens tested in liquid and embedded in polymethylmethacrylate. *Journal of Materials Research*, 19(01) :249–259.
- [30] Carter, D. R. and Hayes, W. C. (1976). Bone compressive strength : the influence of density and strain rate. *Science*, 194(4270) :1174–1176.
- [31] Chappard, C., Bensalah, S., Olivier, C., Gouttenoire, P. J., Marchadier, A., Benhamou, C., and Peyrin, F. (2013). 3d characterization of pores in the cortical bone of human femur in the elderly at different locations as determined by synchrotron micro-computed tomography images. *Osteoporos Int*, 24(3) :1023–1033.
- [32] Choi, K. and Goldstein, S. A. (1992). A comparison of the fatigue behavior of human trabecular and cortical bone tissue. *J Biomech*, 25(12) :1371–1381.
- [33] Choi, K., Kuhn, J. L., Ciarelli, M. J., and Goldstein, S. A. (1990). The elastic moduli of human subchondral, trabecular, and cortical bone tissue and the size-dependency of cortical bone modulus. *J Biomech*, 23(11) :1103–1113.
- [34] Cooper, D., Turinsky, A., Sensen, C., and Hallgrímsson, B. (2007). Effect of Voxel Size on 3d Micro-CT Analysis of Cortical Bone Porosity. *Calcified Tissue International*, 80(3) :211–219.
- [35] Cowin, S. (2001). *Bone Mechanics Handbook, Second Edition*. Boca raton : Crc press edition.
- [36] Cuppone, M., Seedhom, B. B., Berry, E., and Ostell, A. E. (2004). The longitudinal Young’s modulus of cortical bone in the midshaft of human femur and its correlation with CT scanning data. *Calcif. Tissue Int.*, 74(3) :302–309.
- [37] Currey, J. (1988a). The effect of porosity and mineral content on the Young’s modulus of elasticity of compact bone. *Journal of Biomechanics*, 21(2) :131–139.
- [38] Currey, J. D. (1979). Changes in the impact energy absorption of bone with age. *Journal of biomechanics*, 12(6) :459–469.
- [39] Currey, J. D. (1988b). The effects of drying and re-wetting on some mechanical properties of cortical bone. *J Biomech*, 21(5) :439–441.

- [40] Currey, J. D. (2003). Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone. *Osteoporosis International*, 14(0) :29–36.
- [41] Currey, J. D., Brear, K., and Zioupos, P. (1996). The effects of ageing and changes in mineral content in degrading the toughness of human femora. *Journal of Biomechanics*, 29(2) :257–260.
- [42] Currey, J. D., Brear, K., Zioupos, P., and Reilly, G. C. (1995). Effect of formaldehyde fixation on some mechanical properties of bovine bone. *Biomaterials*, 16(16) :1267–1271.
- [43] Currey, J. D. and Butler, G. (1975). The mechanical properties of bone tissue in children. *J Bone Joint Surg Am*, 57(6) :810–814.
- [44] Dall Ara, E., Ohman, C., Baleani, M., and Viceconti, M. (2007). The effect of tissue condition and applied load on Vickers hardness of human trabecular bone. *Journal of Biomechanics*, 40(14) :3267–3270.
- [45] Dall’Ara, E., Luisier, B., Schmidt, R., Pretterklieber, M., Kainberger, F., Zysset, P., and Pahr, D. (2013). DXA predictions of human femoral mechanical properties depend on the load configuration. *Medical Engineering & Physics*, 35(11) :1564–1572.
- [46] Davis, M. T., Loyd, A. M., Shen, H.-y. H., Mulroy, M. H., Nightingale, R. W., Myers, B. S., and Bass, C. D. (2012). The mechanical and morphological properties of 6 year-old cranial bone. *Journal of Biomechanics*, 45(15) :2493–2498.
- [47] Dong, N. H. and Guo, E. (2004). The dependence of transversely isotropic elasticity of human femoral cortical bone on porosity. *Journal of Biomechanics*, 37(8) :1281–1287.
- [48] Donnelly, E., Baker, S. P., Boskey, A. L., and van der Meulen, M. C. (2006). Effects of surface roughness and maximum load on the mechanical properties of cancellous bone measured by nanoindentation. *J Biomed Mater Res A*, 77(2) :426–435.
- [49] Drozdowska, B. and Pluskiewicz, W. (2003). Skeletal status in males aged 7-80 years assessed by quantitative ultrasound at the hand phalanges. *Osteoporosis International*, 14(4) :295–300.
- [50] Espinoza Orias, A. A., Deuerling, J. M., Landrigan, M. D., Renaud, J. E., and Roeder, R. K. (2009). Anatomic variation in the elastic anisotropy of cortical bone tissue in the human femur. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2(3) :255–263.
- [51] Eyre, D. R., Dickson, I. R., and Van Ness, K. (1988). Collagen cross-linking in human bone and articular cartilage. Age-related changes in the content of mature hydroxypyridinium residues. *Biochem J*, 252(2) :495–500.
- [52] Fan, Z., Smith, P. A., Eckstein, E. C., and Harris, G. F. (2006). Mechanical properties of OI type III bone tissue measured by nanoindentation. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 79A(1) :71–77.
- [53] Farlay, D., Panczer, G., Rey, C., Delmas, P., and Boivin, G. (2010). Mineral maturity and crystallinity index are distinct characteristics of bone mineral. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 28(4) :433–445.

- [54] Ferguson, V. (2009). Deformation partitioning provides insight into elastic, plastic, and viscous contributions to bone material behavior. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2(4) :364–374.
- [55] Fischer-Cripps, A. (2005). *Theory of nanoindentation. The IBIS Handbook of Nanoindentation*. Fischer-Cripps Laboratories Pty Ltd, Forestville.
- [56] Follet, H., Boivin, G., Rumelhart, C., and Meunier, P. (2004). The degree of mineralization is a determinant of bone strength : a study on human calcanei. *Bone*, 34(5) :783–9.
- [57] Franklyn, M., Peiris, S., Huber, C., and Yang, K. H. (2007). Pediatric material properties : a review of human child and animal surrogates. *Crit Rev Biomed Eng*, 35(3-4) :197–342.
- [58] Genant, H. K., Engelke, K., Fuerst, T., Gluer, C.-C., Grampp, S., Harris, S. T., Jergas, M., Lang, T., Lu, Y., Majumdar, S., Mathur, A., and Takada, M. (1996). Noninvasive assessment of bone mineral and structure : State of the art. *Journal of Bone and Mineral Research*, 11(6) :707–730.
- [59] Gineyts, E., Borel, O., Chapurlat, R., and Garnero, P. (2010). Quantification of immature and mature collagen crosslinks by liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry in connective tissues. *Journal of Chromatography B*, 878(19) :1449–1454.
- [60] Glorieux, F. H., Travers, R., Taylor, A., Bowen, J. R., Rauch, F., Norman, M., and Parfitt, A. M. (2000). Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. *Bone*, 26(2) :103–109.
- [61] Granke, M., Grimal, Q., Saïed, A., Nauleau, P., Peyrin, F., and Laugier, P. (2011). Change in porosity is the major determinant of the variation of cortical bone elasticity at the millimeter scale in aged women. *Bone*, 49(5) :1020–1026.
- [62] Granke, M., Lopez, O., Grimal, Q., Allain, J.-M., Saïed, A., Crépin, J., and Laugier, P. (2012). Contribution of matrix heterogeneity and pores to local strains in human cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 45, Supplement 1 :S474.
- [63] Grimal, Q., Hauptert, S., Mitton, D., Vastel, L., and Laugier, P. (2009). Assessment of cortical bone elasticity and strength : Mechanical testing and ultrasound provide complementary data. *Medical Engineering & Physics*, 31(9) :1140–1147.
- [64] Haïat, G., Naili, S., Grimal, Q., Talmant, M., Desceliers, C., and Soize, C. (2009). Influence of a gradient of material properties on ultrasonic wave propagation in cortical bone : application to axial transmission. *J. Acoust. Soc. Am.*, 125(6) :4043–4052.
- [65] Hengsberger, S., Kulik, A., and Zysset, P. (2002). Nanoindentation discriminates the elastic properties of individual human bone lamellae under dry and physiological conditions. *Bone*, 30(1) :178–184.
- [66] Henry, L. (2006). *Approche micromécanique de l’os cortical : mesures de champs et simulation numérique*. PhD thesis, Ecole centrale Paris, Paris.
- [67] Hightower, L. (2000). Osteoporosis : pediatric disease with geriatric consequences. *Orthop Nurs*, 19(5) :59–62.

- [68] Hild, F. and Roux, S. (2006). Digital Image Correlation : from Displacement Measurement to Identification of Elastic Properties – a Review. *Strain*, 42(2) :69–80.
- [69] Hildebrand, T. and Ruegsegger, P. (1997). A new method for the model-independent assessment of thickness in three-dimensional images. *Journal of Microscopy*, 185(1) :67–75.
- [70] Ho Ba Tho, M.-C., Rho, J. Y., and Ashman, R. B. (1991). *Atlas of mechanical properties of human cortical and cancellous bone*, volume 25.
- [71] Hoffer, C., Moore, K., Kozloff, K., Zysset, P., Brown, M., and Goldstein, S. (2000). Heterogeneity of bone lamellar-level elastic moduli. *Bone*, 26(6) :603–609.
- [72] Hoffer, C. E., Guo, X. E., Zysset, P. K., and Goldstein, S. A. (2005). An application of nanoindentation technique to measure bone tissue Lamellae properties. *J Biomech Eng*, 127(7) :1046–1053.
- [73] Hoffmeister, B. K., Smith, S. R., Handley, S. M., and Rho, J. Y. (2000). Anisotropy of Young’s modulus of human tibial cortical bone. *Med Biol Eng Comput*, 38(3) :333–338.
- [74] Hofmann, T., Heyroth, F., Meinhard, H., Franzel, W., and Raum, K. (2006). Assessment of composition and anisotropic elastic properties of secondary osteon lamellae. *Journal of Biomechanics*, 39(12) :2282–2294.
- [75] Imbert, L., Aurégan, J.-C., Pernelle, K., and Hoc, T. (2014). Mechanical and mineral properties of osteogenesis imperfecta human bones at the tissue level. *Bone*, 65 :18–24.
- [76] Jans, G., Van Audekercke, R., Sloten, J., Gobin, R., Van der Perre, G., and Mommerts, M. (1998). P020 Bending properties of cranial bone segments of new-born children. *Journal of Biomechanics*, 31, Supplement 1 :65.
- [77] Johnson, W. M. and Rapoff, A. J. (2007). Microindentation in bone : Hardness variation with five independent variables. *Journal of Materials Science : Materials in Medicine*, 18(4) :591–597.
- [78] Kalkwarf, H. J., Zemel, B. S., Gilsanz, V., Lappe, J. M., Horlick, M., Oberfield, S., Mahboubi, S., Fan, B., Frederick, M. M., Winer, K., and Shepherd, J. A. (2007). The Bone Mineral Density in Childhood Study : Bone Mineral Content and Density According to Age, Sex, and Race. *JCEM*, 92(6) :2087–2099.
- [79] Kang, Q., An, Y. H., and Friedman, R. J. (1997). Effects of multiple freezing-thawing cycles on ultimate indentation load and stiffness of bovine cancellous bone. *Am. J. Vet. Res.*, 58(10) :1171–1173.
- [80] Keller, T. S., Mao, Z., and Spengler, D. M. (1990). Young’s modulus, bending strength, and tissue physical properties of human compact bone. *J. Orthop. Res.*, 8(4) :592–603.
- [81] Kriewall, T. J., McPherson, G. K., and Tsai, A. C. (1981). Bending properties and ash content of fetal cranial bone. *Journal of Biomechanics*, 14(2) :73–79.
- [82] Lakes, R. S. and Katz, J. L. (1974). Interrelationships among the viscoelastic functions for anisotropic solids : Application to calcified tissues and related systems. *Journal of Biomechanics*, 7(3) :259–270.