



UNIVERSITÉ FRANÇOIS RABELAIS DE TOURS



École Doctorale EMSTU

Université de TOURS- UMRS INSERM U930 équipe 5

THÈSE présentée par :

Hélène MORESCHI

soutenue le : 05 juin 2012

pour obtenir le grade de : Docteur de l'université de TOURS

Discipline/ Spécialité : Sciences de la Vie et de la Santé/ Acoustique

**OBJECTIVATION DU MICRO-ENDOMMAGEMENT DANS LE TISSU
OSSEUX TRABÉCULAIRE PAR UNE MÉTHODE
D'ACOUSTO-ÉLASTICITÉ DYNAMIQUE :
répétabilité et sensibilité de la mesure des paramètres
non linéaires élastiques**

THÈSE DIRIGÉE PAR :

DEFONTAINE Marielle
REMENIÉRAS Jean-Pierre
CALLÉ Samuel

Ingénieur Hospitalier HDR, CHRU Bretonneau (Tours)
Ingénieur de Recherche HDR, Université de Tours (co-directeur)
Maître de Conférence, Université de Tours (co-encadrant)

RAPPORTEURS :

LUPPÉ Francine
TOURNAT Vincent

Professeur des universités, Université du Havre
Chargé de Recherche HDR, CNRS

JURY :

LAUGIER Pascal
LUPPÉ Francine
TOURNAT Vincent
MITTON David
DEFONTAINE Marielle
CALLÉ Samuel

Directeur de Recherche, CNRS, Président du jury
Professeur des universités, Université du Havre
Chargé de Recherche HDR, CNRS
Directeur de Recherche, IFSTTAR (Lyon)
Ingénieur Hospitalier HDR, CHRU Bretonneau (Tours)
Maître de Conférence, Université de Tours

Remerciements

Mes remerciements s'adressent tout d'abord à madame Francine Luppé et monsieur Vincent Tournat pour avoir accepté de rapporter ce travail, ainsi que pour leurs nombreuses remarques constructives. Je remercie également monsieur Pascal Laugier et monsieur David Mitton pour l'intérêt qu'ils ont porté au suivi de cette thèse et pour avoir bien voulu l'examinée.

Un immense merci à Marielle Defontaine et à Samuel Callé pour leur tout aussi immense soutien et leur accompagnement pendant ces quelques années. Merci pour votre gentillesse et votre patience, votre disponibilité et votre sens du partage (savoir scientifique et gustatif). Merci Marielle pour ta bonne humeur remonte-moral et ton écoute. Avec toi, les petits thésards sont choyés et c'est bien agréable. Arrivés ignorants, nous ressortons de la thèse aguerris, capables d'affronter le monde et de nous tricoter des pulls. Mes parents t'en sont reconnaissants. J'en profite pour remercier ta famille de choc : François, Léna, Théo et Méli, merci pour votre accueil chaleureux ! Et pardon de ne pas toujours vous avoir rendu la "Mamma" à l'heure le soir...

Après ma sortie de "la salle du fond", je dois les débuts de ma socialisation à mes valeureux collègues de bureau : Mélouka (méfiez-vous de l'eau qui dort...), Nico (un gars vachement gentil ! Dont le sens du pardon absout mes plus grosses gaffes...) et Redouane (l'homme aux mille services). Merci pour votre sympathie (je ne redis pas gentillesse, ça va énerver le Nico) et votre amitié.

Merci à Chloé Trarieux dont le souci de perfection peut l'amener lors de discours anglophones à en perdre son italien. Ta bonne humeur et ta pugnacité me font penser que tu as bien trouvé ta chef ! Bon courage pour la suite (précisons que tu ne travailles pas sur l'os).

La minute nécessaire du docteur Fournier n'illumine pas que nos jeudis midi. Merci Joseph pour tes réponses précises aux questions du type "comment on dit en médecin, le haut du talon à gauche ?" et plus farfelues aux autres (sauver sa peau devant un ours, par exemple). Bon courage à toi aussi pour la suite, mais tu vas être bien entouré.

Merci à Tony l'insoumis, à Audren, à Axel et ton hyperactivité maîtrisée, à wiki-Camille et ton insatiable soif de connaissance (mais pas que de ça, faut pas exagérer non plus...), à Domi, Iulian, Seb, André-Pierre, Fatima, sans oublier Leïla et Aya (les filles au pouvoir !), Jennifer, Anthony, Jean-Michel et Kadija (toujours là dans nos cœurs et nos bureaux après 19h).

Merci à Fabrice, Laurent, Thierry, Stéphane et Anton d'Althais dont la bonne humeur s'est propagée quotidiennement au 7^{ème}, notamment vers 10h et 16h.

REMERCIEMENTS

Merci à Jean-Yves pour les supers dispositifs, les os usinés, les conseils et le temps passé à réaliser nos moindres caprices techno...

Merci à Fred'O pour m'avoir fait découvrir Jules Vallès et pas mal de films (même des qui font peur).

Merci à Jean-Pierre pour m'avoir permis de faire une thèse, pour le café et les coupes de vélos qui nous permettent d'avoir parfois des croissants un autre jour que ton anniversaire !

Merci à Dom, Franky (pour les cours !), Jean-Marc Gi et Jean-Marc Gr (pour les infos câbles).

Tatoo ! Ah... Tatoo... Tatoo mon petit... Merci d'être aussi singulière, étonnante, invraisemblable et sympathique. Merci pour tous les services rendus et ta gentillesse, les infos photos, ciné, plantes (!) et artistiques en tout genre.

Merci aux amis du master, en particulier Jacques, Pierre, Dimitri, Marco et Marie !!

Merci aux copines de longue date : Frédérique (bientôt ton tour !), Violette et Solène ! Merci à Paméla pour ton amitié sans faille et ton esprit vivifiant. Merci aussi à Asmahan pour ta grande bonté, ton humour (bizarre... !), ta force de caractère et ton humanité. Merci aussi à Suzanne...

Enfin merci à ma famille, mes parents, Anne, Laura et ma grand-mère. Impossible de dire tout ce que je vous dois...

Un merci infini à Matthias, pour ton soutien et ton attention ("ça va ? T'as la forme ? T'as la pêche ?"). Merci d'avoir pris soin de moi pendant toute la rédaction et de continuer encore aujourd'hui ! Merci aux deux lutins ("j'suis pas un lutin ! J'suis un ninja !").

Merci à la famille Lebertre/Berl/Fournier de m'avoir aussi bien accueillie. Une pensée particulière pour ma nouvelle copine de chœur et mon nouveau "frangin" musicien.

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Résumé

La problématique du vieillissement pathologique du tissu osseux (ostéoporose) est un enjeu important de santé publique. La densité minérale osseuse est considérée comme un des facteurs principaux affectant cette dégénérescence tissulaire, sans toutefois expliquer complètement le risque fracturaire. L'accumulation du micro-endommagement en lien avec cette pathologie présente un nouvel angle d'investigation intéressant. Dans ce contexte, une méthode d'acousto-élasticité dynamique (DAET) associant une onde acoustique basse fréquence et des impulsions ultrasonores a été développée au laboratoire pour la quantification du micro-endommagement dans l'os trabéculaire. La DAET permet de mesurer les non-linéarités élastiques et dissipatives, respectivement associées aux variations de temps de vol et d'amplitude des impulsions pour différents états de contrainte basse fréquence auxquels est soumis le tissu osseux.

Ce travail a consisté à étudier la sensibilité et la reproductibilité de l'approche DAET à détecter/quantifier *in vitro* le niveau de micro-endommagement -natif ou induit mécaniquement par fatigue en compression- dans des échantillons osseux trabéculaires issus de calcaneums humains. De forts niveaux de non-linéarités acoustiques ont toujours été corrélés à une densité de micro-endommagements importante (analyse histologique). La présence de microbulles d'air (fortement non linéaires) et l'apparition d'un phénomène de conditionnement des échantillons par l'onde acoustique basse-fréquence ont tempéré la reproductibilité de l'approche DAET. Cette difficulté ne remet toutefois pas en cause la pertinence de cette méthode dans le cadre d'une application *in vivo* de la mesure DAET.

Mots clés : os trabéculaire, micro-endommagement, acousto-élasticité, paramètres acoustiques non linéaires.

RÉSUMÉ

Table des matières

Introduction	13
1 Os trabéculaire et micro-endommagement	15
1.1 Le squelette : une approche anatomique et fonctionnelle	16
1.1.1 Nature et physiologie du tissu osseux	16
1.1.2 Fonctions du squelette	21
1.1.3 Vieillessement et pathologies du tissu osseux	26
1.2 Description du micro-endommagement osseux	30
1.2.1 Origine et types de micro-endommagements	31
1.2.2 Rôles du micro-endommagement	32
1.2.3 Détection et quantification du micro-endommagement <i>in vitro</i>	34
1.2.4 Etudes du micro-endommagement <i>in vitro</i>	37
1.3 Techniques d'investigation <i>in vivo</i> du tissu osseux et du micro-endommagement	42
1.3.1 Les limites des techniques standards	42
1.3.2 Les nouvelles modalités ultrasonores	44
1.4 Conclusion	49
2 La technique d'acousto-élasticité dynamique	51
2.1 Etat de l'art de l'acousto-élasticité	52
2.1.1 Propagation des ondes élastiques dans un matériau	52
2.1.2 Acousto-élasticité : principe et application	55
2.2 Méthode dynamique d'acousto-élasticité : DAET	62
2.2.1 Principe général	62
2.2.2 Paramètres non linéaires de la méthode DAET	67
2.2.3 Application de la méthode DAET à un milieu de référence : l'eau . .	70
2.2.4 Caractérisation du dispositif	73
2.3 Conclusions	79
3 Mesures préliminaires sur l'os trabéculaire	81

TABLE DES MATIÈRES

3.1	Mesures DAET localisées sur des calcanéums entiers	82
3.1.1	Mode opératoire	82
3.1.2	Résultats des mesures DAET	84
3.1.3	Histologie	88
3.1.4	Conclusions	91
3.2	Application de la DAET sur des échantillons osseux trabéculaires parallé- pipédiques	92
3.2.1	Influence des encapsulations sur les signaux ultrasonores	92
3.2.2	Mesures DAET sur des échantillons parallélépipédiques et analyse histologique	93
3.2.3	Analyse histologique	96
3.2.4	Conclusions	96
3.3	Mesures DAET dans des solutions de microbulles encapsulées	98
3.3.1	Protocole expérimental	99
3.3.2	Résultats	100
3.3.3	Conclusions	102
3.4	Conclusion	103
4	Sensibilité de la méthode DAET au micro-endommagement osseux mé- caniquement induit	105
4.1	Descriptif de l'étude	106
4.1.1	Préparation des échantillons	107
4.1.2	Protocoles de mesures DAET	108
4.1.3	Mise en place des essais mécaniques	109
4.1.4	Préparation des échantillons pour l'analyse histologique	111
4.2	Présentation des résultats	112
4.2.1	Essais mécaniques	112
4.2.2	Analyse des mesures DAET	113
4.2.3	Discussion sur les mesures DAET	123
4.2.4	Apport de l'analyse histologique	130
4.3	Conclusions	133
5	Eléments d'analyse pour l'interprétation des non-linéarités acoustiques	135
5.1	Simulation de la propagation ultrasonore dans l'os trabéculaire par une mé- thode pseudo-spectrale	136
5.1.1	Présentation de la méthode pseudo-spectrale	137
5.1.2	Influence des fissures sur la propagation ultrasonore	142
5.2	Modèle viscoélastique	146
5.2.1	Approche analytique du comportement viscoélastique	146

TABLE DES MATIÈRES

5.2.2	Application du modèle pour les mesures DAET dans l'eau et l'os trabéculaire	150
5.2.3	Perspectives	151
5.3	Conclusions	152
Conclusion		155
Annexes		161
Mesures DAET du chapitre 4		161
Essais de fatigue par compression du chapitre 4		185
Publications		191
Bibliographie		211

TABLE DES MATIÈRES

Introduction

L'os est un tissu biologique complexe, en perpétuel remaniement, qui permet au squelette d'assurer de nombreuses fonctions physiologiques comme la locomotion, la protection des organes, mais également le stockage et la redistribution de minéraux. Son vieillissement naturel se traduit par une diminution de la densité minérale osseuse (DMO) et des modifications architecturales du tissu osseux à l'origine d'une dégradation de la résistance osseuse. Le vieillissement pathologique du squelette s'accompagne d'un déséquilibre entre formation et résorption osseuse, à l'origine d'une baisse dramatique de la DMO. La pathologie osseuse la plus connue et la plus répandue est certainement l'ostéoporose. Cette maladie systémique qui touche une grande partie de la population féminine proche de la ménopause, mais également une partie non négligeable de la population masculine, peut se révéler grave en raison du risque fracturaire associé. Ses conséquences sont importantes sur le plan humain : les complications liées aux fractures peuvent se traduire par des douleurs et entraîner une perte d'autonomie. De plus, les fractures ostéoporotiques sont associées à un risque accru de mortalité chez les personnes âgées immobilisées : 8% des hommes et 3% des femmes de plus de 50 ans décèdent pendant leur hospitalisation pour une fracture de la hanche. Il en résulte un impact sanitaire et économique considérable qui tend à augmenter avec l'espérance de vie de la population.

Bien que des médicaments existent pour limiter la diminution de la DMO, aucun traitement n'a pu à ce jour restaurer l'architecture de l'os. C'est pourquoi il est souhaitable de privilégier la prévention au traitement curatif. Aucun symptôme lié à la perte osseuse post-ménopausique n'a été identifié, et il est d'usage concernant l'ostéoporose de parler d'épidémie "silencieuse". En effet, elle n'est la plupart du temps détectée qu'à la suite d'une fracture minime. Les trois plus fréquentes sont les fractures vertébrales, les fractures de l'extrémité distale de l'avant-bras et celles de la hanche. Actuellement, le diagnostic de l'ostéoporose se base sur des techniques d'estimation de la DMO, comme l'absorptiométrie biphotonique (DEXA), permettant d'expliquer 60 à 70% des cas de fractures ostéoporotiques. Néanmoins, la fragilisation osseuse est un problème multi-paramétrique dont la DMO ne constitue pas le facteur exclusif. L'accumulation de microfissures en lien avec l'ostéoporose constitue un nouvel angle d'investigation intéressant.

L'utilisation des ultrasons pour l'exploration du tissu osseux renseigne depuis plusieurs années sur les propriétés mécaniques et architecturales de l'os à travers les mesures de la vitesse de propagation et de l'atténuation des ondes ultrasonores. Cependant, ces techniques ne possèdent pas une sensibilité suffisante pour accéder aux propriétés micro-architecturales du tissu osseux. Dans ce contexte, des approches ultrasonores pour détecter le micro-endommagement dans le tissu osseux ont vu le jour. Parmi celles-ci, une méthode

d'acousto-élasticité dynamique (DAET, dynamic acousto-elastic testing) a été développée au laboratoire pour la quantification du micro-endommagement dans l'os trabéculaire. Cette méthode repose sur le couplage acousto-élastique de deux ondes acoustiques. Une onde basse-fréquence dite onde "pompe" générant une pression hydrostatique sinusoïdale, comprime et dilate le tissu osseux tandis que des impulsions ultrasonores non perturbatrices (onde "sonde") traversent le milieu dans les différents états de contraintes basse-fréquences. La succession de phases de compression et de dilatation hydrostatiques générées par l'onde basse-fréquence modifie les propriétés viscoélastiques du milieu et plus particulièrement son module de compression. Ces variations viscoélastiques peuvent être estimées en calculant les variations des temps de propagation (TOFM, time of flight modulation) et des amplitudes (RAM, relative amplitude modulation) des impulsions ultrasonores. De plus, ces techniques d'acoustique non linéaire, largement développées en géophysique et en contrôle non destructif, ont montré une bonne sensibilité à la présence d'inhomogénéités de types microfissures, caractérisée par des valeurs importantes du paramètre non linéaire élastique β .

Ce document a été construit autour de cinq chapitres. Le premier chapitre présente le tissu osseux trabéculaire du point de vue de son anatomie, de sa physiologie et de sa biomécanique. En particulier, les facteurs de son vieillissement pathologique y sont abordés.

La première partie du second chapitre présente la théorie de l'acousto-élasticité, sur laquelle se base la méthode DAET. Une seconde partie traite de la caractérisation et de l'optimisation du dispositif expérimental mis en place au cours de la thèse de Guillaume Renaud, afin de valider l'intérêt, la sensibilité et la répétabilité de cette approche pour la détection du micro-endommagement du tissu osseux trabéculaire du calcaneum. D'une manière générale, ce site osseux a souvent fait l'objet de mesures ultrasonores en raison de sa grande accessibilité et ce, quelle que soit la corpulence des personnes considérées, de sa morphologie globale relativement simple (surfaces médianes et latérales quasi parallèles) et enfin de sa fonction d'os porteur (sujet à de fortes sollicitations mécaniques). En outre, il se compose presque exclusivement de tissu trabéculaire. Toutefois, le calcaneum présente une forte hétérogénéité spatiale qui nous a amené à effectuer des mesures préliminaires.

Dans un troisième chapitre, la méthode DAET a été appliquée à des calcaneums humains entiers, sur deux zones de différentes porosités, puis sur des échantillons prélevés le long de l'axe tibio-calcaneen. Cette région est le lieu de concentration importante des contraintes physiologiques fortes et possède une orientation principale du réseau trabéculaire.

Le chapitre 4 présente les résultats d'un protocole de mesures DAET couplé à la réalisation d'un endommagement induit par fatigue en compression sur des échantillons trabéculaires. Il s'agit dans ce cas de contrôler le niveau de micro-endommagement dans le tissu osseux et d'évaluer la sensibilité associée de la méthode. Une analyse histologique a été menée pour comparer les niveaux de non-linéarités acoustiques mesurées et la densité de micro-endommagement présente dans les échantillons étudiés.

Enfin, le chapitre 5 propose à travers deux modélisations différentes, des éléments d'analyse pour l'interprétation des non-linéarités acoustiques. D'une part, l'influence de la présence de microfissures sur la propagation ultrasonore est simulée au moyen d'un code pseudo-spectral. D'autre part, un modèle rhéologique adapté à la méthode DAET a été développé pour identifier les paramètres caractéristiques non linéaires du milieu.

Chapitre 1

Os trabéculaire et micro-endommagement

Sommaire

1.1	Le squelette : une approche anatomique et fonctionnelle	16
1.1.1	Nature et physiologie du tissu osseux	16
1.1.2	Fonctions du squelette	21
1.1.3	Vieillessement et pathologies du tissu osseux	26
1.2	Description du micro-endommagement osseux	30
1.2.1	Origine et types de micro-endommagements	31
1.2.2	Rôles du micro-endommagement	32
1.2.3	Détection et quantification du micro-endommagement <i>in vitro</i> .	34
1.2.4	Etudes du micro-endommagement <i>in vitro</i>	37
1.3	Techniques d'investigation <i>in vivo</i> du tissu osseux et du micro- endommagement	42
1.3.1	Les limites des techniques standards	42
1.3.2	Les nouvelles modalités ultrasonores	44
1.4	Conclusion	49

1.1. LE SQUELETTE : UNE APPROCHE ANATOMIQUE ET FONCTIONNELLE

La capacité du squelette à supporter au quotidien des charges de plus ou moins fortes amplitudes, répétitives ou occasionnelles, résulte d'un équilibre complexe entre les différents déterminants de la résistance osseuse. La densité minérale osseuse, facteur essentiel de la résistance osseuse, a été largement étudiée. Plus récemment, le taux de micro-endommagement a suscité un intérêt particulier et trouve une place intéressante dans l'étude des propriétés mécaniques du squelette.

Ce premier chapitre s'attache à présenter brièvement l'os trabéculaire (ou "spongieux") : sa composition et sa physiologie. Cependant, il est difficile de le dissocier totalement du tissu osseux cortical (également appelé os "compact") tant leurs interactions mécaniques et physiologiques sont fortes et leurs structures primaires similaires. L'os cortical n'est donc présenté ici que de façon partielle et uniquement dans un souci de compréhension de l'organisation morphologique globale du squelette. Une présentation plus ciblée est effectuée sur le micro-endommagement du tissu osseux et sur son rôle dans la biomécanique du squelette. Enfin, les différentes techniques mises en œuvre *in vitro* et *in vivo* pour l'étudier seront présentées.

1.1 Le squelette : une approche anatomique et fonctionnelle

Cette section propose une description du tissu osseux à la fois anatomique et fonctionnelle, de son organisation à l'échelle microscopique jusqu'aux fonctionnalités macroscopiques. Enfin, les dysfonctionnements pathologiques les plus importants du tissu osseux sont abordés.

1.1.1 Nature et physiologie du tissu osseux

Le corps humain s'articule autour d'un édifice architectural complexe : le squelette. Celui-ci a pour fonction première le soutien du corps ; il est d'ailleurs fréquent de parler de "charpente" osseuse. Cependant, il n'est pas limité à ce seul rôle et assure également la locomotion, la protection des organes (boîte crânienne, vertèbres et cage thoracique) et est impliqué dans la fabrication des cellules sanguines *via* la moelle osseuse. Enfin, il participe au métabolisme du calcium et constitue le principal réservoir minéral de l'organisme nécessaire à l'approvisionnement des cellules : 99% du calcium et 85% du phosphore de l'organisme sont contenus dans le squelette [1].

1.1.1.1 Physiologie du tissu osseux

Composition

Le tissu osseux proprement dit est un tissu conjonctif spécialisé constitué d'une matrice organominérale dans laquelle sont dispersées des cellules osseuses des lignées ostéoblastiques et ostéoclastiques, et d'eau. La matrice organique comporte essentiellement des fibres de collagène de type I (90%) associées à des glycosaminoglycanes¹ et à diverses protéines

1. Les glycosaminoglycanes sont de grosses molécules formées de longues chaînes de polysaccharides. Chargées négativement, elles ont un comportement hydrophile qui leur permet de former un gel hydraté.

non collagéniques, parmi lesquelles les plus abondantes sont l'ostéocalcine, l'ostéonectine, l'ostéopontine et la bone sialoprotéine. Le rôle de ces protéines demeure peu connu. Elles sont supposées intervenir dans la fixation des cellules osseuses à la matrice extracellulaire et former un support pour la minéralisation de cette même matrice lorsqu'elle est non calcifiée (tissu ostéoïde). Phosphates et calcium, organisés en cristaux d'hydroxyapatite, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, sont enchevêtrés entre les fibres de collagène et composent pour l'essentiel la matrice extracellulaire organominérale qui confère à l'os sa dureté et sa résistance à la rupture et à l'étirement. Le tissu osseux fixe également les ions fluor, sodium et magnésium par substitution des ions Ca^{2+} et CO_3^{2-} du cristal d'hydroxyapatite.

Organisation structurale

A l'échelle microscopique Les éléments constitutifs du tissu osseux s'agencent de différentes façons, permettant de distinguer plusieurs types de tissus osseux au mode d'apparition, à la répartition et aux propriétés mécaniques particuliers : la structure primaire et la structure secondaire.

La structure primaire désigne la texture de l'os. Elle regroupe l'os tissé (ou fibreux ou non lamellaire) caractéristique du tissu osseux fœtal, et l'os lamellaire, propre au tissu osseux adulte. L'os tissé est un os immature qui se synthétise rapidement et dont la résistance mécanique est faible. Les fibres de collagène y sont de taille inégale et constituent une trame désordonnée et irrégulièrement minéralisée. L'os tissé forme l'intégralité de l'os fœtal. Il est également présent chez l'enfant où il est remplacé, au fur et à mesure de la maturation du squelette, par de l'os lamellaire. Chez l'adulte, il se retrouve dans les cals osseux (présentés dans la section 1.2.1, figures 1.13 et 1.14) impliqués dans la guérison de fractures ou de microfractures, lors de la maladie de Paget (formation d'os anarchique) ou encore dans les ostéosarcomes. Il possède des propriétés élastiques moindres en regard de celles de l'os lamellaire.

L'os lamellaire (ou mature) est constitué d'un ensemble d'unités morphologiques et fonctionnelles juxtaposées, les lamelles. Chaque lamelle, d'épaisseur comprise entre 3 et 7 μm , contient des fibres de collagène disposées presque parallèlement, mais dont l'orientation peut varier jusqu'à 90° d'une lamelle à l'autre. Cette texture lamellaire assure au tissu osseux sa résistance mécanique, et plus particulièrement, son élasticité.

La structure secondaire concerne l'organisation des lamelles en unités structurales élémentaires (BSU, bone structure unit) compactées entre elles. Ces BSU s'agencent différemment selon le type d'os auquel elles appartiennent (os cortical ou trabéculaire). Dans l'os cortical, la BSU est appelée "ostéon" ou système de Havers. L'ostéon est constitué de 5 à 20 lamelles ordonnées de façon concentrique autour d'un canal (canal de Havers) contenant des vaisseaux sanguins irriguant l'os, et des fibres nerveuses. Le diamètre d'un ostéon est de l'ordre de 200 ou 250 μm . Dans l'os trabéculaire, la BSU est constituée de lamelles superposées (hémiostéon) formant une travée de 100 à 200 μm d'épaisseur, et d'ostéocytes interconnectés par des canalicules. Au sein des travées de l'os trabéculaire et entre les ostéons pour l'os cortical, des lamelles anciennes remodelées ou partiellement résorbées constituent l'os interstitiel. La figure 1.1 illustre la structure du tissu osseux à différentes échelles.

1.1. LE SQUELETTE : UNE APPROCHE ANATOMIQUE ET FONCTIONNELLE

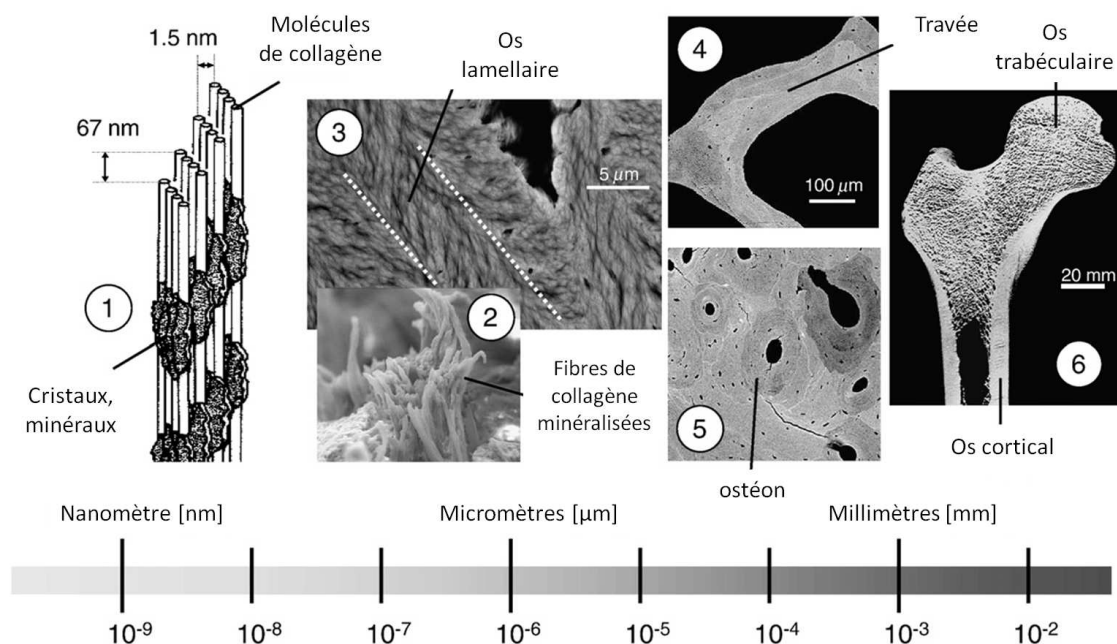


FIGURE 1.1 – Hiérarchisation du tissu osseux d'après une figure de Weinkamer et Fratzl [2] : 1) particules minérales et collagène; 2) fibres de collagène en surface d'une fissure; 3) arrangement lamellaire autour d'une lacune ostéocytaire; 4) Travée constituée d'un empilement de BSU; 5) unité ostéonale à la base de l'os cortical; 6) fémur en coupe présentant dans sa partie supérieure de l'os trabéculaire et dans sa partie inférieure, de l'os cortical.

A l'échelle macroscopique L'os trabéculaire est, à l'échelle macroscopique, un matériau composite, c'est-à-dire formé de plusieurs constituants de nature différente. Il s'organise en un réseau tridimensionnel de travées osseuses contenant la moelle hématopoïétique ou adipeuse vascularisée. Il est d'usage de parler de travées anastomosées, c'est à dire connectées entre elles. Chaque travée résulte de l'empilement de BSU en plaques de forme régulière ou en arches (ou tiges) permettant de connecter les plaques entre elles (figure 1.2). Des lignes cémentantes marquent la superposition des BSU. Les travées divisent l'intérieur de l'os trabéculaire en pores intercommunicants de dimensions différentes, créant ainsi une structure à la porosité variable et de densité apparente (masse par unité de volume comprenant les pores). La morphologie de l'os trabéculaire a été décrite par Singh [6] et classée en différentes catégories, selon la prépondérance des travées de type tige ou plaque rencontrées dans le tissu osseux. Pour de faibles densités relatives² d'os, le réseau trabéculaire est constitué davantage de travées en tiges (140-500 μm de diamètre) s'organisant de façon aléatoire. Lorsque la densité relative croît, les travées en tiges sont remplacées par des plaques (100-200 μm) et s'orientent en colonnes. Singh remarque que la structure trabéculaire évolue d'un fin réseau de petites travées (type tige), essentiellement rencontré à l'intérieur de l'os, vers un agencement de travées épaisses, semblables à des plaques, et se situant davantage près des zones supportant d'importantes contraintes. L'architecture de

2. La densité relative est le rapport de la densité réelle à la densité apparente. La densité réelle ne tient compte que du volume effectif d'os, là où la densité apparente intègre également le volume des pores. La densité relative de l'os trabéculaire est comprise entre 0,05 et 0,70 (limite supérieure qui est une des façons de distinguer os cortical et os trabéculaire).

1.1. LE SQUELETTE : UNE APPROCHE ANATOMIQUE ET FONCTIONNELLE

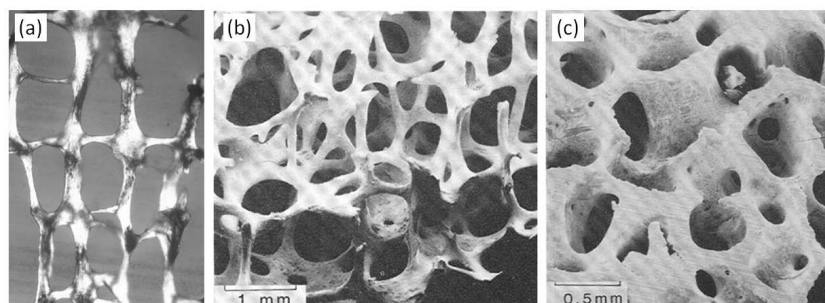


FIGURE 1.2 – Organisation des travées en tige (a) et (b) et en plaques (c). Images de vertèbres (a) et tête fémorale (b) et (c) issues respectivement des travaux de Jensen et Mosekilde [3, 4] et de Gibson [5].

l'os trabéculaire est donnée par la direction d'application des forces subies [7]. Aussi, l'os trabéculaire subissant un ensemble complexe de contraintes présentera un réseau trabéculaire complexe et particulièrement asymétrique. C'est le cas du calcanéum (os du talon) et de la tête fémorale par exemple. Au contraire, les vertèbres présentent une structure trabéculaire en colonnes à symétrie de rotation répondant à un chargement physiologique essentiellement uni-axial (figure 1.2 (a)). L'ordre de grandeur de l'espacement inter-travées dans le calcanéum humain est de 340 à 600 μm [8].

A l'échelle de l'espèce et de la vie humaines, la forme de l'os dans son intégralité (corticale et tissu trabéculaire) évolue en réponse aux contraintes locales et aux vitesses de déformations spécifiques subies (loi de Wolff [9]), pour un minimum de masse osseuse (Loi de Roux [10, 11]). Elle peut varier sensiblement d'un individu à l'autre, selon les efforts régulièrement éprouvés. Plus particulièrement, cela se traduit chez les sportifs par l'adaptation morphologique de certains os extrêmement sollicités. Les joueurs de tennis, par exemple, développent au niveau de l'avant-bras un élargissement de la diaphyse, ainsi qu'une augmentation de la masse osseuse et une amélioration de la résistance à la flexion (bending resistance). Ces effets sont d'autant plus remarquables lorsque l'entraînement débute avant la puberté du sportif. De la même façon, la densité de l'os trabéculaire pour un site anatomique particulier dépend de l'amplitude des forces appliquées.

1.1.1.2 Cellules osseuses et remodelage

Au-delà de ses propriétés mécaniques remarquables, le tissu osseux possède également une capacité pour le moins intéressante à se renouveler et à restaurer les zones altérées par la présence de micro-endommagements. Le processus impliqué, appelé remodelage osseux, se caractérise par la succession de phases de résorption et de formation osseuses résultant de l'activité de cellules osseuses spécifiques, et gouvernées par une mécanique et une physiochimie complexe.

Cellules osseuses

Il existe quatre grands types de cellules osseuses provenant de la moelle : les ostéoclastes, les ostéoblastes, les ostéocytes et les cellules bordantes (figure 1.3).

Les ostéoclastes sont de grosses cellules multinucléées (100 μm de diamètre en moyenne)

1.1. LE SQUELETTE : UNE APPROCHE ANATOMIQUE ET FONCTIONNELLE

responsables de la résorption osseuse. Localisées à la surface du tissu osseux, elles synthétisent des enzymes spécifiques lysosomales (c'est-à-dire capables de détruire les cellules) et dégradent la matrice organique décalcifiée après acidification du milieu extracellulaire. L'os résorbé cède place à une lacune de résorption appelée "lacune de Howship".

Les ostéoblastes, quant à eux, sont des cellules mononucléées ($20\ \mu\text{m}$ de diamètre) sécrétrices des constituants de la matrice organique. De forme allongée ou cuboïdale, ils sont attachés à la surface osseuse en cours de formation. Leur fonction principale est la synthèse de tissu ostéoïde (non calcifié), minéralisé par la suite à partir de l'interface entre le tissu osseux calcifié et le tissu ostéoïde. A l'issue de leur action, les ostéoblastes devenus aplatis peuvent s'incorporer à l'ostéoïde et devenir des ostéocytes, ou recouvrir la totalité des surfaces osseuses sous forme de cellules quiescentes appelées cellules bordantes.

Les ostéocytes représentent environ un dixième des ostéoblastes matures. Emmurés dans la matrice minéralisée, ils possèdent des prolongements cytoplasmiques à l'origine de leur forme étoilée, qui leur permettent d'établir des contacts entre eux et entre les cellules présentes en surface (ostéoblastes et cellules bordantes). Les ostéocytes interviennent en tant que "mécanorécepteurs" sensibles aux contraintes mécaniques exercées sur la matrice osseuse et aux mouvements des liquides interstitiels de la matrice.

Les cellules bordantes couvrent toute la surface du tissu osseux et sont supposées réguler le mouvement des ions entre le plasma et l'os.

Remodelage osseux

L'organisation et la physiologie du tissu osseux s'adaptent en permanence aux sollicitations mécaniques et métaboliques *via* un processus de remodelage osseux. Ce dernier permet en particulier le renouvellement du tissu osseux, nécessaire au maintien de la masse osseuse, ainsi que la réparation du micro-endommagement créé lors de contraintes répétées. Le remodelage osseux est effectué au niveau d'unités multicellulaires de base (BMU, basic multicellular units) faisant intervenir séquentiellement les cellules osseuses. Dans une BMU, le processus de remodelage débute par une phase d'activation des cellules bordantes (figure 1.3) sensibles à un signal d'initialisation dont la nature reste encore mal connue. La dégradation de la fine couche collagénique située sous les cellules bordantes permet d'exposer le tissu osseux à l'action des précurseurs ostéoclastiques. S'en suit la deuxième phase, dite de résorption, au cours de laquelle les pré-ostéoclastes se différencient en ostéoclastes matures qui adhèrent à la surface osseuse. L'os ancien est alors résorbé. Lors d'une phase d'inversion, les ostéoclastes sont remplacés par des cellules mononucléées venant tapisser la lacune de Howship nouvellement créée. La phase de formation commence alors, avec l'arrivée des ostéoblastes. Ces derniers synthétisent une nouvelle matrice osseuse qui sera minéralisée par la suite. A la fin de cette phase de formation, les ostéoblastes ayant évolué en cellules bordantes recouvrent la surface osseuse et restent quiescents jusqu'au prochain remodelage osseux.

Le remodelage osseux s'effectue en permanence sur l'ensemble du squelette afin d'assurer des fonctions physiologiques telles que le maintien de la calcémie. Il peut également dépendre de l'état d'endommagement du site et être "ciblé". Dans ce cas, le remodelage pourrait être déclenché par la présence de microfissures venues rompre le réseau cellulaire

1.1. LE SQUELETTE : UNE APPROCHE ANATOMIQUE ET FONCTIONNELLE

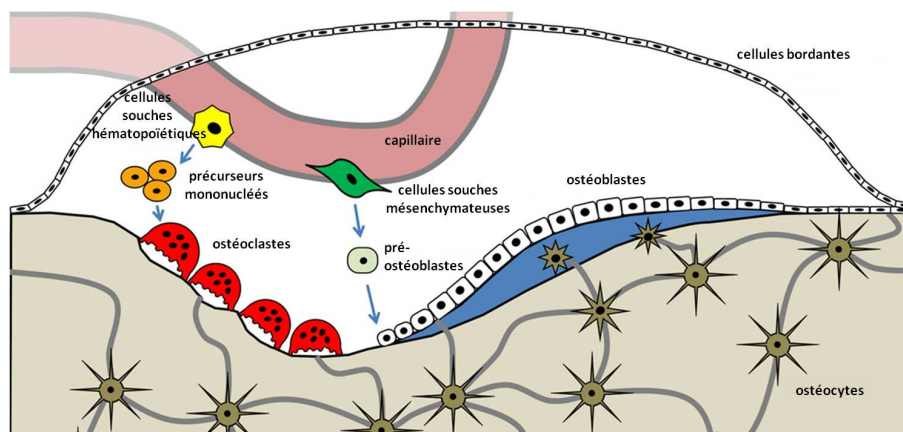


FIGURE 1.3 – Schéma d'un cycle de remodelage osseux au sein d'une unité multicellulaire de base (BMU) [12]. La formation du nouveau tissu osseux résulte de l'action successive des ostéoclastes et des ostéoblastes.

mécanosensible constitué par les ostéocytes [13, 14]. Plus de 30% du remodelage osseux est ciblé [15]. L'os trabéculaire se renouvelle chez l'humain cinq à huit fois plus vite que l'os cortical. La figure 1.4 résume les mécanismes de l'adaptation de la structure trabéculaire aux différentes échelles.

1.1.2 Fonctions du squelette

L'ossature humaine, à l'âge adulte, regroupe 206 os formés de deux types de tissus osseux : l'os cortical (ou compact) qui représente près de 80% de la masse osseuse du squelette et se caractérise par une faible porosité, au contraire de l'os trabéculaire (ou spongieux) dont la structure très hétérogène se distingue par une porosité de l'ordre de 70%. Au contraire du tissu osseux cortical qui donne la forme générale de l'os et lui confère sa souplesse en flexion, le tissu osseux trabéculaire se situe à l'intérieur des os (à l'exception de la diaphyse des os longs) et assure mécaniquement un rôle d'amortisseur de chocs. Il est constitué d'un réseau tridimensionnel de travées qui limite les espaces médullaires (cellules de la moelle hématopoïétique et adipocytes) et permet le maintien de l'équilibre phosphocalcique.

La géométrie des os est variable (os longs, plats ou courts) selon leur fonction et leur position anatomique. Parmi les os longs, se trouvent le tibia, le fémur, l'humérus ou le radius. Le calcaneum, tout comme les vertèbres, les carpes ou les phalanges du pieds comptent parmi les os courts. Omoplate, sternum et os du crâne, du fait de leur faible épaisseur, font partie des os plats. Enfin, il existe une classification auxiliaire, moins répandue, faisant état des os dits irréguliers (vertèbres), pneumatiques (os du crâne) ou encore sésamoïdes (rotule), plus difficiles à classer dans les trois groupes précédents.

1.1.2.1 Propriétés mécaniques du tissu osseux trabéculaire

Les propriétés mécaniques de l'os en général et de l'os trabéculaire en particulier sont difficilement mesurables en raison du caractère vivant de ce matériau (en remaniement permanent, différant d'une personne à l'autre, etc.), de sa nature multiphasique (moelle,

1.1. LE SQUELETTE : UNE APPROCHE ANATOMIQUE ET FONCTIONNELLE

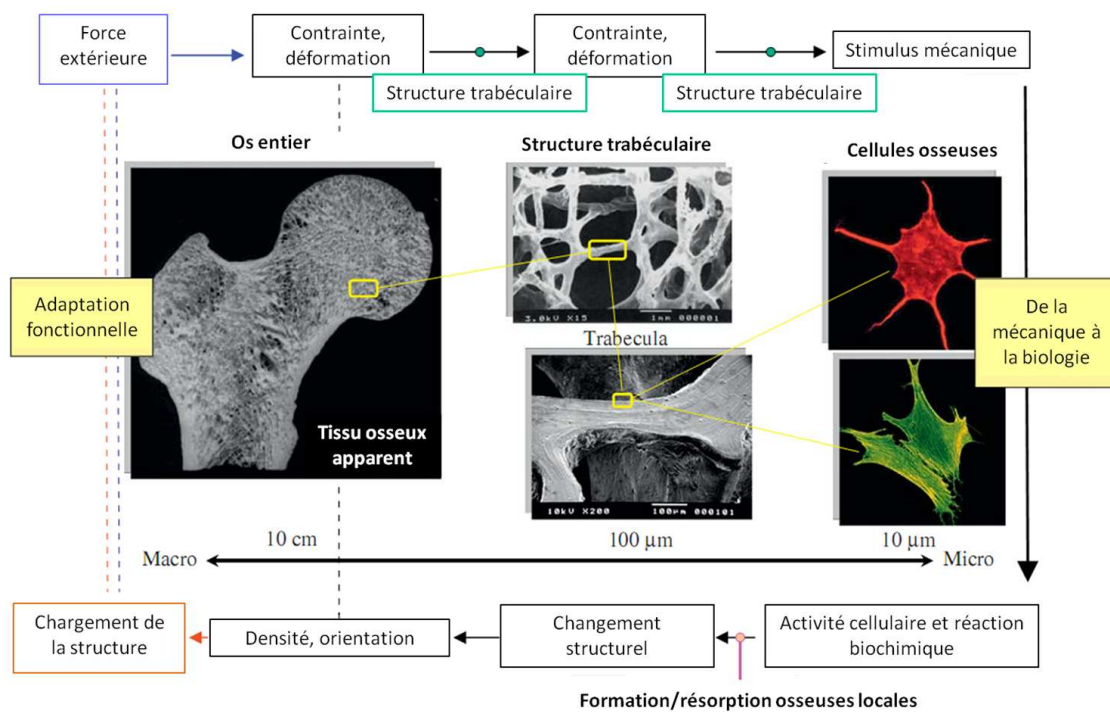


FIGURE 1.4 – Adaptation de la structure trabéculaire par le remodelage osseux schématisée par Tsubota *et al.* [16]. L'adaptation au chargement physiologique se traduit par la densité du tissu osseux et l'orientation des travées à l'échelle macroscopique (1-10cm). Les cellules osseuses sont sollicitées au moyen d'un stimulus mécanique et participent aux phases de résorption et de formation du remodelage osseux.

travées) et de sa grande hétérogénéité. Dans un matériau aussi hétérogène que l'os, les propriétés mécaniques peuvent être considérées à différentes échelles : au niveau d'une travée, d'un échantillon (découpe standardisée) ou de l'os entier. Les propriétés mécaniques de l'os, à l'échelle macroscopique, dépendent d'une part de la structure globale de l'os et d'autre part, du type de chargement mécanique supporté.

Structure de l'os et propriétés mécaniques Selon le site anatomique considéré, les propriétés mécaniques de l'os trabéculaire ne sont pas les mêmes. Ainsi, le module d'Young de l'os trabéculaire humain peut présenter des valeurs de l'ordre de 10 et 10^4 MPa. Plusieurs éléments de la structure globale de l'os influencent ses propriétés mécaniques macroscopiques : l'épaisseur de tissu osseux, l'organisation du réseau trabéculaire ou encore la porosité.

- Épaisseur du tissu osseux : la géométrie des os et la répartition de la masse osseuse jouent un rôle non négligeable dans la résistance mécanique de l'os. L'influence de l'âge apparaît donc évidente puisque le vieillissement du squelette s'accompagne inexorablement d'une diminution de la masse osseuse.
- Organisation du réseau trabéculaire : la structure macroscopique alvéolaire de l'os trabéculaire renforce sa résistance mécanique pour un minimum de matériel osseux (loi du "minimum-maximum" de Roux) et lui confère des propriétés mécaniques d'amortisseur. D'autre part, la moelle dans laquelle se trouve baigné le réseau trabéculaire, au-delà de son rôle primordial dans le processus de remodelage osseux (cf. paragraphe 1.1.1.2), influence de façon notable ses propriétés mécaniques en absorbant une grande quantité d'énergie lors d'un choc.
- Porosité : au sein d'un même site anatomique, la porosité est souvent variable.

Influence de l'anisotropie L'os trabéculaire est un matériau présentant une anisotropie forte, c'est-à-dire que ses propriétés physiques et mécaniques ne sont pas les mêmes dans toutes les directions de l'espace. Sa structure, comme celle de l'os en général, s'organise préférentiellement en réponse aux contraintes mécaniques qu'il subit (loi de Wolff). Par exemple, la forme arquée des travées est souvent interprétée comme l'adaptation de la structure trabéculaire aux contraintes principales en traction et compression résultant du flambage subi par l'os. Dans le calcanéum, os du tarse le plus volumineux (figure 1.5) résistant aux contraintes journalières exercées par le poids du corps, l'hétérogénéité du réseau trabéculaire est remarquable à l'échelle macroscopique. Deux lignes de force principales se distinguent dans la tubérosité postérieure (figure 1.6) :

- un système arciforme supérieur, concave vers le bas, dont les fibres travaillent en compression,
- un système arciforme inférieur qui travaille en tension.

En revanche, les os subissant un chargement physiologique quasi-unidirectionnel présentent une structure trabéculaire unidirectionnelle (cas des vertèbres).

Cette anisotropie apporte une difficulté supplémentaire à la mise en oeuvre des tests mécaniques quant à la taille des échantillons et à la répartition non-uniforme des contraintes sur ce dernier. Il s'agit alors d'aligner la direction principale d'orientation des travées et l'axe de chargement en compression de l'échantillon. Cela signifie que le module d'Young

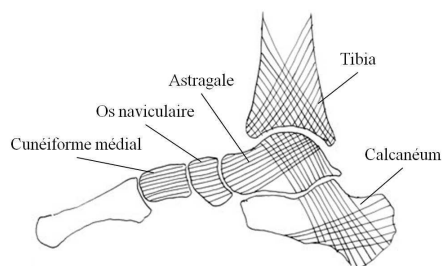


FIGURE 1.5 – Calcanéum et os du pied.

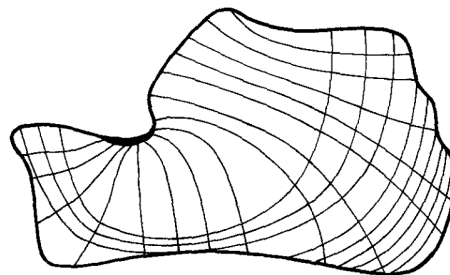


FIGURE 1.6 – Schéma des lignes d'orientation principales du réseau trabéculaire du calcanéum dans le plan sagittal [17].

(module d'élasticité) dépend de la direction d'application de la charge. Par exemple, le tissu osseux trabéculaire des vertèbres est plus résistant lors d'une sollicitation dans la direction verticale que dans la direction transverse.

Ciarelli *et al.* [18] ont ainsi observé un degré d'anisotropie trabéculaire plus élevé chez les patients souffrant d'une fracture de la hanche que chez des femmes décédées n'ayant jamais eu de fracture.

Comportement viscoélastique de l'os Le comportement mécanique de l'os est également déterminé par ses propriétés élastiques et viscoélastiques. Tout comme le tissu osseux cortical, l'os trabéculaire possède des propriétés mécaniques dépendant à la fois de la vitesse de déformation et de la durée d'application des forces (fluage). A l'échelle de la microstructure, les fibres de collagène assurent une grande résistance à la traction. La modification du collagène liée à l'âge est responsable de la diminution de la résistance osseuse [19]. La matrice minérale (cristaux d'apatite) s'oppose plutôt aux contraintes de compression. Degré de minéralisation du tissu osseux et raideur de l'os sont directement reliés.

Propriétés mécaniques et force appliquée L'amplitude et la direction d'application des forces exercées sur l'os vont agir directement sur ses propriétés mécaniques à l'échelle macroscopique. Il est d'ailleurs intéressant de noter l'origine multiple de ces forces. L'os peut en effet supporter des forces extérieures agissant sur le corps (comme le poids du corps, la réaction du sol pendant la marche ou l'impact dû à une chute), mais aussi des forces internes associées à la contraction d'un muscle ou l'étirement d'un ligament par exemple, ou encore des forces de contact os-os (exemple du calcanéum qui s'emboîte sur l'astragale). De façon générale, le tissu osseux trabéculaire supporte les charges en compression et le tissu cortical se montre beaucoup plus résistant aux charges en flexion (en particulier sur les os longs).

L'os trabéculaire est un matériau mécaniquement complexe à tester. Sa grande porosité, par exemple, ne permet pas facilement la mise en place de l'échantillon entre les mords d'une machine de test en traction. La plupart des études biomécaniques ont donc été menées sur des éprouvettes cylindriques ou parallélépipédiques d'os trabéculaire testées en compression. Dans l'ensemble, l'os spongieux est dix fois moins résistant en compression que l'os cortical [20]. Il est donc davantage le siège de fractures en compression. Cette

résistance diminue avec l'âge.

1.1.2.2 Le calcanéum

La place prépondérante du calcanéum dans l'ensemble de ce travail de thèse justifie de lui consacrer un paragraphe spécifique.

Comme mentionné précédemment, le calcanéum est l'os du tarse le plus volumineux (figure 1.5). C'est un os porteur, situé à la partie inférieure et postérieure du pied, qui se trouve en appui sur le sol par l'intermédiaire des tissus mous. Il forme une tubérosité postérieure irrégulière (composée de six faces) s'articulant avec deux os, le talus et le cuboïde (figure 1.7). Grâce au tendon d'achille (également appelé tendon calcanéen), au fascia plantaire³, ainsi qu'aux muscles du pied, il agit comme un bras de levier puissant pendant la marche et lors des postures statiques debout et accroupi.

L'architecture osseuse du calcanéum se caractérise par une protection corticale d'épaisseur millimétrique variable entourant un réseau trabéculaire arqué. Cette orientation traduit les lignes de force parcourant le calcanéum (figure 1.6) : forces de compression axiale transmises par le poids du corps et forces de tension générées par les insertions tendineuses et du fascia. L'hétérogénéité de la microarchitecture trabéculaire est évidente à l'oeil nu et peut être divisée en trois zones d'intérêt (ROI, region of interest) de porosités différentes [21] (figure 1.8) :

- ROI supérieure : il s'agit d'une zone de faible porosité située vers la facette supérieure du calcanéum et délimitée par la surface articulaire s'articulant avec le talus,
- ROI postérieure : cette zone plus homogène de porosité moyenne est répartie à l'arrière du calcanéum (marquée par l'insertion du tendon d'achille),
- ROI antérieure : c'est la zone la plus hétérogène, regroupant à la fois des zones de tissu osseux très dense et des régions de très forte porosité. Elle est située à l'avant du calcanéum.

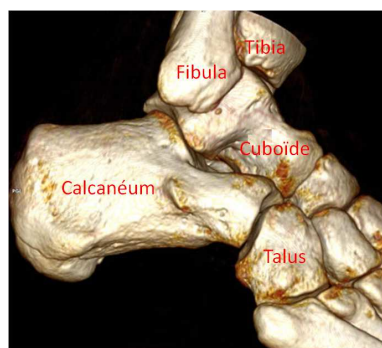


FIGURE 1.7 – Os du tarse.

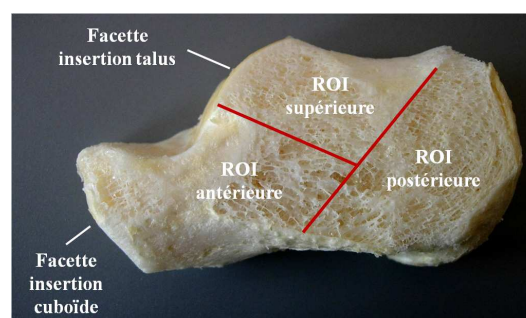


FIGURE 1.8 – Zones anatomiques d'observation (ROI) du calcanéum étudiées par Rupprecht *et al.* [21].

La complexité du réseau trabéculaire est renforcée par l'organisation des travées caractéristique de chacune des ROI. Ainsi, les travées de type plaque sont prédominantes

3. Le fascia plantaire ou aponévrose plantaire est un tissu conjonctif épais se situant en surface du muscle et impliqué dans le soutien de l'arche du pied. Cette enveloppe s'étend de l'os du talon jusqu'aux orteils.

dans la ROI supérieure, tandis que les ROI postérieure et antérieure du calcaneum sont une combinaison de travées des deux types, plaque et arche (tige). Cependant, avec l'âge, ces caractéristiques sont modifiées et les travées de type plaque évoluent naturellement vers une structure en tige, avec néanmoins une différence d'interconnexion : les travées de la ROI supérieure restent bien anastomosées, au contraire d'une partie de celles des ROI postérieure et antérieure dont les extrémités deviennent libres.

Les fractures du calcaneum ne comptent pas parmi les plus courantes, à peine 2% de l'ensemble des fractures. Malgré tout, elles représentent près de 60% des traumatismes des os du tarse. Les nombreuses études qui se sont intéressées à comprendre ces fractures ont toutes mis en évidence l'importance de la facette postérieure du calcaneum. Cette région anatomique particulière est le siège de 97% des fractures intra-articulaires du calcaneum (3/4 de l'ensemble des fractures calcanéennes), impliquant le ligament fibulo-talo-calcaneen.

Le calcaneum se compose à 90% d'os trabéculaire. Or, comme nous l'avons vu précédemment, ce type de tissu osseux possède une fréquence de remodelage plus grande que celle de l'os cortical. L'os trabéculaire se pose donc en témoin clef des changements dans l'activité métabolique du squelette, avant l'os cortical. D'autre part, l'étude de Rupprecht *et al.* [21] a montré que ce site osseux révélait des variations dans sa microarchitecture liées à l'âge.

1.1.3 Vieillessement et pathologies du tissu osseux

Le vieillissement "normal" (c'est-à-dire non pathologique) du squelette s'accompagne d'une diminution de la quantité de tissu osseux déposée relative à une baisse de l'activité ostéoblastique. Au contraire, la quantité d'os résorbé (profondeur des lacunes de résorption) ne diminue pas autant et peut même rester identique. Il s'en suit alors un déséquilibre dans la balance osseuse de chaque unité de remodelage, renforcé par un profond bouleversement de l'activité hormonale lors de la ménopause (déficit en œstrogène notamment). Le vieillissement normal est donc à l'origine de changements architecturaux du tissu osseux ayant pour conséquence une diminution non pathologique de la résistance osseuse : amincissement des travées entraînant un accroissement de la porosité osseuse et une diminution de la connectivité du réseau trabéculaire, évolution de la morphologie des travées, etc. Ainsi, ces variations mécaniques ne s'accompagnent pas de changements significatifs de la composition (densité, composition des matrices minérale et organique) du tissu osseux [22, 23, 24].

Ostéopénie L'ostéopénie, caractérisée par une raréfaction du tissu osseux, est une conséquence naturelle du vieillissement du squelette. Tant qu'un seuil de la densité minérale osseuse (DMO), de l'ordre de 11 %, n'est pas dépassé, il n'y a pas pathologie et l'on parle d'ostéopénie. Chez l'homme, la masse osseuse ne commence à décliner que vers 40-45 ans de façon régulière d'environ 0,5% par an. Cette évolution diffère chez la femme puisque la perte osseuse, faible avant la ménopause, s'intensifie sensiblement à partir du dernier cycle menstruel jusqu'à atteindre parfois une diminution de la masse osseuse de 3 à 5% par an dans les premières années de ménopause (figure 1.9). La mesure de la DMO permet de discriminer ostéopénie et ostéoporose (tableau de la figure 1.10).

1.1. LE SQUELETTE : UNE APPROCHE ANATOMIQUE ET FONCTIONNELLE

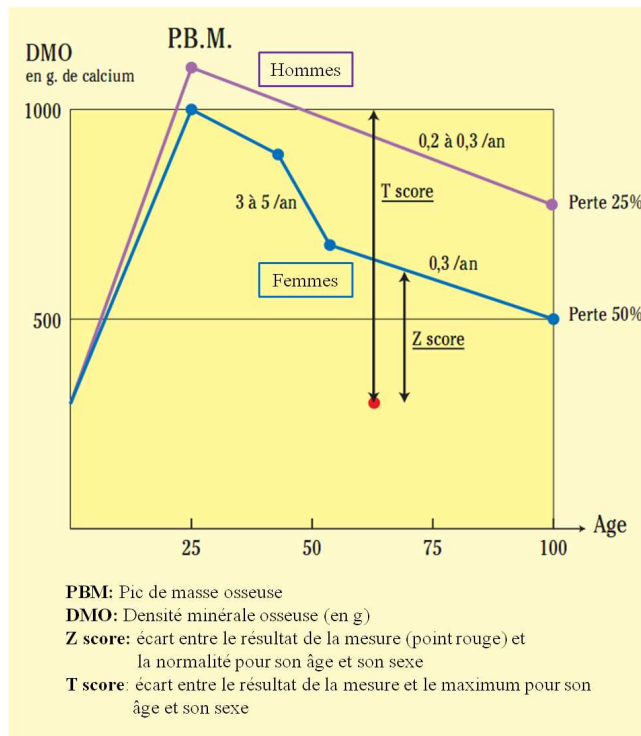


FIGURE 1.9 – Evolution schématique de la densité minérale osseuse (DMO) au cours d'une vie [25].

Perte osseuse	T-score
normale	> -1
ostéopénie	-1 à -2,5
ostéoporose	> -2,5
ostéoporose sévère	> -2,5 avec fracture

FIGURE 1.10 – Définition de la perte osseuse en fonction du T-score, OMS-1994.

1.1.3.1 Pathologies osseuses "marginales"

De nombreuses pathologies affectent le tissu osseux, parmi lesquelles la plus connue et la plus répandue est l'ostéoporose. Toutes ont pour conséquence commune une diminution de la résistance mécanique de l'os.

Ostéomalacie L'ostéomalacie est une maladie métabolique affectant l'ensemble du squelette. Elle se caractérise par un défaut de minéralisation de la matrice osseuse nouvellement formée, entraînant un excès de tissu ostéoïde. Il en résulte une fragilisation de l'os prédisposant à des fractures ou des fissures spontanées. Les étiologies sont multiples, mais la cause principale de l'ostéomalacie est la carence en vitamine D. Chez l'enfant, cette maladie est généralement appelée rachitisme [26]. Les signes cliniques sont multiples, peu spécifiques, d'intensité variable et dépendent notamment de l'âge du sujet et de la cause d'expression de la maladie. Malgré tout, les symptômes les plus souvent rencontrés sont des douleurs osseuses diffuses souvent dues aux fissures et une faiblesse musculaire. L'ostéomalacie n'est pas rare chez la femme âgée et peut s'ajouter à l'ostéoporose, accroissant ainsi la fragilité squelettique.

Ostéogénèse imparfaite L'ostéogénèse imparfaite (OI) est une maladie génétique également connue sous le nom de maladie des "os de verre". Due à une anomalie de la production de collagène de type I, elle a pour conséquence la fragilité du squelette et une faible masse

1.1. LE SQUELETTE : UNE APPROCHE ANATOMIQUE ET FONCTIONNELLE

osseuse favorisant la survenue de fractures spontanées (sans traumatismes majeurs). Cette fragilité du squelette ne provient pas d'une déficience en calcium, mais d'un problème de minéralisation de la matrice osseuse du fait de l'imperfection de la trame osseuse. L'OI n'est pas à proprement parler une maladie unique, mais regroupe plutôt un ensemble de pathologies osseuses. Elle se manifeste donc différemment d'un patient à l'autre. La classification de Sillence distingue les différents types d'OI selon la sévérité de l'atteinte squelettique [27]. Les sites anatomiques essentiellement concernés par les fractures sont les os plats (côtes et vertèbres) et surtout les diaphyses des os longs des membres inférieurs. La prévalence de l'OI est mal connue, mais est estimée à environ 1 pour 10000 à 20000.

Maladie de Paget Il s'agit d'une maladie osseuse localisée qui se caractérise par un remodelage du tissu osseux excessif et anarchique. Le processus pathologique débute par une accélération de l'activité ostéoclastique suivie d'une augmentation compensatrice de la formation osseuse. L'ensemble occasionne une désorganisation de la structure des os affectés (zone d'os "tissé" et/ou lamellaire), provoquant des déformations (os de plus grande taille, moins compact et plus vascularisé) et une fragilisation localisée du squelette. Les sites anatomiques les plus souvent visés par la maladie de Paget sont, dans l'ordre, la colonne vertébrale, le bassin, les membres inférieurs, les membres supérieurs et le crâne [28]. L'atteinte peut ne toucher qu'un seul os ou être multifocale (mais toujours locale, c'est à dire que l'os n'est pas affecté dans son ensemble). Malgré les variations de symptômes d'un patient à l'autre (avec de nombreux cas asymptomatiques), les signes cliniques les plus couramment observés concernent des douleurs osseuses, des problèmes arthritiques secondaires, des déformations osseuses et des complications neurologiques provoquées par la compression des tissus adjacents aux sites pagétiques [28, 29]. La maladie de Paget est constatée chez environ 3 à 4% de la population âgée de plus de 50 ans.

1.1.3.2 Ostéoporose

L'ostéoporose est la plus fréquente des pathologies osseuses. La définition donnée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) publiée en 1994 parle d'une "maladie généralisée du squelette, caractérisée par une baisse de la densité osseuse et des altérations de la microarchitecture trabéculaire osseuse, conduisant à une fragilité osseuse exagérée et donc à un risque élevé de fracture". Comme le font remarquer Fritton et Schaffler [30], le nom même d'ostéoporose, construit sur la notion d'augmentation de la porosité de l'os, illustre la reconnaissance précoce de l'influence de l'architecture sur la qualité de l'os. Cette maladie "silencieuse" car asymptomatique est multifactorielle. L'ostéoporose dite primitive est due à un défaut d'acquisition de la masse osseuse pendant l'enfance et plus particulièrement pendant la puberté, ou à une perte de la masse osseuse postménopausique ou liée à l'âge. Elle concerne en réalité deux types d'ostéoporose (d'après la classification de Rigg et Melton [31]). L'ostéoporose de type I, dite post-ménopausique, se caractérise par des fractures de Pouteau (extrémités inférieures du radius) et des fractures vertébrales essentiellement dus à la perte de tissu osseux trabéculaire. Elle survient habituellement entre 55 et 65 ans. L'ostéoporose de type II ou ostéoporose sénile survient en moyenne quinze ans plus tard et est diagnostiquée lors d'une fracture du col du fémur résultant de la perte osseuse corticale due au vieillissement et à une carence en calcium et vitamine D. Chez la personne âgée, les

1.1. LE SQUELETTE : UNE APPROCHE ANATOMIQUE ET FONCTIONNELLE

ostéoporoses de types I et II peuvent être concomitantes. L'ostéoporose secondaire, quant à elle, est la conséquence de maladies ou de traitements médicamenteux.

En France, l'ostéoporose touche essentiellement la population féminine : environ 40% des femmes sont concernées ; elles représentent 4/5 des personnes atteintes par cette maladie. Cependant, la population masculine n'est pas épargnée et connaît également en vieillissant une diminution œstrogénique (hormone essentielle dans la synthèse osseuse) ; 15% des cas de tassements vertébraux concernent les hommes. Le risque de fracture au-delà de 50 ans est estimé à près de 50% chez les femmes et 20% chez les hommes [32]. Cependant, si la prévalence des fractures ostéoporotiques est plus élevée chez la femme, la mortalité consécutive à ce type de fracture concerne davantage les hommes. Il est important de rappeler qu'il peut y avoir ostéoporose sans fractures. Néanmoins, la survenue de ces dernières peut se révéler particulièrement invalidante et surtout, associée à une perte d'autonomie des patients. Dans le cas de fractures vertébrales ou de la hanche, la surmortalité consécutive est retrouvée jusqu'à 5 ans après la fracture : 8% des hommes et 3% des femmes de plus de 50 ans décèdent pendant leur hospitalisation pour une fracture de la hanche [33].

L'ostéoporose entraîne une nécessité de soins qui augmente avec la perte d'autonomie dans le cas de fractures. En France, par exemple, surviennent chaque année 50000 à 70000 tassements vertébraux. De plus, le risque de morbidité est réel. On considère que 20% des cas de fractures de la tête fémorale entraînent le décès du patient l'année suivante. De façon plus prosaïque, les soins de santé engendrés ont un coût pour la société qui augmentent avec l'accroissement démographique. Bien que des traitements efficaces existent, toutes ces raisons justifient l'intérêt de trouver de nouvelles méthodes diagnostiques à cette maladie.

Ostéoporose et densité minérale osseuse Dans l'ostéoporose il n'y a pas d'augmentation de la quantité de tissu non minéralisé (ostéoïde) comme dans l'ostéomalacie ; autrement dit, la proportion de matière organique et non organique est respectée. Par ailleurs, l'absence de symptôme a longtemps amené cette maladie à n'être révélée qu'à la suite de fractures douloureuses la plupart du temps, comme lors d'un tassement vertébral. Ce dernier survient habituellement de façon spontanée ou après un traumatisme minime (toux ou effort pour se lever). Des fractures multiples entraînent une diminution de la taille, ainsi qu'une bosse caractéristique. L'observation d'un squelette ostéoporotique, ainsi que les signes cliniques sus-cités ont rapidement conduit les cliniciens à suspecter une perte de la masse osseuse ou une déminéralisation du tissu osseux (figure 1.11). Alors que des traitements commencent à voir le jour pour pallier cette déminéralisation (apports en calcium, vitamine D, biphosphonates et plus récemment, les traitements hormonaux substitutifs), il devenait important de pouvoir réaliser un diagnostic précoce. Ainsi, dès les années 1970-1980, les radiographies X classiques ont été supplantées par le développement de dispositifs permettant une quantification de la DMO. Ces techniques sont décrites plus en détails dans la dernière partie de ce chapitre (partie 1.3). Basée sur l'absorption des rayons X par le tissu osseux, la densitométrie fournit un paramètre quantitatif, la DMO (en g/cm^2) ou le contenu minéral osseux (CMO, en g).

Ces résultats sont interprétés à travers deux indices : le Z-score et le T-score (figure 1.9). Le Z-score représente la différence entre la valeur mesurée (celle du patient) et la valeur

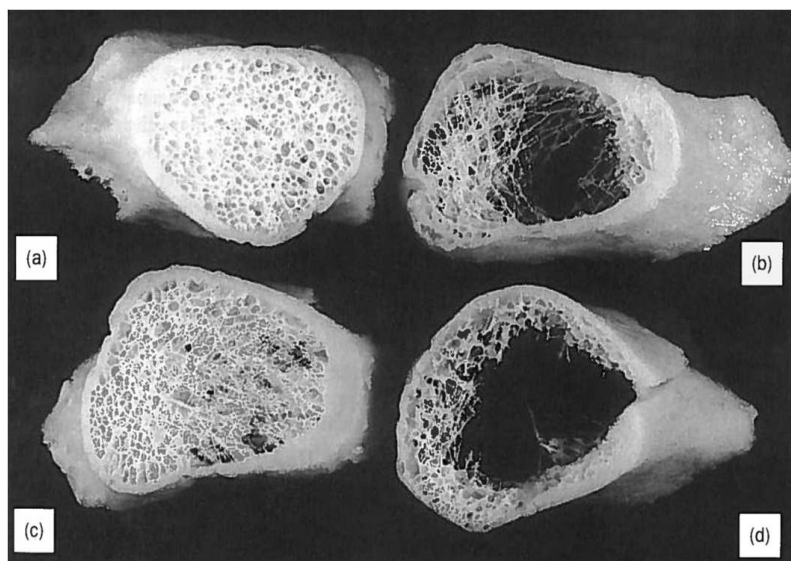


FIGURE 1.11 – Photographie de coupes de 1 cm d'épaisseur de diaphyses fémorales (a) d'une femme de 23 ans ; (b) d'un homme de 82 ans ; (c) d'un homme de 79 ans ; (d) d'une femme de 69 ans. Ces comparaisons illustrent la perte dramatique de la masse osseuse trabéculaire et corticale liée à l'âge chez les deux sexes, avec une perte de connectivité du réseau trabéculaire davantage prononcée chez la femme. Illustration issue du livre de Njeh *et al.* [34].

moyenne (de la population de référence du même sexe) au même âge. Le T-score compare également la mesure du patient à une référence cette fois, évaluée chez l'adulte jeune du même sexe, c'est-à-dire appartenant à la classe d'âge 20-30 ans. La DMO du patient est donc située par rapport au pic de masse osseuse moyen (tableau de la figure 1.10). Cependant, à DMO équivalente, le risque fracturaire augmente avec l'âge [35]. Par exemple, pour une densité osseuse comprise entre 0,70 et 0,79 g/cm, le risque de fracture moyen évalué chez une femme de 75 ans sera de 70/1000, contre seulement 10/1000 chez une femme de 45 ans. Parmi les facteurs de l'ostéoporose, la définition de l'OMS fait valoir les modifications micro-architecturales de l'os trabéculaire. Une hypothèse supplémentaire à l'augmentation de la fragilité ostéoporotique évoque depuis quelques années des changements dans les propriétés mécaniques du tissu osseux, parmi lesquels, l'accumulation de micro-endommagements [36]. La connaissance des conditions de création des microfissures *in vivo* et d'accumulation du micro-endommagement dans l'os apparaît donc fondamentale pour la compréhension des fractures ostéoporotiques atraumatiques.

1.2 Description du micro-endommagement osseux

La DMO seule permet d'expliquer près de 70% des variations des propriétés mécaniques du tissu osseux. Néanmoins, ce paramètre n'est pas suffisant pour discriminer les sujets à risque de fractures ostéoporotiques [37]. Parmi les différents facteurs affectant la résistance osseuse, le micro-endommagement peut, dans le cas de pathologies osseuses comme l'ostéoporose, s'accumuler et provoquer une diminution de la résistance mécanique de l'os [38].

L'os sain est conçu pour supporter les charges et les sollicitations quotidiennes. Cepen-

dant, comme la plupart des matériaux composites, il présente une faible résistance à la propagation des fissures. Au contraire des matériaux de synthèse, l'os possède la faculté de se régénérer et assure donc le maintien de sa qualité et de son intégrité structurale. Dès 1960, Frost [39] a observé la présence de microfissures dans le tissu osseux sain. Ce micro-endommagement natif résulte des sollicitations mécaniques quotidiennes du tissu osseux induites par fatigue. C'est également Frost qui suggère le premier l'apparition des microfissures comme déclencheur d'un remodelage osseux ciblé par l'intermédiaire des ostéocytes et de leurs prolongements cytoplasmiques. D'un point de vue mécanique, la présence de micro-endommagements a son importance puisqu'elle assure la dissipation de l'énergie des contraintes mécaniques en jouant le rôle d'amortisseur et en créant un assouplissement du matériau. Cependant, son accumulation, suspectée pathologique, traduit un déséquilibre du renouvellement du tissu osseux. La compréhension des mécanismes de la fracture osseuse, particulièrement à l'échelle ultrastructurale, a été facilitée par le développement de moyens de mesure de la qualité osseuse. Parmi celles-ci, les techniques de microscopie et de spectroscopie permettent l'observation directe de l'initiation et de la propagation des fissures.

1.2.1 Origine et types de micro-endommagements

Le micro-endommagement est créé par la répétition de contraintes mécaniques de faible amplitude. Son accumulation peut conduire à des fractures de fatigue, résultats de la coalescence des microfissures entre elles [40]. Il se présente sous deux formes distinctes, communes à l'os trabéculaire et l'os cortical :

- la fissure linéique : de taille intermédiaire, plus grande que les canalicules, mais plus petite qu'un canal vasculaire d'environ $100\ \mu\text{m}$, elle peut se retrouver également sous la forme de réseaux de fissures linéiques croisées ou parallèles ;
- l'endommagement diffus : il regroupe un ensemble de fissures sub-microscopiques (longueur d'une dizaine de μm [41]).

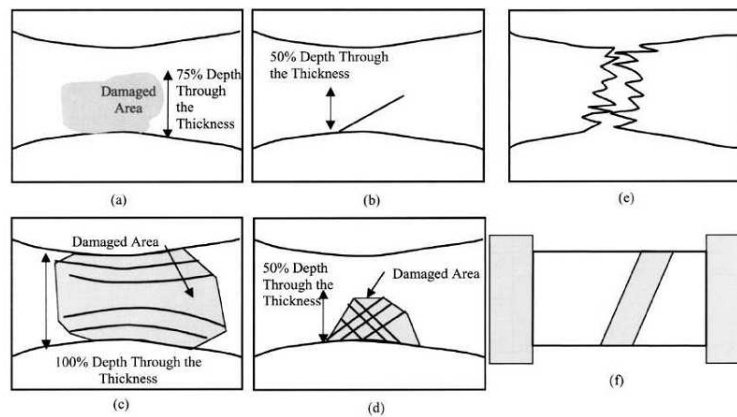


FIGURE 1.12 – Formes et localisations de micro-endommagements dans l'os trabéculaire : (a) endommagement diffus, (b) fissure linéique (oblique), (c) fissures linéiques parallèles, (d) réseau de fissures croisées, (e) rupture de travée, (f) bande d'endommagement visible sur un échantillon lors d'un essai mécanique de compression [42].

Ce classement n'est pas unique. Certains auteurs distinguent les fissures linéiques des fissures linéiques parallèles et des réseaux de fissures croisées [42] (figure 1.12). Il existe une

1.2. DESCRIPTION DU MICRO-ENDOMMAGEMENT OSSEUX

dernière forme de micro-endommagement propre à l'os trabéculaire, la rupture de travée. Cette dernière peut être réparée par un micro-cal osseux (figures 1.13 et 1.14) lorsque les bords de la travée cassée restent en contact.

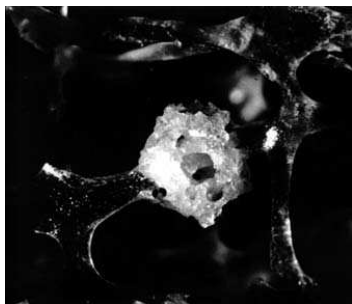


FIGURE 1.13 – Photomicrographie électronique d'un cal osseux consolidant une travée cassée [43].



FIGURE 1.14 – Micro-cal osseux connectant trois éléments de travées photographié en microscopie électronique à balayage [44].

Ellipsoïdales, les microfissures ont une épaisseur de l'ordre du micron et une longueur très variable, généralement de plusieurs dizaines de microns. Elles se localisent différemment selon le type de tissu osseux, cortical ou trabéculaire, en fonction de l'organisation micro-architecturale de celui-ci. De plus, l'os est un matériau multi-échelle et la charge physiologique qu'il subit interagit avec les différents niveaux d'organisation de la matrice extracellulaire osseuse, créant un micro-endommagement multi-échelle et hiérarchisé [45, 46]. Ainsi, les contraintes en tension ont une action davantage ciblée sur la structure sublamellaire, c'est-à-dire à l'échelle des fibres de collagène, à l'origine de l'endommagement diffus. Les contraintes en compression agissent quant à elles davantage sur les arrangements lamellaires et produisent en premier lieu de courtes micro-fissures linéiques.

1.2.2 Rôles du micro-endommagement

1.2.2.1 Rôle physiologique

Le micro-endommagement joue un rôle déterminant dans le déclenchement du remodelage osseux ciblé (figure 1.4) qui reste néanmoins mal connu. Cependant, plusieurs études ont fait ressortir l'importance des microfissures linéaires dans l'activation de la résorption osseuse [47, 48, 49, 50, 51, 52], au contraire de l'endommagement diffus. L'intensité et le type de sollicitations mécaniques supportées par l'os déterminent la création de micro-endommagements qui contribuent donc de façon essentielle à l'adaptation de la géométrie osseuse trabéculaire [53]. Tschantz et Rutishauser [54] ont les premiers prouvé expérimentalement le rôle déclencheur de l'endommagement créé par des contraintes répétitives sur l'adaptation de l'os.

D'autre part, l'inhibition du remodelage osseux [55, 56, 57] provoquée par certains traitements antiostéoporotiques comme les bisphosphonates (limitant la résorption osseuse) entraîne l'accumulation du micro-endommagement. Le vieillissement conduit également à une augmentation du taux de micro-endommagement [58, 59, 60] qui n'est cependant pas proportionnelle à l'âge. Ceci s'explique en partie par la grande variabilité du taux de renouvellement osseux au sein des populations vieillissantes.

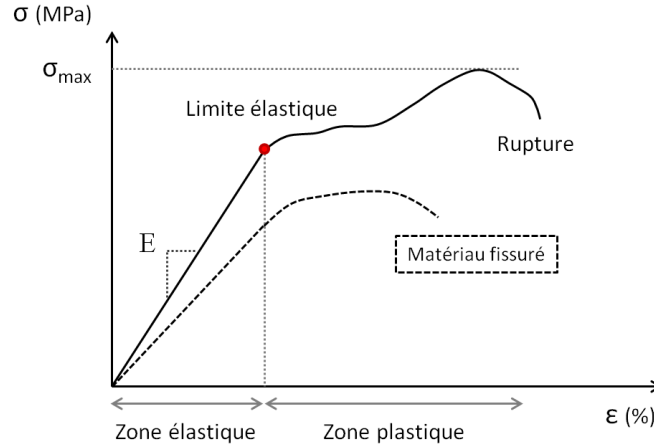


FIGURE 1.15 – Courbe contrainte (σ)- déformation (ϵ). La première partie linéaire a pour coefficient directeur le module d'Young E ; elle délimite la zone élastique. Au-delà de la limite élastique, le matériau est irréversiblement déformé ; on parle dans ce cas de plasticité. La résistance à la rupture diminue lorsque le matériau est fissuré.

1.2.2.2 Rôle mécanique

Par définition, l'accumulation de micro-traumatismes au sein d'un matériau ou d'une structure quelconque entraîne un assouplissement qui se traduit par la diminution de son module élastique. C'est le cas du tissu osseux dont la résistance à la rupture diminue lorsqu'il est soumis à des contraintes physiologiques répétitives provoquant l'accumulation de micro-endommagements (figure 1.15). Paradoxalement, la présence de micro-fissures favorise la capacité d'absorption des chocs en améliorant la quantité d'énergie dissipée par l'os (aire sous la courbe de contrainte-déformation). En effet, les microfissures présentes dans le matériau se comportent comme autant de micro-amortisseurs capables d'augmenter la déformabilité du matériau. Une accumulation anormale de microfissures pourrait engendrer un risque de fracture accru. En mécanique, la ténacité caractérise la capacité d'un matériau à résister à la propagation d'une fissure.

Bien que micro-endommagement osseux et risque de fractures ne soient pas encore clairement reliés, la conséquence du micro-endommagement sur l'altération des propriétés mécaniques de l'os a été observée dans plusieurs cas. Ainsi, Brown et Norman [61] constatent que l'accumulation de microfissures réduit significativement la ténacité de l'os en tension et peut donc diminuer la résistance à la fracture. D'autres auteurs ont montré que l'augmentation du taux de micro-endommagement (de 2 à 6 fois) associée à la suppression pharmaceutique du remodelage osseux entraîne un accroissement de la fragilité osseuse [55, 56, 57]. D'après Currey et *al.* [62], l'accumulation de microfissures sur l'ensemble du squelette aurait des conséquences plus importantes sur la ténacité que sur la résistance maximale à la rupture. Autant l'accumulation du micro-endommagement que la suppression du remodelage osseux tendent à fragiliser le squelette. En effet, les microfissures présentes ou en création dans le tissu osseux non renouvelé risquent davantage de s'agrandir pour finalement atteindre la taille critique de rupture de travée. La résistance à la fatigue de l'os est donc gouvernée en premier lieu par sa ténacité plutôt que par sa résistance à l'initiation de fissures [63].

1.2.3 Détection et quantification du micro-endommagement *in vitro*

Plusieurs techniques permettant la détection du micro-endommagement osseux, ainsi que sa quantification ont été développées. Elles utilisent des dispositifs de microscopie standard ou confocale, de rayons X ou gamma et permettent une visualisation des échantillons en 2D ou 3D. C'est sur les protocoles de préparation et de visualisation des échantillons qu'un effort particulier a été réalisé. En effet, ces techniques sont toutes confrontées à la difficulté de mise en oeuvre et de définition de paramètres pertinents en raison de la diversité des types de micro-endommagements (formes et dimensions) et de leur faible occurrence. Enfin, elles nécessitent toutes une bonne maîtrise de la préparation spécifique des échantillons qui doit notamment prévenir des artefacts de découpe. Il est en effet primordial de savoir distinguer l'endommagement présent *in vivo* de l'endommagement créé durant les différentes étapes de préparation des échantillons étudiés.

1.2.3.1 Microscopie

L'observation du micro-endommagement osseux présent *in vivo* a longtemps été effectuée au moyen d'une technique initialement développée par Frost [39] et améliorée par Burr et Stafford [64], qui utilise la microscopie classique en transmission associée à une coloration de l'échantillon à la fuchsine basique. Les échantillons étudiés sont plongés successivement dans des dilutions croissantes de fuchsine basique avec de l'éthanol, puis imprégnés dans du polyméthacrylate de méthyle (PMMA) avant la découpe finale de lamelles d'environ 100 μm d'épaisseur. La fuchsine basique est un colorant rouge violacé, insoluble dans l'eau, qui s'infiltre dans les défauts du tissu osseux (lacunes ostéocytaires, canalicules, canaux vasculaires et micro-endommagement) et possède des affinités chimiques fortes avec les protéines du collagène. Cette technique ne colore donc que les microfissures présentes dans l'os au moment du prélèvement. Malgré tout, certaines microfissures et déchirures du tissu osseux créées pendant les phases de découpe et de polissage des lamelles histologiques peuvent apparaître colorées en microscopie classique par transmission. Seule la variation de l'intensité lumineuse du microscope aide à discriminer les micro-endommagements natifs des artefacts de découpe. De plus, l'observation et la comptabilisation de l'endommagement sont généralement limitées à une surface intérieure de la lamelle, débutant un à deux millimètres des bords.

Une autre technique consiste à utiliser des fluorochromes pour la coloration des échantillons osseux. Ces substances chimiques colorantes ont la spécificité de se fixer sur des ions libérés à la surface des fissures après déchirure de la matrice osseuse minéralisée (Ca^{2+} , Na^+ et Mg^{2+}). Employés en microscopie à épifluorescence ou en microscopie confocale à balayage laser (MCBL), les fluorochromes émettent, après excitation lumineuse, à des longueurs d'ondes particulières (figure 1.16). De cette façon, il est possible de suivre la création ou l'agrandissement du micro-endommagement lors de tests mécaniques (tests de compression, de traction, de torsion ; tests quasi-statiques ou de fatigue) [65]. Il s'agit dans ce cas de colorer séquentiellement les échantillons testés mécaniquement avec différents fluorochromes ayant montré une affinité avec les ions du tissu osseux (Table 1.1).

Les méthodes utilisant la fluorescence améliorent la distinction entre microfissures et artefacts de coupe [67]. Un défaut notable de la microscopie à épifluorescence est la perte

1.2. DESCRIPTION DU MICRO-ENDOMMAGEMENT OSSEUX

Fluorochromes	Longueur d'onde d'excitation (nm)	Longueur d'onde d'émission (nm)	Couleur	Concentration (intraveineuse) (mg/kg)
Calcéine bleue	375	435	bleue	30
Xylénol orange	377	615	orange	90
Calcéine	495	540	verte	10
Alizarine complexone	580	625	rouge	30
Oxytétracycline	390	520	jaune	30

TABLE 1.1 – Longueurs d'onde d'excitation et d'émission des fluorochromes utilisés pour la détection du micro-endommagement osseux, ainsi que les couleurs d'émission correspondantes et les concentrations employées *in vivo* [66].

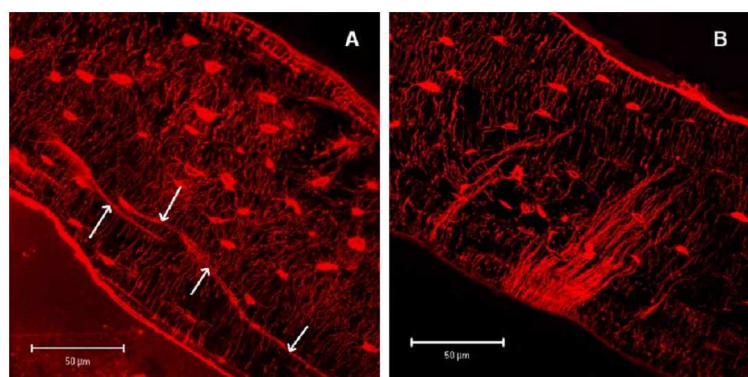


FIGURE 1.16 – Micro-endommagement du tissu osseux cortical (chez le rat) visualisé en MCBL. (A) Microfissures linéiques; (B) endommagement diffus ($\times 60$) [68].

de résolution de l'image due à l'excitation des fluorochromes se situant hors du plan focal. La MCBL remédie à cette faiblesse grâce à l'utilisation d'un faisceau laser, par définition quasi monochromatique, fortement focalisé et dont le réglage de la profondeur de champ est possible. Typiquement, la résolution dans le plan X-Y est de l'ordre du micron. De plus, la MCBL permet d'obtenir une imagerie tridimensionnelle, superposition d'images 2D de fines coupes de l'échantillon, sur une centaine de microns [41]. Elle a contribué à montrer la forme elliptique des microfissures. Néanmoins cette dernière technique fournit des images 3D à partir de lames histologiques d'épaisseur relativement faible et n'informe donc pas sur la distribution spatiale globale des microfissures.

Critères d'identification Suivant les classements morphologiques considérés (fissures linéiques, endommagement diffus, etc.), deux à cinq formes de micro-endommagement sont distinguées. Cependant, dans les faits, l'identification d'une microfissure n'est pas aisée et confronte l'observateur à une question récurrente, apparemment simple, mais néanmoins fondamentale : parmi les zones colorées se distinguant, lesquelles peuvent être considérées comme des micro-endommagements effectifs ? Autrement dit, se pose la difficulté de l'identification d'un artefact de préparation, de la coloration d'un canalicule ou autre structure normale du tissu osseux, ainsi que du dimensionnement caractéristique d'une fissure (taille, forme, luminosité). Pour cela, Burr et Stafford [64] ont établi la série de critères suivante :

1. Une microfissure est plus grande que les lacunes ostéocytaires et canalicules, mais plus petite que les canaux vasculaires du tissu osseux (dans le cas de l'os cortical) ;
2. Ses bords sont fins et nets avec une fixation précise du colorant sur les contours de la fissure ;
3. La coloration apparaît en faisant varier la profondeur d'observation de la coupe ;
4. Les bords de la fissure se révèlent de façon plus marquée que l'espace intermédiaire lorsque la profondeur du champ varie.

Malgré l'établissement de ces critères, la détection des microfissures requiert un réel savoir-faire et reste opérateur-dépendant. D'autre part, la capacité de fixation des agents colorants en surface des fissures est limitée, ce qui ne permet pas d'obtenir des images de très haute résolution. D'où, parfois, l'utilisation de la microscopie électronique à balayage (MEB) [69]. Cette technique d'observation du micro-endommagement à haute résolution est essentiellement utilisée dans des études qualitatives en raison du champ de vue particulièrement faible. Grâce à sa très haute résolution, la MEB est capable de mettre en évidence le micro-endommagement à l'échelle des lamelles osseuses.

Quelle que soit la technique de microscopie employée, ce moyen de détection du micro-endommagement est destructif.

Paramètres de mesure du micro-endommagement Le micro-endommagement osseux est généralement quantifié à partir de sections prélevées perpendiculairement à l'axe principal de l'os, c'est-à-dire l'axe principal de charge. Plusieurs paramètres sont définis, parmi lesquels ceux relatifs à la quantité de tissu osseux : la surface d'os trabéculaire de la lame histologique observée, B.Ar (bone area ; mm^2), correspondant au réseau de travées, et la surface totale de tissu osseux (travées et pores), TT.Ar (total tissue area ; mm^2). Ils permettent d'obtenir la fraction volumique de tissu osseux, BV/TV (bone volume fraction = B.Ar/TT.Ar, exprimée en pourcentage). Concernant directement les microfissures, leur nombre et leur longueur, respectivement Cr.N (crack number) et Cr.Le (crack length ; μm), sont relevés. Il est alors possible de calculer la densité de fissures, Cr.Dn (crack density = Cr.N/B.Ar ; $\#/\text{mm}^2$), et la densité surfacique de fissures, Cr.S.Dn (crack surface density = Cr.Le $\times$ Cr.Dn ; $\mu\text{m}/\text{mm}^2$).

Typiquement, la longueur des microfissures linéiques *in vivo* dans l'os trabéculaire humain est comprise entre 30 et 100 μm [59, 60, 64, 65, 67, 70]. Plusieurs études ont été menées sur la vertèbre humaine et ont mesuré une longueur de fissure linéique de l'ordre de 80 μm . Par comparaison, dans l'os cortical humain, elle peut atteindre le millimètre [24, 71, 72, 73]. La densité de fissures linéiques isolées *in vivo* mesurée varie entre 0,1 à 15 fissures par mm^2 dans le tissu osseux trabéculaire et cortical. Les réseaux de fissures linéiques croisées ne sont, la plupart du temps, pas pris en compte comme endommagement à part entière, mais détaillés en fissures linéiques individuelles [42].

La quantification de l'endommagement diffus s'exprime en mm^2/mm^2 ou en pourcentage surfacique de tissu osseux endommagé. La densité surfacique d'endommagement diffus *in vivo* est plus grande dans l'os trabéculaire vertébral (entre 5 et 50% [74]) que dans l'os cortical (entre 0,1 et 0,3% [46, 75]).

Les travées cassées du tissu osseux trabéculaire sont quantifiées par densité de ruptures de

travées, mais sont peu nombreuses. Dans l'os trabéculaire bovin, moins d'une rupture de travée par cm^2 a été observée [42, 76, 77].

1.2.3.2 Techniques d'identification tridimensionnelles

Les techniques de quantification du micro-endommagement bidimensionnelles sont relativement accessibles en ce qui concerne la préparation des échantillons. Si les techniques par MEB et MCBL restent des moyens onéreux, la microscopie classique en transmission et la microscopie à épifluorescence sont largement utilisées. Pourtant, l'histomorphométrie 2D ne fournit qu'une information partielle sur la taille et la morphologie complexe du micro-endommagement et constitue un travail fastidieux. Bien qu'elle permette d'obtenir une imagerie micrométrique tridimensionnelle du micro-endommagement, la MCBL n'est pas abordée dans ce paragraphe en raison du faible volume d'échantillon investigué pouvant être reconstruit.

La microtomographie par rayons X sonde l'échantillon osseux par plans de coupe successifs sous différents angles de vue, dans l'objectif d'une reconstruction numérique tridimensionnelle constituée de voxels isotropes. Cette technique a beaucoup été utilisée pour l'évaluation de la micro-architecture osseuse [78, 79, 80, 81, 82, 83] avant d'être appliquée à la quantification du micro-endommagement osseux [66, 84, 85, 86]. Dans ce cas particulier, il faut recourir à des agents de contraste se fixant sur les parois des fissures et contenant des atomes de métaux lourds (baryum, plomb,...) capables d'absorber les rayons X. Le contraste des microfissures est de cette façon augmenté et la faible résolution de l'appareil de microtomographie par rayons X palliée (figure 1.17). Cette technique donne une estimation tridimensionnelle de la densité et de la répartition spatiale du micro-endommagement, mais ne permet pas sa description qualitative (morphologie, dimensions). La microtomographie par rayonnement synchrotron permet une imagerie 3D haute résolution adaptée à la détection du micro-endommagement [87, 88, 89] (figure 1.18). Cependant, cette technique est fortement ionisante et coûteuse, ce qui limite son utilisation.

Dans tous les cas, et quelle que soit la technique de détection utilisée, la quantification du micro-endommagement osseux nécessite d'établir une méthode de comptage des microfissures et de la surface d'endommagement diffus. Est-il possible en effet d'attribuer le même "poids" à tous les types d'endommagement ? Et si ça n'est pas le cas, faut-il pondérer chaque micro-endommagement en fonction de sa longueur ou de son orientation par exemple ? Cette question ouverte tend à être résolue au travers de travaux de recherche portant sur la relation entre micro-endommagement et résistance mécanique de l'os.

1.2.4 Etudes du micro-endommagement *in vitro*

De nombreuses études combinant tests mécaniques et mesures histologiques ont été mises en oeuvre pour comprendre le lien entre les mécanismes régissant la création et la propagation des différents types de micro-endommagements et établir une relation entre le micro-endommagement observé et ses effets sur les propriétés mécaniques du tissu osseux. Les modes de sollicitations peuvent être multiples : traction, compression, flexion et toute autre combinaison de ces trois modes. La fatigue mécanique en traction, en compression ou tout autre modalité, représente très certainement la meilleure modélisation des sollicitations

1.2. DESCRIPTION DU MICRO-ENDOMMAGEMENT OSSEUX

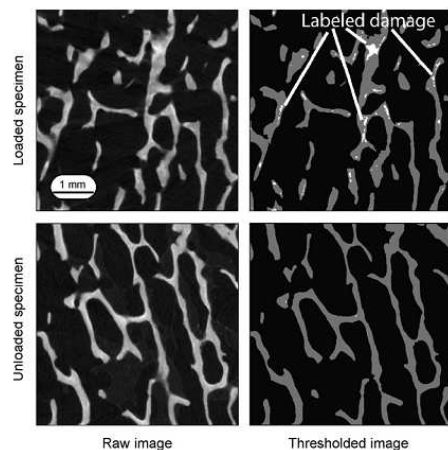


FIGURE 1.17 – Images microtomographiques filtrées (à gauche) et seuillées (à droite) de microfissures d'un échantillon osseux trabéculaire marqué par un agent de contraste (BaSO_4). Les microfissures correspondent aux zones de plus grande atténuation des rayons X, blanches sur les images seuillées [85].

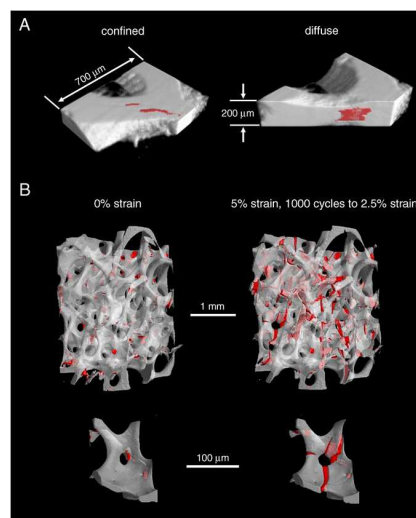


FIGURE 1.18 – Détection 3D du micro-endommagement (en rouge) par imagerie haute résolution au synchrotron. (A) Un plan de coupe virtuel dans la fissure linéique qui apparaît confinée (à droite), la présente sous forme diffuse. (B) Détection du micro-endommagement dans un échantillon avant et après une sollicitation mécanique en compression [87].

mécaniques répétitives, de fréquence et d'amplitude variables, subies quotidiennement par l'os (marche, course à pied, etc.). Elle est en partie responsable du micro-endommagement observé dans le tissu osseux. En mécanique, l'essai de fatigue est utilisé pour la caractérisation et l'étude du vieillissement des matériaux.

1.2.4.1 Essais mécaniques : création du micro-endommagement

Partant de l'hypothèse que la dégradation des propriétés mécaniques de l'os est corrélée à l'accumulation du micro-endommagement, il est avant tout nécessaire de caractériser le comportement mécanique de l'échantillon osseux lors d'un chargement type rampe par exemple, comme illustré sur la figure 1.19. Les deux courbes de contrainte-déformation présentées sont le résultat d'essais de traction uniaxiale quasi-statique menés sur deux échantillons d'os cortical (l'os trabéculaire possède le même type de comportement). Trois phases y sont clairement identifiées :

1. la partie linéaire qui caractérise le comportement élastique de l'échantillon,
2. la phase d'accumulation du micro-endommagement, dite plastique (transformation irréversible des propriétés mécaniques de l'échantillon),
3. la phase de propagation des microfissures, conduisant à une coalescence fatale de ces dernières, provoque des macrofractures de l'échantillon, jusqu'à la rupture.

Il ressort également que le comportement contrainte-déformation est dépendant de l'échantillon osseux considéré. Dans le cas de la figure 1.19, un des échantillons présente un comportement dit ductile (longue phase de déformation plastique avant la rupture), tandis que l'autre, fragile, se fracture beaucoup plus rapidement. De façon générale, la

1.2. DESCRIPTION DU MICRO-ENDOMMAGEMENT OSSEUX

réponse mécanique varie en fonction de la nature de l'échantillon bien entendu (cortical ou trabéculaire), de sa préparation (découpe, dimensions), mais surtout de la qualité du tissu osseux (minéralisation, micro-endommagement natif, qualité du collagène...).

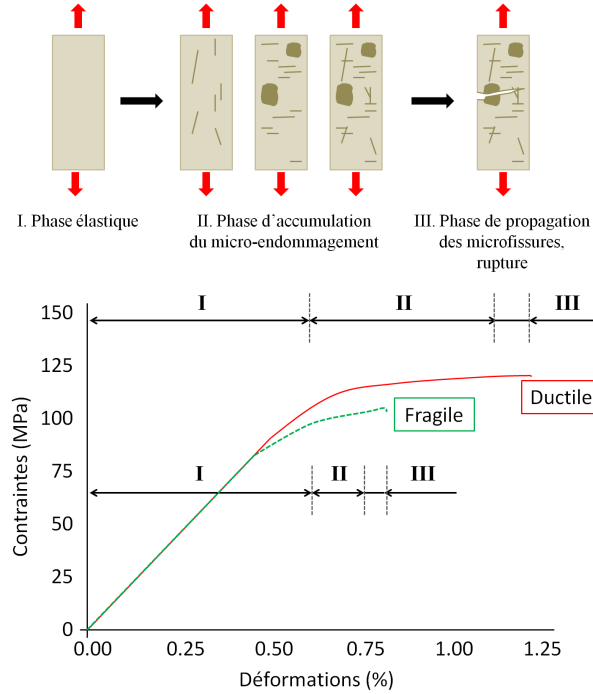


FIGURE 1.19 – Courbes de contrainte-déformation de deux échantillons de tissu osseux cortical présentant pour l'un, un comportement fragile et pour l'autre, un comportement ductile lors d'un essai de traction uniaxiale quasi-statique (flèches rouges) [90].

Lors d'un essai mécanique entraînant l'endommagement (micro ou macroscopique) de l'échantillon, plusieurs paramètres peuvent témoigner quantitativement des modifications de ses propriétés mécaniques, comme la déformation résiduelle ou la diminution de la valeur du module d'Young. Différents types d'essais mécaniques conduisent à un endommagement de l'échantillon : l'essai quasi-statique en traction, en compression, en fluage (déformation du matériau soumis à une contrainte constante) ou en relaxation (maintien d'une déformation constante) et l'essai de fatigue (contrainte ou déformation sinusoïdale de faible amplitude).

La plupart du temps, le paramètre intrinsèque au matériau choisi pour témoigner de l'état d'endommagement est le module d'Young (aussi appelé module élastique, E). Ainsi, la loi de Hooke, reliant contrainte et déformation peut s'écrire :

$$\sigma = E_0 (1 - D) \epsilon,$$

où σ , ϵ et E_0 représentent respectivement, la contrainte, la déformation et le module élastique initial. D , le paramètre d'endommagement, est souvent interprété comme le rapport entre la surface endommagée et la surface totale. Le module effectif de l'échantillon peut alors être défini de la façon suivante : $E_{\text{effectif}} = E_0 (1 - D)$. Sa mesure est très répandue

pour la caractérisation de la dégradation des propriétés mécaniques d'un échantillon. Dans les études mécaniques s'intéressant à la création du micro-endommagement osseux, les tests quasi-statiques ou cycliques (en fatigue) sont stoppés soit à la rupture de l'échantillon, soit en amont, pour une valeur définie du paramètre D , par exemple 50-60%, correspondant à une diminution de la valeur du module élastique de 40 à 50%.

Il semble évident que les propriétés mécaniques des tissus osseux cortical et trabéculaire se ressemblent peu. Comme mentionné précédemment, il ne répondent pas aux mêmes contraintes physiologiques et ne développent donc pas la même organisation structurale, ni la même minéralisation. Lee *et al.* [91] ont montré que la création de micro-endommagements est proportionnelle à la charge subie par l'os, le nombre de cycles et la température. Le degré d'hydratation du tissu osseux possède également un impact sur la création de micro-endommagements mécaniquement induits. Plusieurs paramètres sont donc à prendre en compte avant de mener un test mécanique de création d'endommagements [92].

Le type d'échantillon S'agit-il de caractériser de l'os trabéculaire ou de l'os cortical ? Ce dernier a fait l'objet de nombreuses études, probablement en raison de sa plus grande homogénéité, mieux adaptée à la découpe d'une éprouvette mécanique. D'autre part, l'aspect compact de l'os cortical permet d'étudier le micro-endommagement sur un plus grand volume de tissu osseux. Enfin, ce tissu se renouvelle moins souvent que l'os trabéculaire, permettant de faire l'hypothèse de la présence d'un nombre de microfissures *in vivo* plus élevé.

Le site anatomique L'origine du site anatomique est particulièrement importante pour le tissu osseux trabéculaire ; l'orientation et le type des travées pouvant varier considérablement selon que l'on considère la rachis ou la tête fémorale par exemple.

Le type de test Le nombre et le type de micro-endommagements peuvent varier selon le test mécanique mené : compression uniaxiale, traction uniaxiale, flexion, etc. La suite de cette section présente les relations mises en évidence dans la littérature entre micro-endommagements et tests mécaniques.

Le choix du paramètre de contrôle d'un essai de fatigue (contrôle en charge/contrainte ou en déplacement/déformation) est également important à prendre en compte. En effet, dans le cas d'un contrôle en charge, au fur et à mesure que le micro-endommagement s'accumule, on observe une diminution de la valeur du module élastique, impliquant une augmentation progressive de l'amplitude de déformation. D'autre part, la vitesse de déformation a un effet sur le taux d'endommagement créé et donc sur la diminution du module élastique. Enfin, le choix du nombre de cycles, de leur fréquence et de la durée de l'essai est primordial et a une influence particulière selon le type de chargement (traction, compression). Ainsi, lors d'un essai de fatigue en compression, c'est le nombre de cycles qui conditionnera sur le résultat de l'essai, tandis que pour une fatigue en traction, ce sera davantage la durée totale de l'essai [45].

L'os trabéculaire est un matériau mécaniquement complexe à tester. Sa grande porosité, par exemple, ne permet pas facilement la mise en place de l'échantillon entre les mords d'une machine de test de traction. La plupart des études biomécaniques ont donc été menées sur des éprouvettes cylindriques ou parallélépipédiques d'os trabéculaire testées en

compression. Néanmoins, ce type d'essais n'en est pas moins délicat à mettre en oeuvre, ne serait-ce qu'en raison de l'écrasement des travées en contact avec les plateaux de la machine de compression. Pour atténuer cette source d'artefacts (diminution artificielle du module d'Young et non-linéarité du pied de la courbe contrainte-déformation), Keaveny *et al.* [93] recommandent l'imprégnation des extrémités des échantillons dans des capuchons usinés dans un matériau de rigidité supérieure à l'os. Associée à un contrôle de l'essai en déformation, cette précaution permet d'éviter une perte de contact entre l'échantillon et les plateaux de la machine de test.

1.2.4.2 Relations entre morphologies du micro-endommagement et essais mécaniques

Les formes du micro-endommagement sont les mêmes *in vivo* et *in vitro* [41, 70] et les types de micro-endommagements observés dans l'os trabéculaire sont similaires à ceux de l'os cortical [94, 95, 96]. Les techniques d'observation du micro-endommagement utilisant les fluorochromes ont permis d'associer les formes de micro-endommagements aux contraintes mécaniques subies par le tissu osseux. Les différents types d'endommagements apparaissent souvent dans des zones particulières de l'os. Par exemple, les échantillons osseux soumis à des contraintes en flexion développent plutôt des microfissures linéiques dans les zones de compression et de l'endommagement diffus dans les zones de tension [97, 98, 99].

Dempster *et al.* [100] ont observé dans l'os cortical soumis à un essai de compression, la création de fissures obliques. L'angle d'orientation et le degré d'interaction des microfissures avec la microstructure dépendent de l'alignement des ostéons avec l'axe de charge principal. Des fissures se développent le long de l'axe longitudinal de l'échantillon, formant un angle de $\pm 30^\circ$ par rapport à l'axe de compression et leurs initiation et propagation ne semblent pas dépendre de la microstructure du tissu osseux. Au contraire, pendant un chargement en compression le long de l'axe radial ou tangentiel de l'échantillon, les microfissures créées sont presque parallèles à l'axe de chargement.

Lors d'un essai de traction, dans un premier temps et pour de faibles déformations (avant la limite élastique), des microfissures apparaissent alignées avec l'axe de chargement [101]. Elles se situent le long des lignes cémentantes, laissant penser que ces zones du tissu osseux développent très tôt des contraintes de cisaillement. L'os cortical soumis à des efforts de traction au-delà de la limite élastique présente des "lignes de tension" perpendiculaires à la direction de chargement de type endommagement diffus ou fissures linéiques. Le bord de ces fissures est mal défini, différant en cela des fissures obliques observées lors d'un chargement en compression, dont les bords apparaissent nets.

Des essais mécaniques de torsion ont également été menés sur l'os. Dans l'os cortical, l'endommagement créé se situe dans le tissu interstitiel, le long des lignes cémentantes et à l'intérieur des ostéons. En raison du nombre important de fissures de cisaillement créées par une torsion (43,3 microfissures/mm²), Jepsen *et al.* [101] concluent à la bonne aptitude de l'os cortical humain à conserver de telles fissures sans qu'elles ne s'agrandissent ou coalescent.

Dans tous les cas, il est important de noter que les paramètres mécaniques mesurés lors

d'essais mécaniques sont sensibles à de nombreuses variables, parmi lesquelles la température, l'orientation des travées lors de la découpe, l'hydratation de l'échantillon osseux ou encore son alignement avec l'axe de la charge.

1.3 Techniques d'investigation *in vivo* du tissu osseux et du micro-endommagement

1.3.1 Les limites des techniques standards

Cette section présente brièvement les techniques les plus utilisées pour la détection de l'ostéoporose aujourd'hui, *in vivo*. Ces techniques sont essentiellement liées à la mesure de la densité minérale osseuse, facteur expliquant 60 à 70% de cette pathologie, mais pas toujours de manière satisfaisante chez certains sujets. En effet, la littérature rapporte des cas de patients présentant une très faible DMO et n'ayant pourtant souffert d'aucun tassement vertébral, ni fracture ostéoporotique au cours de leur vie. A l'inverse, des sujets ayant une DMO considérée normale peuvent se rompre le col du fémur à la suite de traumatismes de faible intensité.

1.3.1.1 Ostéodensitométrie par rayons X

Les techniques utilisant les rayons X sont basées sur la mesure de l'atténuation du faisceau de rayons X passant à travers l'os et les tissus mous. Pour une quantité fixe de tissus mous, le faisceau sera d'autant plus atténué que la masse osseuse traversée est importante. L'absorptiométrie par rayons X permet de quantifier le CMO total dans le volume scanné, projeté sur un plan (détecteurs); ce qui donne *in fine* la valeur de la DMO surfacique (en g/cm^2). L'absorptiométrie biphotonique à rayons X (DEXA, Dual-energy X-ray absorptiometry) est la méthode de référence pour le diagnostic du risque de fracture chez les personnes ostéoporotiques. L'avantage de cette technique réside dans sa capacité à prendre en compte la quantité variable de tissus mous entourant le site osseux considéré, grâce à la différence d'atténuation entre l'os et les tissus mous en fonction des rayonnements X émis. La résolution spatiale des images obtenues est de l'ordre du millimètre. Les sites anatomiques mesurés sont les zones de prédilection des fractures ostéoporotiques, c'est-à-dire les vertèbres lombaires, le col du fémur ou la portion distale du radius (avant-bras). La précision et la reproductibilité de cette méthode sont très bonnes (3 à 5% et 0,5 à 2% respectivement) [102]. Cependant, elle ne permet pas de distinguer l'os trabéculaire de l'os cortical.

La tomodensitométrie quantitative (QCT, quantitative computed tomography) est une technique proche de celle de la DEXA permettant de mesurer la densité osseuse dans plusieurs plans pour obtenir un paramètre volumique exprimé par unité de volume (mg/cm^3). Elle a l'inconvénient d'être plus irradiante que la méthode DEXA et plus coûteuse. Le pQCT (peripheral QCT), avec une plus faible dose d'irradiation, est dédié à l'évaluation osseuse des sites périphériques comme les membres inférieurs et supérieurs (tibia, radius). Les images du tissu osseux obtenues permettent de distinguer l'os cortical de l'os trabéculaire et d'en évaluer l'épaisseur, la porosité et la DMO.

1.3. TECHNIQUES D'INVESTIGATION *IN VIVO* DU TISSU OSSEUX ET DU MICRO-ENDOMMAGEMENT

Malgré le bon indicateur de risque fracturaire que constitue la DMO, il existe un recouvrement important des mesures de ce paramètre entre les patients ostéoporotiques et ceux ne l'étant pas. En effet, comme expliqué précédemment, à DMO égale, le risque de fracture augmente avec l'âge. D'autre part, la relation entre DMO et risque fracturaire peut dépendre du site osseux évalué. Elle est par exemple plus significative dans le cas de fractures de la hanche que pour des fractures vertébrales [103]. Enfin, nous l'avons évoqué en préambule, d'autres facteurs interviennent dans la résistance osseuse : le remodelage osseux, la macro-architecture de l'os, la répartition de la masse osseuse, l'accumulation du micro-endommagement, la qualité du collagène, le degré de minéralisation de l'os, la microarchitecture trabéculaire osseuse, etc. [104].

1.3.1.2 IRM

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une des méthodes les plus développées pour accéder à la microarchitecture osseuse et ses modifications [105, 106, 107]. Cette technique non ionisante est basée sur le principe de résonance magnétique nucléaire (RMN) des atomes d'hydrogène (présents notamment dans les molécules d'eau, H_2O , et donc dans l'ensemble des tissus du corps humain). Placés dans un champ magnétique, les moments magnétiques des spins des protons finissent pas s'aligner selon la direction du champ⁴ ; le patient est "aimanté". L'application impulsionnelle de champs magnétiques d'amplitude plus faible, à une fréquence particulière (la fréquence de résonance des spins) vient ensuite perturber cet alignement et induire un mouvement de précession aux spins. La relaxation de l'aimantation des tissus mesurée après le passage des impulsions électromagnétiques perturbatrices dépend fortement de l'état des tissus et de leur proportion en eau. Les images obtenues par IRM ne sont pas directement celles des os, mais celles des tissus mous comme les muscles, la moelle osseuse et la graisse, à partir desquelles il est ensuite possible de déduire, en négatif, une représentation des os. L'IRM ne renseigne pas sur la DMO, mais la très bonne qualité des images obtenues permet l'étude de la microarchitecture osseuse. Néanmoins, cette technique n'est actuellement pas utilisée *in vivo* en raison des densités de flux magnétiques utilisées en diagnostic classique (environ 1,5 Tesla), trop faibles pour obtenir un rapport signal sur bruit satisfaisant pour l'évaluation de la microarchitecture. Notons qu'à partir d'images obtenues par IRM, des méthodes d'analyse de texture peuvent être menées pour caractériser la microarchitecture trabéculaire [108]. Par ailleurs, c'est une technique d'imagerie extrêmement coûteuse.

1.3.1.3 Les marqueurs du remodelage osseux

La perte osseuse étant la conséquence d'un déséquilibre entre l'activité des ostéoclastes et celle des ostéoblastes, des dosages biologiques ont été développés pour évaluer l'activité des deux types de cellules osseuses. Ces marqueurs biologiques sont bien entendu spécifiques à l'os et sensibles à de faibles variations du remodelage osseux. Ils sont généralement classés

4. En réalité, seule une très faible quantité de moments magnétiques nucléaires va s'aligner selon le champ magnétique émis (environ 0,001%), mais elle est suffisante pour être détectée. Les 99,999% restant présentent une orientation instable due à l'agitation thermique et se compensent statistiquement.

1.3. TECHNIQUES D'INVESTIGATION *IN VIVO* DU TISSU OSSEUX ET DU MICRO-ENDOMMAGEMENT

en marqueurs de formation (ostéocalcine, phosphatase alcaline osseuse et P1NP⁵) ou en marqueurs de résorption (désoxypyridinoline ou télopeptides associés) car ils représentent plus ou moins spécifiquement l'une ou l'autre des deux activités [29, 109, 110]. Cependant, les dosages sériques ou urinaires de ces marqueurs reflètent le renouvellement du squelette dans sa totalité, c'est-à-dire qu'ils ne permettent pas de distinguer le remodelage trabéculaire du remodelage cortical.

1.3.1.4 Techniques ultrasonores

L'utilisation des ultrasons pour l'exploration du tissu osseux permet potentiellement d'extraire des paramètres caractéristiques des propriétés mécaniques de l'os (module élastique), architecturaux (anisotropie) et en lien avec sa composition (densité). Les ultrasons quantitatifs (QUS, quantitative ultrasound), associés à la DEXA, ont pour objet l'amélioration du diagnostic de l'ostéoporose, à travers l'estimation de la résistance osseuse.

Non ionisantes, les techniques QUS utilisent deux paramètres que sont la vitesse de propagation et l'atténuation des ondes ultrasonores transmises à travers l'os. De façon générale, plus le matériau traversé est dense, plus les ultrasons se propageront vite. L'atténuation des ondes ultrasonores étant liée à la perte d'énergie de ces ondes dans le milieu, elle dépend de l'architecture et des propriétés physico-chimiques de ce milieu. Dans l'os trabéculaire, l'atténuation est complexe, elle résulte de la diffusion des ultrasons par les travées osseuses et de l'absorption visqueuse. On peut également observer une dispersion de la célérité en fonction de la fréquence, pour les os particulièrement denses. L'orientation et le nombre de travées influencent donc considérablement le paramètre d'atténuation. A cela s'ajoute l'effet d'absorption joué par la moelle osseuse et les tissus mous entourant l'os. D'autres part, le choix de la longueur d'onde ultrasonore détermine l'échelle d'exploration du tissu osseux.

Deux types de transmissions peuvent être utilisés : la transmission transverse pour les sites trabéculaires (calcanéum) [111, 112] et la transmission axiale dédiée à l'os cortical des os longs (tibia et radius) [34, 113]. La transmission transverse est l'approche la plus répandue et s'effectue sur les sites osseux périphériques facilement accessibles (calcanéum ou phalanges de la main). Les émetteurs et récepteurs ultrasonores sont disposés de part et d'autres du site squelettique étudié.

Malgré tout, les paramètres de vitesse de propagation et d'atténuation ne sont pas sensibles à la présence du micro-endommagement, dont la taille (voisine de la centaine de μm) nécessiterait l'usage d'une onde de très haute fréquence (supérieure à 25 MHz) très rapidement atténuées dans le tissu osseux.

1.3.2 Les nouvelles modalités ultrasonores

Actuellement, le niveau d'endommagement du tissu osseux n'est pas accessible de façon non-invasive. Or, ce niveau d'endommagement, lorsqu'il est élevé, intervient dramatiquement sur les propriétés mécaniques (élasticité, contrainte maximale et ductilité) de l'os. Des méthodes d'acoustique non-linéaire appliquées à différents matériaux (comme les

5. Propeptide N-terminal du procollagène de type I

1.3. TECHNIQUES D'INVESTIGATION *IN VIVO* DU TISSU OSSEUX ET DU MICRO-ENDOMMAGEMENT

roches) ont été développées pour y accéder et ont présenté des résultats prometteurs [114]. En effet, la présence d'inhomogénéités mésoscopiques⁶ telles que les microfissures ou les contacts entre grains, est responsable d'une très forte dépendance de la célérité et de l'atténuation à l'amplitude de l'onde se propageant dans le matériau (il s'agit de non-linéarité acoustique). Le matériau fissuré peut alors être défini comme élastiquement non linéaire. Contrairement aux matériaux non-endommagés ou non granulaires, qui présentent des non-linéarités thermodynamiques, dites classiques, le matériau fissuré affiche des non-linéarités fortes, appelées non-linéarités "non classiques".

1.3.2.1 Une signature mécanique non linéaire

Afin de justifier l'introduction des méthodes d'acoustique non-linéaire pour la caractérisation des milieux inhomogènes, granulaires ou fissurés (contrôle non destructif, géophysique, etc.), cette section aborde la non-linéarité du point de vue de la caractérisation mécanique.

En mécanique, le comportement élastique d'un matériau est décrit par la relation phénoménologique de Hooke reliant contrainte et déformation :

$$\sigma = K_0 \epsilon, \quad (1.1)$$

où σ , K_0 et ϵ sont respectivement la contrainte, le module d'élasticité isostatique (ou de compression volumique) linéaire du matériau et la déformation. Cette loi caractérise la capacité du matériau à se déformer sous l'effet d'une contrainte, sans variation de sa structure interne ; si la contrainte disparaît, il retrouve sa forme initiale.

Lorsqu'un test de compression uniaxiale est effectué sur un matériau présentant des inhomogénéités "souples" dites mésoscopiques, un pied de courbe apparaît dans la relation contrainte-déformation (figure 1.20). Celui-ci provient d'un réarrangement de la structure interne du matériau sous l'effet de la contrainte : fissures qui se ferment, grains qui se réorganisent, etc. Cette non-linéarité se révèle pour de faibles amplitudes de déformations ($\epsilon \leq 10^{-3}$) et peut également présenter des effets non linéaires hystérétiques, dits non classiques. La figure 1.20 illustre la courbe contrainte-déformation d'un test de compression uniaxial quasi-statique effectué sur une roche [115]. Le comportement non linéaire non classique provenant des microfissures et des pores présents dans la roche ou des glissements de contact entre grains, se manifeste dans la partie I. La partie II délimite la zone de comportement élastique du matériau. Dans la partie III, des déformations irréversibles apparaissent, traduisant la création de microfissures et autres défauts dont la coalescence sera à l'origine de la rupture du matériau (au-delà du pic de compression (P)).

Les méthodes d'acoustique non linéaire ont trouvé naturellement leur place dans la caractérisation de ces matériaux complexes. En effet, les conditions de propagation d'une onde acoustique sont, entre autres, régies par le module de compression volumique K du milieu. Dans les matériaux fissurés ou granulaires, c'est l'utilisation d'ondes sinusoïdales d'amplitude finie qui a permis de mettre en évidence les phénomènes de non-linéarités

6. Eléments de la structure tels que des grains, des fissures, des pores ou des dislocations dont l'échelle spatiale se situe entre l'échelle microscopique des atomes et des molécules et l'ordre de grandeur des longueurs d'ondes acoustiques considérées.

1.3. TECHNIQUES D'INVESTIGATION *IN VIVO* DU TISSU OSSEUX ET DU MICRO-ENDOMMAGEMENT

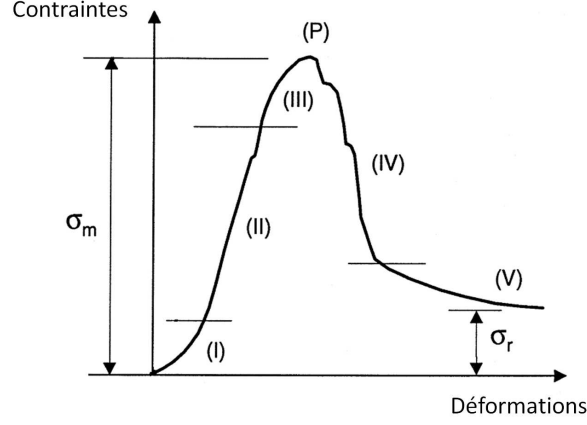


FIGURE 1.20 – Courbe contrainte-déformation obtenue lors d'un test en compression uniaxiale quasi-statique effectué sur de la roche [115]. σ_m : contrainte maximale, σ_r : contrainte résiduelle, (P) : pic de contrainte.

(apparition d'harmoniques de la fréquence centrale). Ceci a conduit à introduire un modèle du module élastique non constant, dépendant de l'amplitude de l'onde et qui permet d'expliquer l'apparition des harmoniques dans le spectre.

En procédant à un développement de Taylor, couramment arrêté à l'ordre 2, l'équation (1.1) devient :

$$\sigma = K_0 (1 + \beta\epsilon + \delta\epsilon^2 + \dots) \epsilon, \quad (1.2)$$

où β et δ sont respectivement les coefficients non linéaires classiques quadratique et cubique, introduits en acoustique non linéaire.

Si le matériau présente des non-linéarités hystérétiques ou non classiques, l'équation (1.2) est alors complétée par le paramètre non linéaire hystérétique α :

$$\sigma = K_0 \left(\epsilon + \beta\epsilon^2 + \delta\epsilon^3 + \frac{\alpha}{2} [2(\Delta\epsilon)\epsilon + \text{sign}(\dot{\epsilon})((\Delta\epsilon)^2 - \epsilon^2)] \right), \quad (1.3)$$

où $\dot{\epsilon}$ est la dérivée temporelle de la déformation et $\Delta\epsilon$, l'excursion maximale de déformation.

Les mécanismes physiques à l'origine de la non-linéarité non classique ne sont pas entièrement expliqués, mais une description phénoménologique employant l'espace de Preisach-Mayergoz a été proposée [116, 117, 118, 119]. Cette approche multi-échelle permet de modéliser l'équation d'état d'un matériau au comportement non linéaire non classique au moyen d'un nombre fini de cellules mésoscopiques (symbolisant le matériau). Chaque cellule est constituée d'un nombre important d'unités microscopiques (assimilables à des grains, contacts entre grains, etc.) qui se définissent par des états ouverts et fermés.

En acoustique, différentes approches ont été développées pour quantifier le degré de non-linéarité des matériaux. Nous en donnons ci-après un bref aperçu.

Acousto-élasticité L'acousto-élasticité étudie l'effet d'une contrainte statique (ou quasi-statique) sur la vitesse de propagation d'une onde acoustique "sonde". Cette dernière est de faible amplitude et vérifie le principe de linéarité.

1.3. TECHNIQUES D'INVESTIGATION *IN VIVO* DU TISSU OSSEUX ET DU MICRO-ENDOMMAGEMENT

L'application d'une pré-contrainte statique modifie les modules élastiques du matériau sollicité : la vitesse de propagation des ondes de compression, de cisaillement ou de surface augmente généralement lorsque le milieu de propagation se rigidifie sous l'effet d'une contrainte de compression [120, 121]. Dans le cas de milieux homogènes, la vitesse de propagation varie linéairement avec la contrainte appliquée. Au contraire, lorsqu'il y a présence d'inhomogénéités [122], cette relation n'est plus linéaire et peut présenter un comportement hystérétique pendant un cycle de compression. Les variations de vitesse mesurées peuvent prendre des valeurs nettement supérieures à celles observées dans les milieux homogènes. Un effet d'atténuation de l'onde sonde est également observé et de façon très importante dans les matériaux endommagés ou granulaires [123].

C'est une méthode dérivée de cette approche que nous avons choisie pour l'étude du micro-endommagement du tissu osseux trabéculaire. Elle sera présentée plus en détails dans le chapitre 2.

Génération d'harmoniques La propagation d'une onde acoustique de forte amplitude dans un milieu crée une distorsion du signal temporel comme nous l'avons vu précédemment. Celle-ci se traduit dans le domaine fréquentiel par un enrichissement du spectre fréquentiel (apparition d'harmoniques de la fréquence de l'onde acoustique émise), notamment dans les hautes fréquences. L'amplitude de ces harmoniques se révèle plus élevée dans des milieux microfissurés ou granulaires que dans les fluides et les solides homogènes. La distorsion de la forme d'onde est d'autant plus importante que la non-linéarité élastique du milieu est forte. A partir des amplitudes du fondamental et des harmoniques, on peut calculer les coefficients de non-linéarité acoustique.

Globalement, la non-linéarité observée dépend du niveau d'inhomogénéités présentes dans le matériau testé. Le spectre fréquentiel révèle la plupart du temps une harmonique 3 de plus grande amplitude que l'harmonique 2, ce qui n'est jamais le cas dans un matériau sans défaut. L'harmonique 3 peut donc signer la présence d'endommagement dans un matériau fissuré. De façon générale, l'avantage des paramètres non-linéaires, au contraire des paramètres linéaires de vitesse et d'atténuation, se situe dans leur sensibilité à la présence d'endommagement.

L'application de la méthode de la génération d'harmoniques au tissu osseux trabéculaire a été menée *in vivo* sur le calcanéum par Engan et Hoff [124]. La propagation d'une onde acoustique monochromatique en transmission transverse a permis de mesurer sur des patients ostéoporotiques des amplitudes de l'harmonique 2 supérieures d'environ 10 dB à celles mesurées chez des patients sains.

Renaud *et al.* [125] ont réalisé une mesure *in vitro* de la propagation d'une onde acoustique de 400 kHz à travers un calcanéum humain immergé dans l'eau révélant une amplitude de l'harmonique 3 supérieure à celle de l'harmonique 2 (figure 1.21).

Interaction non linéaire de deux ondes acoustiques En acoustique linéaire, il est d'usage de considérer que deux ondes acoustiques se croisent "sans se voir". Cette hypothèse n'est plus dès lors que l'on s'intéresse à l'acoustique non linéaire : plusieurs ondes traversant simultanément un même milieu vont interférer. L'interaction non linéaire de deux ondes acoustiques de fréquences très différentes ($\omega_1 \gg \omega_2$) génère une onde de fréquence ω_1 dont

1.3. TECHNIQUES D'INVESTIGATION *IN VIVO* DU TISSU OSSEUX ET DU MICRO-ENDOMMAGEMENT

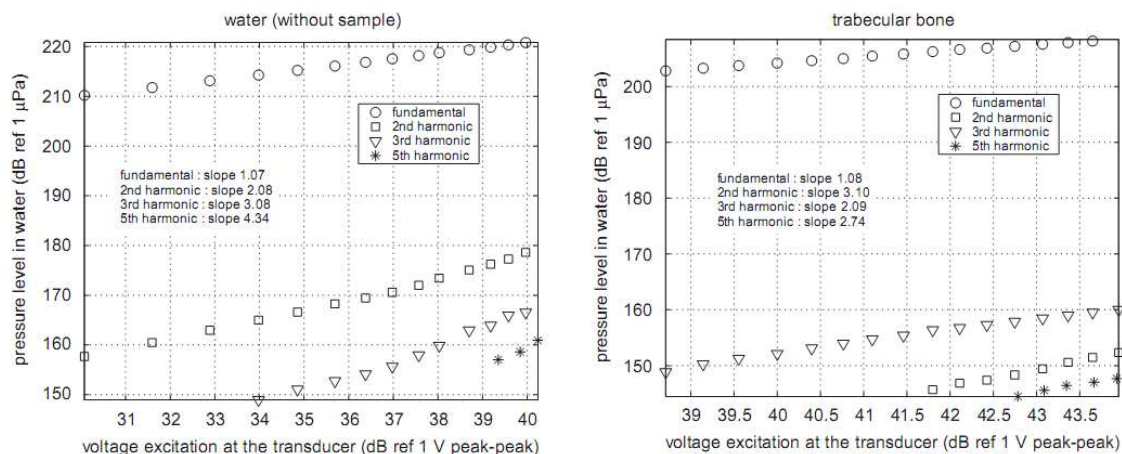


FIGURE 1.21 – Amplitudes du fondamental et des harmoniques 2, 3 et 5 mesurées dans l'eau (à gauche) et dans un calcanéum humain immergé dans l'eau (à droite) pour différents niveaux d'excitation.

l'amplitude est modulée à la fréquence ω_2 . Dans le cas où les deux fréquences sont proches, il y a création de deux ondes de fréquences somme ($\omega_1 + \omega_2$) et différence ($\omega_1 - \omega_2$).

Les méthodes d'interaction d'ondes acoustiques appliquées aux matériaux composites renforcés par fibres [126, 127], aux polymères, au PMMA (polyméthacrylate de méthyle) fissuré [128] et aux roches se sont révélées sensibles au micro-endommagement.

1.3.2.2 Applications récentes à l'étude du tissu osseux

Deux méthodes d'acoustique non linéaire ont été appliquées à l'investigation du micro-endommagement du tissu osseux *in vitro*. La première, NRUS (nonlinear resonant ultrasound spectroscopy), a été développée pour le tissu osseux cortical et est présentée dans la section suivante. La seconde, DAET (dynamic acousto-elastic testing) a été développée au laboratoire pour le tissu osseux trabéculaire. Cette dernière a été appliquée à l'étude du micro-endommagement du calcanéum.

Mesures sur les os longs : NRUS La spectroscopie ultrasonore par résonance non linéaire ou NRUS, étudie le comportement d'un échantillon en résonance. Elle mesure le décalage en fréquence induit par la présence d'inhomogénéités lorsque l'amplitude d'excitation du matériau varie. Ce décalage en fréquence permet de mesurer le paramètre non linéaire hystérétique α de l'équation (1.3) à partir de la relation suivante :

$$\frac{\Delta f}{f_0} = \frac{f - f_0}{f_0} \approx \alpha \Delta \epsilon \quad (1.4)$$

avec f , la fréquence de résonance de l'échantillon et f_0 , la fréquence de résonance pour une déformation de très faible amplitude (linéaire) [126].

Pour étudier le comportement résonant, l'échantillon subit un balayage en fréquence autour de ses modes de résonance. L'expérience est répétée pour des amplitudes d'excitation croissantes. Le paramètre α est extrait de la pente de la droite passant par les pics des

1.4. CONCLUSION

spectres fréquentiels superposés. Dans les matériaux granulaires ou endommagés, α est compris entre 10^2 et 10^4 .

La méthode NRUS a été appliquée *in vitro* à l'os cortical par Muller *et al.* [129, 130, 131] pour des diaphyses fémorales humaines. L'étude a été menée pour différents niveaux d'endommagement induit mécaniquement en compression par fatigue. Le paramètre non linéaire α augmente nettement avec le niveau d'endommagement, tandis que le paramètre linéaire de vitesse de propagation ultrasonore ne présente pas de variations significatives.

Mesures sur le calcanéum : DAET La méthode d'acousto-élasticité dynamique (DAET) a été développée au laboratoire sur le principe de l'interaction non linéaire de deux ondes acoustiques [132, 133]. Comme évoqué précédemment, le passage d'une onde d'amplitude suffisamment forte modifie localement et passagèrement les propriétés mécaniques du milieu (on parle d'onde "pompe"). L'envoi simultané d'une autre onde permet la lecture des variations des propriétés viscoélastiques et dissipatives du milieu. Cette onde est appelée onde "sonde". Nous nous intéressons aux variations de la vitesse de propagation de l'onde sonde liées aux modifications des propriétés mécaniques du milieu induites par l'onde pompe. Une description détaillée de la DAET fait l'objet du chapitre 2.

1.4 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons vu que l'os était un matériau vivant complexe, en perpétuel remaniement, permettant d'assurer de nombreuses fonctions vitales comme la locomotion, la protection des organes, mais également le stockage et la redistribution de minéraux.

Dans le cadre de l'ostéoporose, la fragilisation du tissu osseux trabéculaire passe par une diminution de la DMO et des modifications micro-architecturales (perte de connectivité des travées). Le diagnostic de l'ostéoporose se base sur des techniques d'estimation de la DMO, capable d'expliquer jusqu'à 70% des cas d'ostéoporose. Néanmoins le coût de ces techniques ou leur caractère invasif (expositions aux rayons X) ne permet pas un dépistage préventif systématique et la plupart du temps, cette pathologie silencieuse n'est détectée qu'à la suite d'une fracture ostéoporotique.

Depuis plusieurs années, une hypothèse supplémentaire quant à l'augmentation de la fragilité ostéoporotique, évoque l'accumulation de micro-endommagements. Bien qu'à l'heure actuelle on ne sache toujours pas s'il s'agit d'une cause ou d'une conséquence de cette pathologie, le lien entre accumulation des microfissures et ostéoporose semble avéré.

L'adaptation de techniques ultrasonores non linéaires pour la détection du micro-endommagement dans le tissu osseux trabéculaire, a révélé un fort potentiel pour le diagnostic non-invasif de la résistance osseuse. Dans ce contexte, une méthode d'acousto-élasticité dynamique a été développée au laboratoire. Sa présentation détaillée et le cadre théorique de l'acousto-élasticité sur lequel elle repose, font l'objet du chapitre 2 de cette thèse.

1.4. CONCLUSION

Chapitre 2

La technique d'acousto-élasticité dynamique

Sommaire

2.1	Etat de l'art de l'acousto-élasticité	52
2.1.1	Propagation des ondes élastiques dans un matériau	52
2.1.2	Acousto-élasticité : principe et application	55
2.2	Méthode dynamique d'acousto-élasticité : DAET	62
2.2.1	Principe général	62
2.2.2	Paramètres non linéaires de la méthode DAET	67
2.2.3	Application de la méthode DAET à un milieu de référence : l'eau	70
2.2.4	Caractérisation du dispositif	73
2.3	Conclusions	79

Les paramètres de l'acoustique linéaire habituellement utilisés, tels que la vitesse de propagation, l'atténuation, les coefficients de transmission et de réflexion, s'ils permettent la mesure d'un grand nombre de propriétés mécaniques, se sont révélés peu sensibles à la présence d'inhomogénéités (de types fissures, inclusions, etc.) dans les matériaux. Une méthode d'acousto-élasticité dynamique, DAET (Dynamic Acousto-Elasticity Testing) a été développée au laboratoire par Renaud *et al.* [125, 132, 133] pour détecter le micro-endommagement dans le tissu osseux trabéculaire. La DAET utilise le couplage de deux ondes acoustiques pour sonder un milieu testé dans différents états de contrainte. Pour cela, des paramètres significatifs de l'effet acousto-élastique, reliés aux modulations du temps de propagation et de l'atténuation d'une onde acoustique, sont calculés. Ce chapitre s'ouvre sur un rapide état de l'art de l'acousto-élasticité, avant de présenter en détails le principe de la méthode DAET et sa validation dans l'eau, milieu de référence.

2.1 Etat de l'art de l'acousto-élasticité

Dans le cadre de la théorie linéaire de propagation acoustique, la vitesse de propagation à travers un milieu est supposée constante. Si l'amplitude de l'onde peut diminuer en raison de phénomènes de dissipation et de diffraction, en revanche, l'onde acoustique ne subit aucune distorsion lors de sa propagation. Ni la densité, ni l'élasticité du milieu ne dépendent de l'amplitude de l'onde. Une telle approche n'est donc valable qu'à la condition de considérer que les variations de pression et de température engendrées par le passage de l'onde n'affectent pas les caractéristiques mécaniques du milieu (élasticité, densité); ce qui ne peut être le cas que pour une onde de faible amplitude.

Or, lorsqu'une pré-contrainte est appliquée à un milieu, les modules élastiques de ce dernier varient. C'est sur ce principe physique qu'ont été construites les deux disciplines que sont l'acousto-élasticité et l'acoustique non linéaire. Cependant, dans le cas de l'acoustique non linéaire, la non-linéarité des modules élastiques est provoquée par le passage d'une onde acoustique de forte amplitude (ou d'amplitude "finie") dans le milieu. L'acousto-élasticité, quant à elle, étudie l'effet de contraintes quasi-statiques extérieures sur le milieu sondé par une onde acoustique de faible amplitude (non perturbatrice), ne modifiant pas les caractéristiques du milieu. Les contraintes dynamiques mises en jeu par l'onde d'amplitude finie, à l'origine de la non-linéarité acoustique, sont néanmoins très en-deçà des valeurs de pré-contraintes quasi-statiques utilisées en acousto-élasticité (de plusieurs ordres de grandeurs).

2.1.1 Propagation des ondes élastiques dans un matériau

La propagation d'une onde acoustique (donc mécanique) se caractérise par la perturbation d'un milieu élastique. Ce concept d'élasticité est construit sur l'hypothèse des petites déformations d'un milieu matériel, qu'il soit fluide (gaz ou liquide) ou solide, permettant de linéariser les équations de propagation (conservation de la matière, de la quantité de mouvement et de l'énergie). Dans ce cas idéal, la déformation du milieu est proportionnelle à la force appliquée et réversible. Cette notion de réversibilité implique le recouvrement du milieu de ses dimensions initiales (conservation de son intégrité) après l'arrêt de la

sollicitation extérieure. La propagation d'une onde élastique idéale provoque localement et temporairement un mouvement des particules autour de leur position d'équilibre, sans modifier l'état mécanique de la matière après son passage.

Elasticité dans les fluides Dans le cas des fluides, les grandeurs mécaniques à considérer sont la pression hydrostatique et le volume. L'élasticité d'un tel milieu est caractérisée par le coefficient de compressibilité χ_s . Celui-ci relie la variation de volume du fluide $\delta(dV)$ induite par une variation de pression δp (par rapport à la valeur au repos p_0) :

$$\chi_s = -\frac{1}{dV} \left(\frac{\delta(dV)}{\delta p} \right)_s \quad (2.1)$$

$$\text{ou} \quad \delta p = -\frac{1}{\chi_s} \left(\frac{\delta(dV)}{dV} \right)_s \quad (2.2)$$

Les phénomènes de propagation acoustique dans des fluides homogènes et indépendants du temps¹ sont généralement considérés adiabatiques (l'entropie s est constante). Dans le cas unidimensionnel, l'équation de propagation caractéristique d'une onde de pression s'écrit :

$$\frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = \frac{1}{\rho_0 \chi_s} \frac{\partial^2 p}{\partial x^2}, \quad (2.3)$$

$$\text{avec} \quad c_0 = \sqrt{\frac{1}{\rho_0 \chi_s}}. \quad (2.4)$$

c_0 définit la vitesse de propagation des ondes acoustiques et ρ_0 représente la masse volumique du milieu à l'équilibre. D'autre part, la pression de l'onde acoustique peut être définie par la relation

$$p = c_0^2 \rho, \quad (2.5)$$

où ρ est la fluctuation de la masse volumique autour de sa valeur d'équilibre ($\rho = \rho_{totale} - \rho_0$).

Elasticité dans les solides Nous considérons ici l'étude du comportement dynamique d'un solide élastique dans l'hypothèse des petites déformations. Pour un solide, les grandeurs mécaniques considérées sont la contrainte et la déformation. Dans le cas particulier où la longueur d'onde acoustique est grande devant les distances interatomiques du solide homogène, celui-ci peut être assimilé à un volume de matière ininterrompu. Son état mécanique macroscopique est alors décrit dans l'espace (x_i, x_j, x_k) par l'équation :

$$\sigma_{ij} = c_{ijkl} \epsilon_{kl}, \quad (2.6)$$

1. Fluide dont les propriétés rhéologiques ne dépendent pas des événements qu'il a subis.

où σ_{ij} sont les composantes du tenseur des contraintes $\boldsymbol{\sigma}$, ϵ_{ij} celles du tenseur des déformations $\boldsymbol{\epsilon}$ et c_{ijkl} sont les constantes élastiques du matériau constituant le tenseur des rigidités élastiques. Le tenseur $\boldsymbol{\epsilon}$ traduit une variation géométrique du matériau sous l'action de la contrainte. Il s'exprime de façon générale en fonction du vecteur déplacement $\vec{u}$:

$$\boldsymbol{\epsilon} = \frac{1}{2} (\mathbf{grad}(\vec{u}) + {}^t\mathbf{grad}(\vec{u})) \quad (2.7)$$

$$\text{soit, } \epsilon_{kl} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_k}{\partial x_l} + \frac{\partial u_l}{\partial x_k} \right). \quad (2.8)$$

Suivant l'axe x_k , l'allongement est donné par la relation :

$$\epsilon_{kk} = \frac{\partial u_k}{\partial x_k}. \quad (2.9)$$

Si le milieu considéré est isotrope, ses constantes physiques sont par définition indépendantes des axes de référence. Ces conditions de symétrie particulières reviennent à exprimer chaque composante c_{ijkl} en fonction seulement de deux constantes indépendantes ; les coefficients de Lamé λ et μ , par exemple. L'équation d'état se réduit alors à la loi de Hooke :

$$\sigma_{ij} = \lambda \operatorname{tr}(\boldsymbol{\epsilon}) \delta_{ij} + 2\mu \epsilon_{ij}, \quad (2.10)$$

où $\operatorname{tr}(\boldsymbol{\epsilon})$ est la trace du tenseur des déformations ($\operatorname{tr}(\boldsymbol{\epsilon}) = \epsilon_{11} + \epsilon_{22} + \epsilon_{33}$).

La déformation du solide isotrope résulte à la fois :

- d'une variation de volume reliée au coefficient λ (en remarquant que $\epsilon \approx \Delta V/V_0$, la variation relative de volume du milieu)
- et d'un mouvement de cisaillement. Lorsque $i \neq j$, les contraintes tangentielles σ_{ij} ne font intervenir que le coefficient μ , également appelé coefficient de cisaillement.

Ainsi, lorsque le solide est soumis à une pression hydrostatique $\sigma_{ij} = -p \delta_{ij}$, la déformation résultante s'écrit $\epsilon_{ij} = \frac{\epsilon}{3} \delta_{ij}$, et

$$p = -(\lambda + \frac{2}{3}\mu) \epsilon = -K \epsilon, \quad (2.11)$$

où $K = \lambda + 2/3 \mu$ est le module de compressibilité volumique (et $\operatorname{tr}(\boldsymbol{\epsilon}) = \Delta V/V_0$).

En identifiant cette expression de la loi de Hooke pour une pression hydrostatique à l'équation (2.2) dans les fluides, il apparaît que $K = 1/\chi_s$.

Un solide isotrope peut donc être caractérisé par différents couples de constantes élastiques, comme celui des constantes de Lamé λ et μ ou K et μ , ou bien encore par celui composé du module d'Young et du coefficient de poisson, respectivement E et ν . Il existe bien entendu des correspondances entre tous ces couples.

Les ondes élastiques peuvent se propager dans les solides soit sous forme d'ondes de compression, soit sous forme d'ondes de cisaillement. Ces dernières sont inexistantes dans les fluides non visqueux. Dans un solide isotrope, leurs vitesses de propagation respectives, c_L et c_T , sont données par les relations suivantes :

$$c_L = \sqrt{\frac{M}{\rho}} = \sqrt{\frac{K + (4/3)\mu}{\rho}} \quad (2.12)$$

$$\text{et } c_T = \sqrt{\frac{\mu}{\rho}}, \quad (2.13)$$

où $M = K + 4/3 \mu$ est le module "global" des ondes de compression. D'après les relations (2.12) et (2.13), les ondes de compression se propagent plus rapidement que les ondes transverses. On rencontre les ondes élastiques dans de nombreux domaines d'application : en sismologie (localisation des séismes), en géophysique, en contrôle non destructif (CND) dans les matériaux et dans le domaine médical, en thérapie ou en diagnostic.

Remarque La relation (2.11) s'applique au cas où la contrainte exercée sur le solide isotrope est une pression hydrostatique pure. Lorsqu'il s'agit d'une onde plane de compression se propageant dans le solide, $\vec{u}(\vec{x}, t) = \vec{u}(x_3, t)$, par exemple, la loi de comportement considérée s'écrit cette fois :

$$\sigma_{33} = (\lambda + 2\mu) \epsilon_{33}. \quad (2.14)$$

Le module pris en compte est un module élastique "global" M :

$$\sigma_{33} = M \epsilon_{33}. \quad (2.15)$$

2.1.2 Acousto-élasticité : principe et application

L'acousto-élasticité et l'acoustique non linéaire sont deux domaines distincts de la physique, traitant cependant de phénomènes communs. Les modules élastiques d'un milieu peuvent être affectés lors du passage d'une onde d'amplitude finie (acoustique non linéaire) ou lors de l'application d'une pré-contrainte (acousto-élasticité). Dans ces deux situations, les modules de compression et de cisaillement, respectivement K et μ , ne peuvent plus être considérés constants. Sont regroupées ci-après sous le terme d'acoustique non linéaire toutes les méthodes d'acoustique permettant le calcul des paramètres non linéaires, ce qui est le cas de l'acousto-élasticité.

2.1.2.1 Quelques rappels historiques

Les bases de la théorie générale de l'élasticité linéaire avec contrainte initiale ont été posées par Cauchy, Rayleigh, Love ou encore Biot [134, 135]. Par la suite, Hughes et Kelly [136] ont développé la théorie moderne de l'acousto-élasticité dans les solides. A partir des travaux de Murnaghan [137] sur l'élasticité non linéaire dans les solides isotropes, ils établissent les expressions analytiques reliant contraintes et vitesses acoustiques dans des milieux soumis à une pression hydrostatique. Ils montrent ainsi que pour décrire le comportement mécanique d'un solide isotrope, il est nécessaire de connaître, en plus des coefficients de Lamé λ et μ (premier ordre), les trois constantes de Murnaghan l, m et n

(second ordre). Ces dernières peuvent être calculées à l'aide des variations des temps de propagation des ondes élastiques (donc des variations des vitesses de propagation) dans le milieu considéré en fonction de la contrainte appliquée.

En 1961, Toupin et Bernstein [120] adaptent la théorie de l'acousto-élasticité aux matériaux hyperélastiques². Selon cette approche, l'étude de l'effet acousto-élastique se fait dans le cadre des petites déformations superposées à une déformation d'énergie finie.

2.1.2.2 Equations de base de l'acousto-élasticité dans les fluides et les solides

L'étude des phénomènes élastiques non linéaires nécessite le développement des équations du mouvement et des lois de comportement à des ordres supérieurs. En 1960, Beyer [139] propose un développement en série de Taylor de l'équation d'état reliant les variations de la pression acoustique $P = P(\rho, s)$, à entropie s constante, aux variations de la masse volumique ρ , autour de la position d'équilibre (P_0, ρ_0) du fluide :

$$P = p - p_0 = \left(\frac{\partial p}{\partial \rho} \right)_{0,s} (\rho - \rho_0) + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 p}{\partial \rho^2} \right)_{0,s} (\rho - \rho_0)^2 + \frac{1}{3!} \left(\frac{\partial^3 p}{\partial \rho^3} \right)_{0,s} (\rho - \rho_0)^3 + \dots \quad (2.16)$$

Cette équation peut être reformulée en introduisant les coefficients A, B et C :

$$P = A \left(\frac{\rho - \rho_0}{\rho_0} \right) + \frac{B}{2} \left(\frac{\rho - \rho_0}{\rho_0} \right)^2 + \frac{C}{3!} \left(\frac{\rho - \rho_0}{\rho_0} \right)^3 + \dots \quad (2.17)$$

où :

$$A = \rho_0 \left(\frac{\partial p}{\partial \rho} \right)_{0,s} \equiv \rho_0 c_0^2, \quad (2.18)$$

$$B = \rho_0^2 \left(\frac{\partial^2 p}{\partial \rho^2} \right)_{0,s} = 2\rho_0^2 c_0^3 \left(\frac{\partial c}{\partial p} \right)_{0,s}, \quad (2.19)$$

$$C = \rho_0^3 \left(\frac{\partial^3 p}{\partial \rho^3} \right)_{0,s}. \quad (2.20)$$

Beyer définit dans les fluides le paramètre B/A représentant le rapport du terme quadratique (non linéaire au premier ordre) et du terme linéaire du développement en série de Taylor de la pression acoustique. Ce paramètre caractérise donc la variation de la vitesse du son induite par un changement de pression dans le liquide :

$$\frac{B}{A} = 2\rho_0 c_0 \left(\frac{\partial c}{\partial p} \right)_{0,s}. \quad (2.21)$$

2. Les matériaux hyperélastiques sont des matériaux pour lesquels il existe une énergie de déformation ne dépendant que de la déformation. Idéalement élastiques, ils ne dissipent pas d'énergie (tout le travail des efforts internes est stocké sous forme d'énergie) [138]. Caoutchoucs, mousses élastomères et tissus organiques sont considérés hyperélastiques et peuvent accepter de grandes déformations réversibles. La plupart des matériaux hyperélastiques (comme les élastomères) sont incompressibles.

2.1. ETAT DE L'ART DE L'ACOUSTO-ÉLASTICITÉ

Dans les solides, l'analogie peut être faite avec la loi de Hooke reliant les contraintes et les déformations par le module M , qui n'est plus constant et dépend de la sollicitation mécanique (contrainte) appliquée :

$$\sigma = M(\epsilon) \epsilon. \quad (2.22)$$

De la même façon que pour l'équation (2.16) dans les fluides, il est possible de procéder au développement en série de Taylor de la contrainte $\sigma = \sigma(\epsilon, s)$, à entropie s constante et au voisinage de la déformation à l'équilibre ϵ_0 (indicés $(0, s)$ dans l'équation) :

$$\sigma(\epsilon) - \sigma(\epsilon_0) = \left(\frac{\partial \sigma}{\partial \epsilon} \right)_{0,s} (\epsilon - \epsilon_0) + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 \sigma}{\partial \epsilon^2} \right)_{0,s} (\epsilon - \epsilon_0)^2 + \frac{1}{3!} \left(\frac{\partial^3 \sigma}{\partial \epsilon^3} \right)_{0,s} (\epsilon - \epsilon_0)^3 + \dots \quad (2.23)$$

$$\sigma(\epsilon) - \sigma(\epsilon_0) = A_\sigma (\epsilon - \epsilon_0) + \frac{B_\sigma}{2} (\epsilon - \epsilon_0)^2 + \frac{C_\sigma}{3!} (\epsilon - \epsilon_0)^3 + \dots \quad (2.24)$$

où :

$$A_\sigma = \left(\frac{\partial \sigma}{\partial \epsilon} \right)_{0,s} \equiv M_0, \quad (2.25)$$

$$B_\sigma = \left(\frac{\partial^2 \sigma}{\partial \epsilon^2} \right)_{0,s} = M_0 \left(\frac{\partial M}{\partial \sigma} \right)_{0,s}, \quad (2.26)$$

$$C_\sigma = \left(\frac{\partial^3 \sigma}{\partial \epsilon^3} \right)_{0,s}. \quad (2.27)$$

Sachant que la vitesse de propagation est liée au module M ($M = \rho c^2$, équation (2.12)), l'expression du rapport B_σ/A_σ peut se mettre sous la forme suivante :

$$\frac{B_\sigma}{A_\sigma} = \left(\frac{\partial M}{\partial \sigma} \right)_{0,s} = 2\rho_0 c_0 \left(\frac{\partial c}{\partial \sigma} \right)_{0,s} + c_0^2 \left(\frac{\partial \rho}{\partial \sigma} \right)_{0,s}. \quad (2.28)$$

Dans les solides, la variation de masse volumique est plus faible que la variation de vitesse, ce qui permet de négliger le second terme de l'équation (2.28) et d'obtenir la simplification suivante :

$$\frac{B_\sigma}{A_\sigma} = 2\rho_0 c_0 \left(\frac{\partial c}{\partial \sigma} \right)_{0,s}. \quad (2.29)$$

On reconnaît l'expression (2.21) dans les fluides, pour lesquels la contrainte considérée correspond à la pression hydrostatique.

En acoustique non linéaire dans les solides, il existe un développement polynômial de la loi de Hooke (équation (2.15)) introduisant les coefficients non linéaires quadratique et cubique (appelés ainsi en raison des puissances de ϵ auxquelles ils sont associés), respectivement β et δ :

$$\sigma = M \epsilon = M_0 (1 + \beta\epsilon + \delta\epsilon^2 + \dots) \epsilon. \quad (2.30)$$

Le module élastique $M_0 = M(\sigma_0, \epsilon_0)$ correspond à l'approximation linéaire de la relation contrainte-déformation (équation (2.15)) au voisinage de l'état de contrainte initial (σ_0, ϵ_0) .

Par identification des termes des équations (2.24) et (2.30), et lorsque $\epsilon_0 = 0$, on obtient les relations suivantes :

$$\beta = \frac{B_\sigma}{2A_\sigma}, \quad (2.31)$$

$$\delta = \frac{C_\sigma}{6A_\sigma}. \quad (2.32)$$

Toujours à partir de la relation entre la vitesse acoustique c et le module M (équation (2.12)), les variations de la vitesse de propagation peuvent être exprimées en fonction de la déformation à laquelle le milieu est soumis :

$$c = \sqrt{\frac{M_0(1 + \beta\epsilon + \delta\epsilon^2)}{\rho_0}} \approx c_0 (1 + \beta/2 \epsilon + (\delta/2 + \beta^2/8) \epsilon^2). \quad (2.33)$$

Dans le cadre de l'acousto-élasticité, les variations de vitesse mesurées sont cependant très faibles (de l'ordre de 10^{-5} par mégapascal dans l'aluminium [121]) et ce, malgré les fortes intensités de contraintes appliquées (supérieures au mégapascal). L'amplitude de l'onde acoustique quant à elle, est considérée faible et répond au principe de superposition.

La sensibilité du module élastique d'un matériau à la déformation qu'il subit peut avoir plusieurs origines. La première cause évidente de non-linéarité provient de la déformation du matériau sous l'effet de la contrainte (variation de ses dimensions). Il s'agit de la non-linéarité "géométrique"³. Dans le cas de matériaux homogènes (sans défaut, monophasiques, etc.), ce type de non-linéarité se manifeste autant que la non-linéarité physique provenant de la variation réelle du module. Néanmoins, dans le cas de matériaux à inhomogénéités mésoscopiques la non-linéarité géométrique est de faible amplitude en regard des effets induits par la non-linéarité physique, et peut être négligée.

L'origine de la non-linéarité élastique (physique) réside dans l'effet de la contrainte effective sur les inhomogénéités ayant comme conséquence un changement de rigidité du matériau. Par exemple, la fermeture des microfissures provoquera une augmentation de la rigidité du matériau.

2.1.2.3 Applications aux liquides

En 1960, Beyer calcule les valeurs du paramètre B/A pour différents liquides (eau, éthanol, benzène, etc.) [139] et montre que dans le cas général, B/A ne varie que très

3. Il ne s'agit pas là de la non-linéarité géométrique définie dans le cas où l'hypothèse des petites déformations n'est plus applicable, mais d'une non-linéarité "apparente" due aux variations géométriques du matériau sous l'effet de la contrainte.

2.1. ETAT DE L'ART DE L'ACOUSTO-ÉLASTICITÉ

peu avec la température. La méthode utilisée mesure les variables thermodynamiques des matériaux testés. L'équation (2.21) est développée pour obtenir la relation suivante :

$$\frac{B}{A} = 2\rho_0 c_0 \left(\frac{\partial c}{\partial p} \right)_{T, \rho_0} + \left(\frac{2c_0 T \alpha_T}{C_p} \right) \left(\frac{\partial c}{\partial T} \right)_{p, \rho_0}, \quad (2.34)$$

où $\alpha_T = (1/V)(\partial V/\partial T)_p$ est le coefficient de dilatation thermique, C_p , la capacité thermique à pression constante et T , la température. Les variations de la vitesse de propagation sont obtenues pour différentes valeurs de pression hydrostatique (à température constante), puis en faisant varier la température (à pression hydrostatique constante). Dans cette méthode, la mesure du temps de propagation sur une distance fixe (distance entre les transducteurs ultrasonores en transmission) suffit à calculer avec précision la vitesse de propagation. Il est ensuite possible de remonter aux valeurs du paramètre B/A grâce à l'équation (2.34).

En 1984, Sehgal *et al.* utilisent la variation de la vitesse de phase d'une onde acoustique continue en fonction de la pression hydrostatique pour mesurer la non-linéarité de tissus humains frais comme le foie ou des tumeurs du sein [140]. Quelques années plus tard, Sarvazyan *et al.* [141] mettent au point une méthode thermodynamique relative pour le calcul du paramètre non linéaire dans des solutions d'acides aminés (phénylalanine, proline, glutamine, etc.) et de protéines (collagène ou albumine par exemple). La grande précision de la mesure de la célérité permet l'étude de solutions davantage diluées.

A partir de l'équation (2.21) qui permet de calculer B/A à l'aide de la variation isentropique de la vitesse de propagation par rapport à la masse volumique, Emery *et al.* [142] mesurent le coefficient de non-linéarité acoustique pour des mélanges eau-éthanol et eau-méthanol. Cette fois, les caractéristiques thermodynamiques du milieu n'ont plus besoin d'être prises en compte.

Le tableau (2.1) rassemble quelques valeurs du paramètre B/A mesuré dans des liquides ou des tissus biologiques.

Milieu	T(°C)	B/A
Eau	20	5
Alcools	20	9,6-10,7
Liquides organiques	30	8,2-11,8
Foie humain	30	7,6
Rate humaine	30	7,8

TABLE 2.1 – Exemples de valeurs du paramètre non linéaire B/A mesuré dans des liquides et dans deux types de tissus biologiques humains, extraites du livre de Beyer "Nonlinear acoustics" [143].

A la croisée des domaines solide/fluide, Norris *et al.* adaptent la théorie de l'acousto-élasticité aux milieux biphasiques et l'appliquent au cas d'un trou de forage saturé en eau [144]. En 1996, Grinfeld et Norris développent une méthode permettant l'étude de la non-linéarité des solides poroélastiques isotropes saturés en eau [145]. Cette méthode peut s'appliquer aux solides poreux biphasiques saturés en eau, comme les grès ou les milieux granulaires consolidés.

2.1.2.4 Applications aux solides

Géophysique Les sciences de la Terre utilisent l'acoustique non linéaire pour étudier les effets de l'élasticité non linéaire dans les milieux granulaires et les roches à des fins prospectives dans les domaines de la géologie et de la sismologie. De nombreuses études théoriques et expérimentales se développent depuis une quinzaine d'années. Pour ne citer que quelques exemples, Johnson et Rasolofosaon [146], à partir des résultats expérimentaux de Zamora [147] (roches sous contrainte), ont donné quelques valeurs des modules élastiques linéaires et non linéaires dans un grès de Fontainebleau (intact, fissuré, saturé en eau). Ils observent notamment pour le paramètre de biréfringence des ondes de cisaillement $((V_{S_{//}} - V_{S_T})/V_{S_{//}})$, où $V_{S_{//}}$ et V_{S_T} sont respectivement les vitesses de cisaillement longitudinale et transverse), signature de non-linéarités, des variations de ce dernier en fonction de la contrainte uniaxiale (figure 2.1). Les valeurs et les variations de la biréfringence mesurées ici se révèlent bien plus importantes dans une roche fissurée (grès de Fontainebleau) qu'au sein du même type de roche intacte. La non-linéarité élastique dans cette roche est donc largement influencée par la présence de défauts mécaniques. Cependant, la saturation en eau du grès fissuré entraîne une diminution drastique de la biréfringence des ondes S, qui n'évolue que très peu en fonction de la contrainte uniaxiale appliquée. Les auteurs expliquent ce résultat par la plus grande difficulté de compressibilité de l'eau par rapport à l'air, qui contribuerait à rigidifier les défauts mécaniques et réduire, de cette façon, la non-linéarité acousto-élastique. Néanmoins, cette constatation expérimentale n'apparaît pas généralisable pour toutes les expériences.

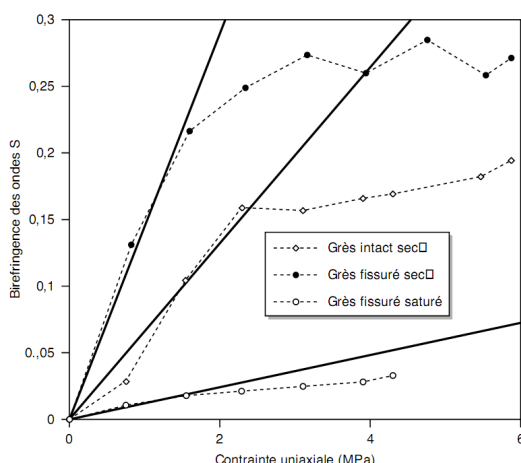


FIGURE 2.1 – Evolution de la biréfringence des ondes S (*i.e.* de la variation relative des ondes de cisaillement), de fréquence centrale 1 MHz, en fonction de la contrainte uniaxiale dans du grès de Fontainebleau "intact" et fissuré par choc thermique. D'après Johnson et Rasolofosaon [146], résultats expérimentaux de Zamora [147].

Par ailleurs, en 2001, Geza *et al.* [148] étudient les variations instantanées de vitesse et d'atténuation d'ondes sismiques dans des couches géologiques, relatives à un chargement dynamique (induit par un vibreur sismique). Pour remonter à ces paramètres, l'espace semi-infini sollicité par les vibrations mécaniques a simultanément été sondé par des ondes élastiques quasi-impulsionnelles. Il ressort de cette étude que les variations instantanées de vitesse et d'atténuation sont sensibles à la vitesse de déformation du milieu.

Limites du modèle non linéaire initial Les roches font partie des matériaux dits "consolidés". Ces derniers peuvent inclure en leur matrice de petits éléments élastiques mésoscopiques tels que des grains (de sable pour le grès) ou des défauts (présence de microfissures à l'intérieur des roches éruptives ou métamorphiques par exemple). Dans ce cas, il est d'usage de parler d'inhomogénéités mésoscopiques dites "souples" au sein d'une matrice considérée "dure". Malgré le petit volume qu'elles occupent, ces inhomogénéités subissent des déformations importantes, gouvernant les propriétés élastiques de la roche à l'échelle macroscopique par d'importants niveaux de non-linéarité. S'il s'agit de grains, beaucoup plus souples que la matrice enveloppante, les contacts provoqués entre eux par une sollicitation mécanique de type test quasi-statique, joueront un rôle primordial dans la réponse non linéaire du matériau. Dans le cas de la présence de microfissures, l'ouverture et la fermeture de ces dernières provoqueront un changement fondamental de la valeur du module élastique de l'ensemble. La matrice solide du matériau, pour sa part, se montre assez peu déformable. D'ailleurs, parce qu'elle représente l'essentiel du volume considéré, cette phase solide est à l'origine d'une sous-estimation des déformations locales d'au moins deux ordres de grandeur lors de la mesure de la déformation globale [114].

Dans ce cadre, la théorie classique de l'élasticité non linéaire ne suffit donc plus pour décrire correctement le comportement élastique de ces milieux hétérogènes [137, 149]. En effet, lors de mesures quasi-statiques, des phénomènes de boucles hystérétiques ou d'effets mémoire signent, en plus des forts niveaux de non-linéarité, un comportement élastique non linéaire mésoscopique. Parmi les travaux effectués en ce sens, ceux de Guyer et McCall proposent un modèle basé sur la description de Preisach-Mayergoyz [116, 117] permettant de rendre compte du comportement hystérétique des roches.

Contrôle non destructif Dans le domaine du contrôle non destructif des matériaux, les techniques non linéaires ont également trouvé un large essor. Parmi celles-ci, le développement de techniques de spectroscopie des ondes élastiques non linéaires, baptisées NEWS (Nonlinear Elastic Wave Spectroscopy), permet de détecter, voire localiser les micro-défauts présents dans le matériau. Van den Abeele *et al.* [127] ont obtenu une corrélation entre la quantification du micro-endommagement d'échantillons plastiques à renfort fibre de carbone (PRFC) soumis à une dégradation thermique, et les niveaux de non-linéarités mesurés. Ces derniers sont calculés à partir de l'étude du comportement résonnant des échantillons sous différentes amplitudes d'excitation, entraînant une diminution de la fréquence de résonance en fonction de l'amplitude d'excitation lorsqu'il y a présence de microfissures. L'analyse microscopique de sections issues des échantillons PRFC a permis de constater qu'un changement de 1 à 3 % de la densité de fissures correspondait à la multiplication par dix des niveaux de non-linéarité.

Un peu plus tôt, la théorie de l'acousto-élasticité a été appliquée par Nagy [122] pour la caractérisation de l'état de fatigue de multiples matériaux comme les plastiques, les métaux ou encore les matériaux composites. Néanmoins, dans cette étude, la contrainte statique a été remplacée par un chargement dynamique afin d'éliminer les problèmes de fluage⁴ et de limiter les efforts de fatigue.

4. L'essai de fluage consiste en l'application d'une contrainte constante sur un matériau, pouvant entraîner à terme une déformation irréversible.

2.2 Méthode dynamique d'acousto-élasticité : DAET

En 2008, Renaud *et al.* [125, 132, 133] ont développé une méthode d'acousto-élasticité dynamique (DAET, Dynamic AcoustoElastic Testing) pour la détection du micro-endommagement osseux dans le calcanéum. A la croisée des techniques non linéaires d'interaction d'ondes et de l'acousto-élasticité, son principe réside dans la sollicitation d'un échantillon osseux trabéculaire au moyen d'une onde "pompe" basse-fréquence (BF) sinusoïdale. Simultanément, des impulsions ultrasonores (US) sont transmises à travers l'os et viennent sonder (on parle d'onde "sonde") le milieu sous différents états de pression basse-fréquence. A l'instar des techniques non linéaires appliquées aux roches ou au matériaux fissurés, l'onde acoustique basse-fréquence est suspectée ouvrir et fermer les microfissures présentes dans le tissu osseux, signant des variations du temps de propagation des impulsions ultrasonores caractéristiques d'un endommagement.

2.2.1 Principe général

Comme nous venons de le mentionner, la méthode DAET se base sur l'interaction d'une onde acoustique basse-fréquence et d'impulsions ultrasonores. La variation de pression basse-fréquence agit sur le milieu testé comme une succession de phases de compression (surpression par rapport à la pression hydrostatique normale) et de dilatation (ou de dépression), schématisées sur la figure 2.2.

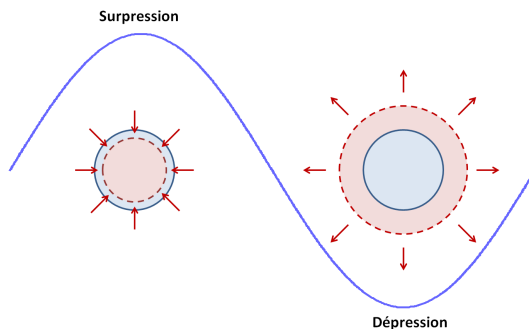


FIGURE 2.2 – Schéma de l'état de contrainte d'un milieu (symbolisé par une "bulle" d'eau) pendant une période temporelle basse fréquence. La bulle bleue représente le milieu à pression hydrostatique normale. En rouge, l'effet d'une surpression et d'une dépression sur le milieu fait varier son volume.

Le champ acoustique basse-fréquence utilisé est généré par la mise en résonance d'un disque en verre rayonnant solidaire d'un pot vibrant. Le choix du disque s'est montré justifié par le besoin d'une zone de champ acoustique homogène la plus grande possible en regard des échantillons. Celui de la résonance s'est naturellement imposé pour générer des fortes amplitudes de pression. En effet, le tissu osseux trabéculaire est un milieu solide dont le module élastique de compression est de l'ordre de quelques centaines de mégapascals. A titre d'exemple, le piston en résonance peut générer une onde de pression hydrostatique de 50 kPa induisant dans le tissu osseux des déformations de 10^{-5} à 10^{-4} . Ces déformations doivent être en mesure de solliciter les microfissures (ouverture/fermeture) du tissu osseux.

L'envoi simultané en transmission d'impulsions ultrasonores, permet de sonder le milieu

ou l'échantillon considéré dans les différents états de contrainte basse-fréquence et de calculer les variations relatives de paramètres acoustiques comme le temps de propagation (ou la vitesse de propagation) et l'amplitude des impulsions ultrasonores. L'interaction des ces deux ondes, l'onde pompe basse-fréquence et l'onde sonde ultrasonore, permet la mesure des effets non linéaires élastiques et dissipatifs du milieu. Les impulsions ultrasonores sont transmises perpendiculairement à la direction d'émission de l'onde basse-fréquence (comme chez Ichida *et al.* [150]).

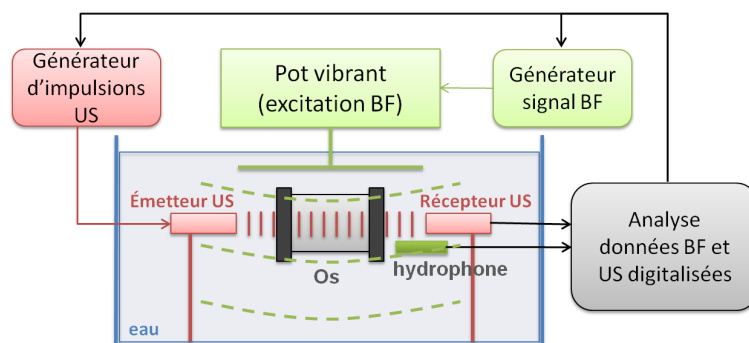


FIGURE 2.3 – Schéma du dispositif de mesure DAET (les échelles ne sont pas respectées). Le milieu étudié (solide ou fluide) est soumis à un champ de pression hydrostatique, émis par le piston en verre, et sondé par des impulsions ultrasonores permettant de mesurer les effets non linéaires résultants de la perturbation basse fréquence.

Le dispositif développé, schématisé sur la figure 2.3, est immergé dans l'eau. L'interaction des deux ondes acoustiques se produit dans un volume défini par le diamètre des transducteurs ultrasonores plans (13 mm de diamètre) et la distance entre le transducteur émetteur et le transducteur récepteur. L'échantillon testé est placé au centre de ce volume de mesure, à environ 25 mm du disque résonnant.

2.2.1.1 L'onde pompe basse-fréquence

Le disque de verre résonnant est mis en vibration au moyen d'un pot vibrant *Brüel & Kjaer* 4826 auquel il est solidement fixé. En amont de la chaîne de commande, un générateur de fonctions arbitraires est utilisé pour envoyer un train d'ondes sinusoïdales (100 périodes) à l'amplificateur de puissance du pot vibrant. La fréquence de résonance du disque varie en fonction de son diamètre et de son épaisseur, ainsi que du volume d'eau dans lequel il est immergé. En pratique, elle est comprise entre 2 et 6 kHz. La forme caractéristique de cette perturbation basse-fréquence peut être décrite en trois parties (figure 2.4) :

- une croissance rapide caractéristique de la mise en résonance du piston,
- un plateau correspondant au régime résonnant établi,
- une décroissance rapide liée à l'arrêt de la commande électrique du pot vibrant (oscillations libres du piston).

La pression basse-fréquence est mesurée par un hydrophone *Brüel & Kjaer* type 8103. La figure 2.4 présente une séquence d'enregistrement type, sur une fenêtre temporelle de 100 ms. L'oscilloscope est déclenché sur le signal de commande de la pression basse-fréquence. Les 20 à 30 premières millisecondes, pendant lesquelles aucune vibration basse-fréquence n'est générée dans le milieu, servent de référence par rapport aux impulsions

2.2. MÉTHODE DYNAMIQUE D'ACOUSTO-ÉLASTICITÉ : DAET

traversant le milieu sollicité par l'onde pompe pour le calcul des paramètres de la méthode (cf. sous-section 2.2.2). L'amplitude pic à pic de la pression basse-fréquence est de l'ordre de 100 kPa (1 atmosphère) dans l'eau. La présence d'air dissout dans l'eau peut engendrer, pour des niveaux de pression basse-fréquence négative trop élevés (supérieurs à environ 120 kPa pic à pic), des phénomènes de cavitation nuisibles :

- apparition d'harmoniques dans le spectre basse-fréquence,
- endommagement du piston ou des transducteurs ultrasonores (rayures en faces avant).

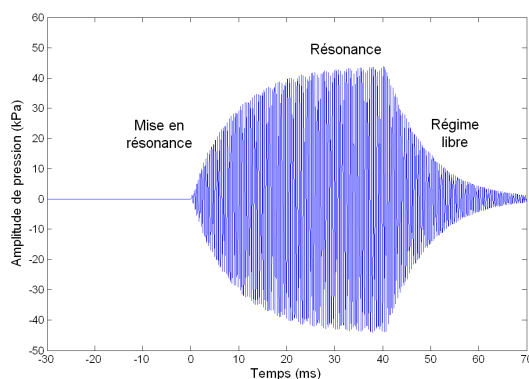


FIGURE 2.4 – Champ de pression acoustique basse fréquence généré par la mise en résonance du disque en verre au moyen d'un pot vibrant. Exemple de la mesure effectuée dans l'eau.

Différentes géométries du disque en verre ont été usinées, associées à des fréquences de résonance de 2500, 3200, 3700, 4200 et 5900 Hz. Les spécifications requises dans le cadre de la méthode DAET sont résumées comme suit :

- Il s'agit tout d'abord d'assurer l'uniformité et la stabilité du champ de pression basse-fréquence sur l'ensemble du volume de mesure. D'un point de vue spatial, il faut choisir une longueur d'onde basse-fréquence (de 250 à 600 mm) bien supérieure à la dimension de l'échantillon testé (20 à 30 mm). Du point de vue temporel, la période basse-fréquence (170 à 400 μ s) doit être très grande devant le temps de propagation ultrasonore (typiquement compris entre 30 et 50 μ s),
- L'amplitude de pression hydrostatique basse-fréquence doit pouvoir atteindre des valeurs de 50 kPa (pic),
- La résonance du disque doit être stable.

Les quatre disques réunissent de manière satisfaisante l'ensemble de ces conditions. Cependant, la plupart des mesures a été réalisée à l'aide du disque résonnant à 2500 Hz. La géométrie du champ de pression axial et du champ de pression radial de ce disque sera détaillée au paragraphe 2.2.4.2. Le disque retenu présente le double avantage de rayonner radialement le champ de pression le plus uniforme et d'atteindre l'amplitude de pression maximale (avant cavitation) la plus grande. Sa fréquence de résonance est de 2500 Hz. Néanmoins, il faut remarquer que le choix de la fréquence est également conditionné par la nécessité d'assurer un champ de pression acoustique le plus homogène possible. Dans le cas d'une fréquence de résonance égale à 2500 Hz, la période basse-fréquence est dix fois plus grande que le temps de propagation d'une impulsion ultrasonore (de l'ordre de 40 μ s pour une distance de 60 mm). Sous ces conditions particulières, il est alors possible de considérer le champ de pression basse-fréquence uniforme et quasi-statique le temps d'une

propagation ultrasonore.

Lors de l'insertion d'un échantillon dans le volume de mesure, le champ de pression est légèrement modifié. Nous avons presque systématiquement observé une diminution de l'amplitude de pression basse-fréquence, essentiellement due à la rupture d'impédance eau/os. Comme expliqué plus loin, dans le paragraphe 2.2.4.2, le champ de pression basse-fréquence décroît en $1/z$ le long de l'axe. Dans la hauteur du volume de mesure caractéristique, il existe un gradient de pression basse-fréquence qui décroît de 2 à 3 dB sur la distance du diamètre d'un transducteur ultrasonore (13 mm). Par ailleurs, bien que situé à 25 mm du disque rayonnant, l'échantillon d'os trabéculaire présente des dimensions faibles ($L_{éch} \approx 20mm$) en regard de la longueur d'onde basse-fréquence ($\lambda_{BF} \approx 60cm$). La déformation du champ de pression basse-fréquence induite par l'insertion d'un échantillon de densité différente de celle de l'eau n'est pas corrigée dans nos calculs.

2.2.1.2 L'onde sonde ultrasonore

L'onde sonde est de type impulsionnel. Le choix de travailler avec un générateur de fonctions arbitraires, plutôt qu'avec un générateur impulsionnel, s'est fait afin de permettre la sélection de la fréquence ultrasonore en fonction des échantillons osseux (amélioration du rapport signal à bruit). Ces impulsions ultrasonores sont donc constituées de 1 à 2 périodes de sinusoïde (figure 2.5 (a)) dont la fréquence d'émission est comprise entre 0,3 et 1MHz selon le milieu étudié. Ces dernières sont délivrées par un générateur de fonction arbitraire *Tektronix* relié à un amplificateur de puissance *Adece* 500 W.

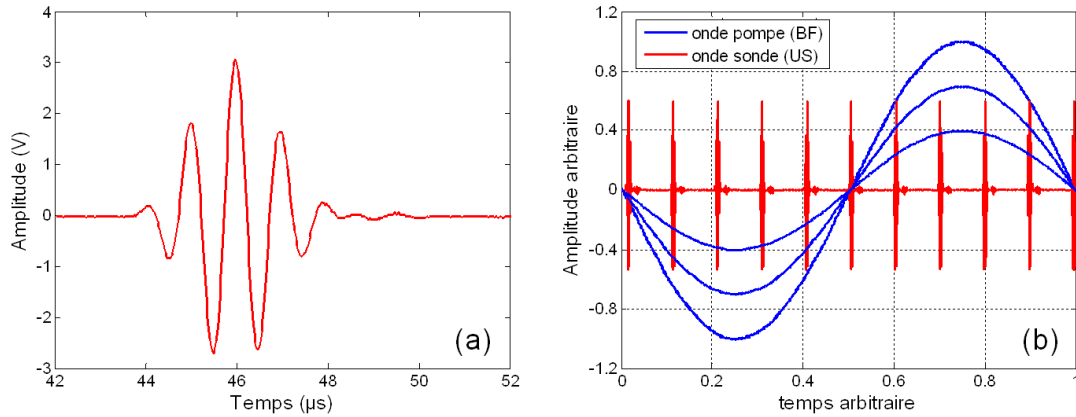


FIGURE 2.5 – (a) Exemple de signal ultrasonore émis et reçu dans l'eau. (b) Données brutes acquises sur une période BF. Les impulsions ultrasonores (*en rouge*) envoyées à travers le milieu sondent ce dernier dans différents états de pression générés par l'onde BF (*en bleu*). L'amplitude de la sollicitation BF appliquée au milieu varie grâce à la résonance du disque (phénomène schématisé ici par la superposition de 3 périodes BF).

Les transducteurs ultrasonores utilisés en émission et en réception sont des transducteurs plans *Panametrics* de fréquence centrale 1MHz (diamètre 13 mm). D'après leur profil de pression axiale rayonnée, présenté en figure 2.6, le positionnement de l'échantillon a été choisi au maximum d'énergie délivrée à l'émission, c'est-à-dire à 30 mm des transducteurs émetteur et récepteur. La mesure du champ de pression ultrasonore radial (figure 2.7) révèle un diamètre de tache focale à -6 dB d'environ 10 mm. Les dimensions de la section

des échantillons osseux ont donc été déterminées à environ $15 \times 15 \text{ mm}^2$, assurant une propagation des impulsions ultrasonores presque exclusivement dans l'échantillon.

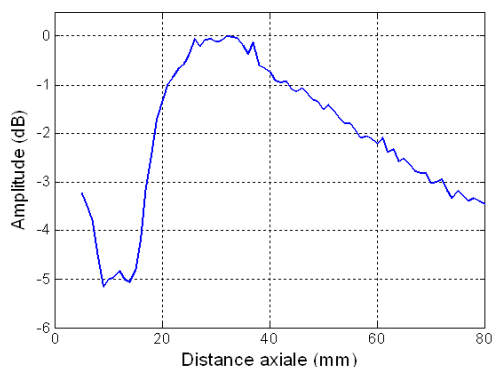


FIGURE 2.6 – Profil axial de pression rayonnée par les transducteurs plans.

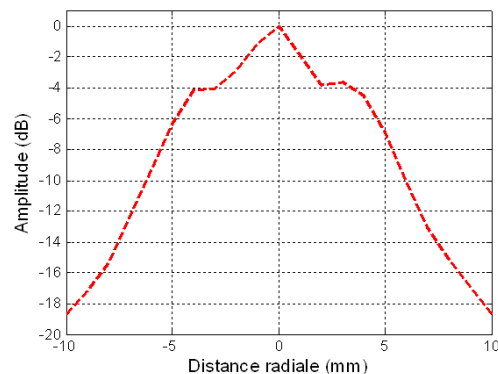


FIGURE 2.7 – Amplitude de pression mesurée le long de la tache focale d'un des transducteurs plans.

La cadence de tir des impulsions est comprise entre 10 et 40 kHz de façon à échantillonner correctement les différents états de l'onde pompe (figure 2.5 (b)). En outre, la fréquence de l'onde pompe et la cadence de tir des impulsions ultrasonores sont choisies pour ne pas être dans un rapport entier, permettant de bénéficier d'un léger effet stroboscopique sur quelques périodes basse-fréquences (augmentant le nombre d'états de l'onde pompe sondés).

Les impulsions ultrasonores sont supposées ne pas perturber le milieu lors de leur propagation et n'ont, par conséquent, qu'un rôle de "lecture" des variations des propriétés viscoélastiques et dissipatives du milieu pré-contraint par l'onde pompe. Pourtant, cette hypothèse n'est valable que sous des conditions particulières de fréquences et d'amplitudes des deux ondes. Renaud *et al.* [151] ont montré, à l'aide d'une modélisation de la non-linéarité mécanique du milieu de type hystérétique quadratique⁵, que pour un rapport entre les amplitudes de déformation des ondes basse-fréquence et ultrasonores supérieur à 100, les variations du module M mesurées par les impulsions ultrasonores sont très proches des variations réellement générées par l'onde basse-fréquence [151]. Au contraire, pour un rapport inférieur à 100, les impulsions ultrasonores mesurent des variations du module éloignées (d'amplitude plus faible et de forme différente) de celles subies par le milieu. En conséquence, l'hypothèse de "lecture" des impulsions ultrasonores sans perturbation du milieu sondé n'est valide que dans le cas où l'amplitude de l'onde pompe basse-fréquence est plus de 100 fois supérieure à celle des impulsions ultrasonores. Or, la configuration expérimentale mise en œuvre utilise des amplitudes de pression basse-fréquence et ultrasonore maximales proches de $\pm 50 \text{ kPa}$ et $\pm 300 \text{ kPa}$ à 1 MHz, respectivement. Elles sont équivalentes à des amplitudes de déformation respectives de l'ordre de $\pm 1,6 \cdot 10^{-5}$ et $\pm 10^{-4}$ pour un module d'élasticité du tissu osseux trabéculaire estimé autour de 3 GPa. Cependant, malgré le rapport des amplitudes de déformation très inférieur à 100, aucun effet d'interaction mutuelle de type hystérétique quadratique n'a été observé. L'atténuation en

5. La relation contrainte-déformation prise en compte dans ce modèle est gouvernée par un module de compression $M = M_0(1 - \alpha(\Delta\epsilon + \epsilon \text{ sign}(\dot{\epsilon})))$, où α est le paramètre non linéaire hystérétique, $\Delta\epsilon$, l'excursion extrême présentée par le matériau et $\dot{\epsilon}$, la vitesse de déformation.

fonction de la fréquence, de l'ordre de 10 dB/MHz/cm dans le tissu osseux trabéculaire, est sans doute un élément de réponse à ce constat.

2.2.2 Paramètres non linéaires de la méthode DAET

La méthode DAET permet d'étudier les non-linéarités élastiques et les non-linéarités dissipatives calculées à partir des variations du temps de propagation et de l'amplitude des impulsions ultrasonores ayant traversé le milieu testé.

2.2.2.1 Non-linéarités élastiques

Le temps de propagation, également appelé temps de vol (TOF, time of flight), d'une impulsion ultrasonore à travers le milieu testé varie avec la pré-contrainte appliquée à ce dernier. Il s'agit là de l'effet acousto-élastique expliqué plus en avant (section (2.1)). La vitesse de propagation c peut être calculée sur une distance de propagation L par le rapport L/TOF et sa variation Δc peut s'écrire :

$$\Delta c = \frac{\partial c}{\partial L} \Delta L + \frac{\partial c}{\partial TOF} \Delta TOF = \frac{1}{TOF} \Delta L - \frac{L}{(TOF)^2} \Delta TOF \quad (2.35)$$

Les deux composantes de la variation totale de vitesse sont définies par les relations suivantes :

$$\Delta c_G = \frac{1}{TOF} \Delta L \quad (2.36)$$

$$\Delta c_A = -\frac{L}{(TOF)^2} \Delta TOF, \quad (2.37)$$

où Δc_G exprime le changement de vitesse dû à la variation géométrique du matériau (changement du chemin de propagation) sous l'effet de la pression acoustique basse-fréquence, et Δc_A traduit la variation de vitesse due à l'acousto-élasticité.

D'autre part, sachant que la vitesse de propagation acoustique d'un milieu est directement reliée à son module des ondes de compression M et à sa densité ρ par la relation $c = \sqrt{M/\rho}$, il est possible d'écrire la variation de la vitesse sous la forme suivante :

$$\Delta c = \frac{\partial c}{\partial M} \Delta M + \frac{\partial c}{\partial \rho} \Delta \rho = \frac{1}{2\rho c} \Delta M - \frac{c}{2\rho} \Delta \rho \quad (2.38)$$

Par identification des équations (2.35) et (2.38), la variation du temps de vol ΔTOF peut s'écrire :

$$\Delta TOF = -\frac{L}{2\rho c^3} \Delta M + \frac{1}{c} \Delta L + \frac{L}{2\rho c} \Delta \rho \quad (2.39)$$

L'ordre de grandeur de la non-linéarité géométrique dans les matériaux homogènes fluides ou solides intacts, est comparable à celui de la non-linéarité élastique physique,

au contraire des milieux fortement non linéaires pour lesquels la non-linéarité physique se révèle bien plus importante, au point de négliger la non-linéarité géométrique [114].

Dans le cas des échantillons de tissu osseux trabéculaire étudiés de longueur comprise entre 20 et 25 mm et dont le module d'élasticité est proche de 3 GPa, la variation géométrique ΔL , lors de l'application de la contrainte basse-fréquence, est de l'ordre de 0,3 à 0,4 mm. Ceci correspond à une variation géométrique $\Delta L/c$ d'environ $2 \cdot 10^{-10}$ seconde, soit à peine plus de 12 % du TOFM total mesuré dans l'eau à une pression hydrostatique de 50 kPa. Les variations géométriques des échantillons sont donc négligées dans la suite de ce manuscrit. Un raisonnement analogue peut être mené sur les variations de masse volumique. Dans les matériaux granulaires et microfissurés, ces variations sont sensiblement inférieures à celles des constantes élastiques dans ces milieux [152], autorisant à ne pas prendre en compte par la suite les variations $\Delta \rho$ des échantillons. De la même façon, il est possible de considérer négligeables les variations $\Delta \rho$ dans les fluides et les solides homogènes puisque ces milieux présentent des variations du module de compression très largement supérieures aux variations de masse volumique [153].

Ainsi, la modulation de temps de vol (TOFM, time of flight modulation) des impulsions ultrasonores dans un milieu soumis à une contrainte basse-fréquence peut se résumer à la variation du module M . Ce paramètre donne donc une indication sur l'élasticité, voire la viscoélasticité (cf. chapitre 5), du milieu considéré :

$$TOFM = \Delta TOF = -\frac{L}{2\rho c^3} \Delta M. \quad (2.40)$$

En considérant le développement polynômial à l'ordre 3 du module M présenté dans le paragraphe 2.1.2.2, $M = M_0(1 + \beta\epsilon + \delta\epsilon^2)$, l'équation 2.40 s'écrit :

$$TOFM_{sonde} = -\frac{L}{2\rho c^3} M_0 (\beta \epsilon + \delta \epsilon^2), \quad (2.41)$$

avec $\epsilon = p_{pompe}/M_0$. Prise au premier ordre, cette équation permet de calculer le paramètre non linéaire quadratique élastique β :

$$\beta = -\frac{2\rho c^3}{L} \frac{\partial TOFM}{\partial p_{BF}}. \quad (2.42)$$

Lorsqu'un échantillon est inséré sur le chemin de propagation des impulsions ultrasonores, la somme des variations de temps de propagation dans l'eau et dans l'échantillon considéré est égale à $TOFM_{global} = TOFM_{eau} + TOFM_{échantillon}$. La valeur du paramètre β s'obtient alors à partir des relations suivantes (tous les paramètres indicés "éch" étant relatifs à l'échantillon et ceux indicés "0", au milieu de référence, *i.e.* l'eau) :

$$TOFM_{eau} = -\beta_{eau} \frac{(L - L_{éch})}{2\rho_0 c_0^3} p_{BF} \quad (2.43)$$

$$TOFM_{éch} = -\beta_{éch} \frac{L_{éch}}{2\rho_{éch} c_{éch}^3} p_{BF} T_{eau/éch}, \quad (2.44)$$

où $T_{eau/éch}$ est le coefficient de transmission pour la pression acoustique entre l'eau et l'échantillon osseux. Il s'écrit comme une combinaison des impédances acoustiques Z de chacun des deux milieux : $T_{eau/éch} = 2Z_{éch}/(Z_{eau} + Z_{éch})$. Alors,

$$\beta_{éch} = \beta_{eau} \frac{L}{\rho_0 c_0^3} \frac{\rho_{éch} c_{éch}^3}{L_{éch} T_{eau/éch}} \times \left(\frac{\frac{\partial TOFM_{global}}{\partial p_{BF}}}{\frac{\partial TOFM_{eau}}{\partial p_{BF}}} - \frac{L - L_{éch}}{L} \right). \quad (2.45)$$

La valeur de $\partial TOFM_{eau}/\partial p_{BF}$ provient de la mesure de référence du TOFM effectuée dans l'eau, avant l'insertion de l'échantillon osseux. En raison de l'utilisation d'une mesure de référence (sorte d'étalonnage du dispositif de mesure), on parle à l'endroit de la DAET, de méthode par substitution.

2.2.2.2 Non-linéarités dissipatives

Des effets acoustiques dissipatifs non linéaires peuvent également avoir lieu sous l'influence des variations de pression du milieu ou par tout autre phénomène d'absorption non linéaire. Cette modulation d'amplitude (ou d'énergie) de l'onde sonde peut être provoquée, par exemple, par la fermeture ou l'ouverture des fissures ou par le contact entre grains dans un milieu granulaire. Le calcul de la variation relative d'amplitude (RAM, relative amplitude modulation) des impulsions ultrasonores permet la mesure du niveau de non-linéarités dissipatives présenté par le milieu. La RAM compare les amplitudes mesurées des impulsions ayant traversé le milieu testé pour différents niveaux de contrainte tri-axiale.

2.2.2.3 Calcul des paramètres non linéaires

L'acquisition numérique des signaux acoustiques basse-fréquence et ultrasonore permet de calculer les variations des temps de propagation et les variations d'amplitude des impulsions ultrasonores en fonction de l'amplitude de pression basse-fréquence instantanée.

Modulation du temps de vol La modulation du temps de vol ou TOFM est quantifiée en comparant les temps de propagation des impulsions ultrasonores ayant traversé le milieu sollicité par l'onde basse-fréquence et le temps de propagation de référence d'une impulsion ayant traversé le milieu au repos (noté $TOF(0)$). Ainsi, la modulation du temps de vol d'une impulsion ultrasonore i s'écrit $TOFM(i) = TOF(i) - TOF(0)$. Ce paramètre est calculé par une méthode d'intercorrélation des deux impulsions ultrasonores, complétée par l'interpolation parabolique du maximum de la fonction d'intercorrélation (figure 2.8). L'application de cette méthode dans de bonnes conditions nécessite un rapport fréquence d'échantillonnage sur fréquence centrale ultrasonore supérieure à 10 [154]. Cependant, l'intercorrélation des signaux devient difficile lorsque le rapport signal à bruit des impulsions ultrasonores est trop faible ; c'est le cas dans les milieux très atténuants (échantillons osseux denses, faiblement poreux ou avec présence de bulles d'air emprisonnées dans la structure trabéculaire).

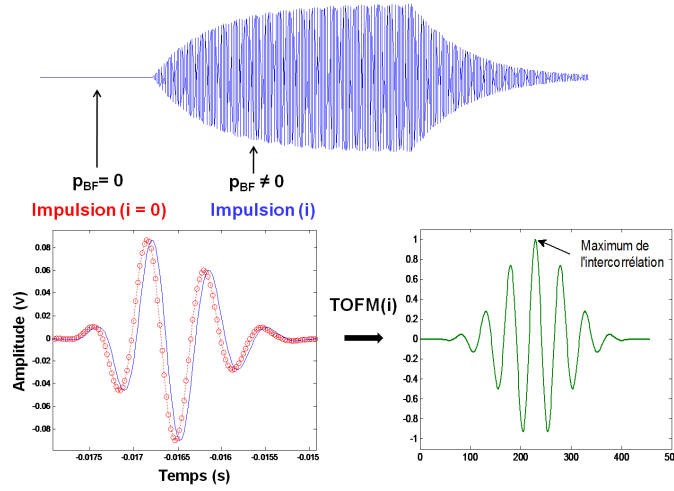


FIGURE 2.8 – Le calcul du TOFM est obtenu par intercorrélation entre une impulsion ultrasonore de référence (ayant sondé le milieu au repos) et une des impulsions suivantes. p_{BF} représente la pression basse-fréquence.

Cette méthode appliquée aux 2000 à 4000 impulsions ultrasonores envoyées sur les 100 ms que dure chaque acquisition (figure 2.4), permet d'obtenir l'évolution de la modulation du temps de vol en fonction du temps.

Modulation d'amplitude Le calcul du paramètre RAM (en %) est effectué dans le domaine fréquentiel au moyen d'une transformée de Fourier rapide des signaux temporels ultrasonores. L'amplitude maximale du spectre de l'impulsion considérée est comparée à celle d'une impulsion de référence, puis normalisée. Ainsi, la variation relative d'amplitude de l'impulsion indiquée i est définie comme suit :

$$RAM(i) = \frac{Ampl(i) - Ampl(0)}{Ampl(0)} \times 100, \quad (2.46)$$

$Ampl(i)$ et $Ampl(0)$ désignant respectivement les amplitudes de l'impulsion i et de l'impulsion de référence.

2.2.3 Application de la méthode DAET à un milieu de référence : l'eau

Dans le cadre de la méthode DAET, les non-linéarités élastiques ou dissipatives peuvent être présentées directement sur un diagramme XY (de type Lissajous), TOFM ou RAM en fonction de l'amplitude de pression basse-fréquence instantanée. Ces diagrammes sont dits "instantanés". Une autre représentation, issue de l'analyse fréquentielle des paramètres TOFM et RAM, consiste à tracer ces paramètres en fonction de l'amplitude de pression basse-fréquence moyenne. La section suivante développe ces analyses, avant de les appliquer à l'exemple de l'eau, milieu non-linéaire classique de référence de la méthode.

2.2.3.1 Analyse temporelle et diagrammes instantanés

Trois paramètres physiques sont calculés ou mesurés à l'aide du dispositif expérimental : la pression basse-fréquence de l'onde pompe, la modulation du temps de vol (TOFM) et la modulation d'amplitude (RAM) des impulsions ultrasonores. L'acquisition des données se fait au moyen d'un oscilloscope à une fréquence d'échantillonnage de 50 MHz (nécessaire à la mesure des variations de temps de vol des impulsions ultrasonores, de l'ordre de la nanoseconde). La figure 2.9 montre l'évolution temporelle du TOFM dans l'eau. Son profil suit l'évolution de l'amplitude de pression basse-fréquence émise par le disque, mais en opposition de phase comme le souligne l'agrandissement fait sur quelques périodes basse-fréquences en figure 2.10. En effet, dans les milieux non linéaires classiques comme l'eau, la vitesse de propagation et la pression acoustique varient de façon inversement proportionnelle : une compression hydrostatique (rigidification du milieu) a pour effet de diminuer le temps de propagation acoustique. Au contraire, ce temps augmente lors d'une dilation du milieu. Les marqueurs (o) de la courbe représentant le TOFM identifient les impulsions ultrasonores ayant traversé le milieu (ici l'eau) et mettent en évidence l'échantillonnage de l'onde basse-fréquence par l'onde sonde.

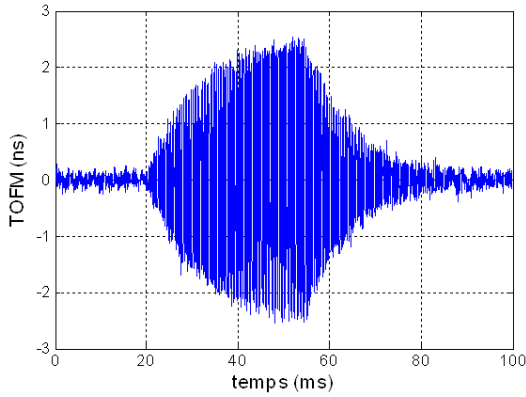


FIGURE 2.9 – TOFM mesuré dans l'eau, induit par la variation de pression basse-fréquence de l'onde pompe du type de celle représentée en figure 2.4.

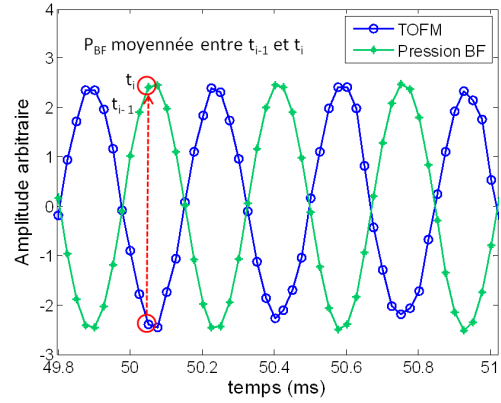


FIGURE 2.10 – Agrandissement sur quelques périodes de l'évolution temporelle du TOFM dans l'eau et de la pression acoustique basse-fréquence, en opposition de phase.

L'ensemble des modules de génération et d'acquisition des signaux basse-fréquence et ultrasonore est parfaitement synchronisé. Toutefois, durant le temps de propagation d'une impulsion ultrasonore (environ $40 \mu\text{s}$ sur 60 mm), la pression basse-fréquence a eu le temps d'évoluer. Aussi pour faire correspondre chaque point de mesure de TOFM et de RAM (réceptionnés à (t_i)) avec la valeur de pression basse-fréquence réellement subie par le milieu sondé, un moyennage de la pression basse-fréquence est fait sur un temps de propagation ultrasonore (entre (t_{i-1}) et (t_i) , figure 2.10). Une fois cette correction effectuée, il est possible de tracer l'évolution du TOFM en fonction de l'amplitude de la pression basse-fréquence instantanée (figure 2.11) ; ce qu'on appelle par la suite diagramme instantané. La variation en opposition de phase du TOFM et de la pression acoustique basse-fréquence se traduit sur le diagramme instantané par une pente de coefficient directeur négatif. Dans le cas d'un milieu possédant des propriétés visqueuses, l'apparition d'une boucle d'hystérésis marque

un déphasage de la pression et du TOFM qui atteint son maximum en $\pm\pi/2$. Un traitement similaire est réalisé sur la RAM. Comme attendu, l'eau, milieu non linéaire classique, ne présente pas d'effet non linéaire dissipatif. Son diagramme instantané (figure 2.12) révèle en effet un niveau de non-linéarité dissipative quasi-nul, compris entre $\pm 0,2\%$ et considéré par la suite comme le niveau de bruit de la mesure de la RAM.

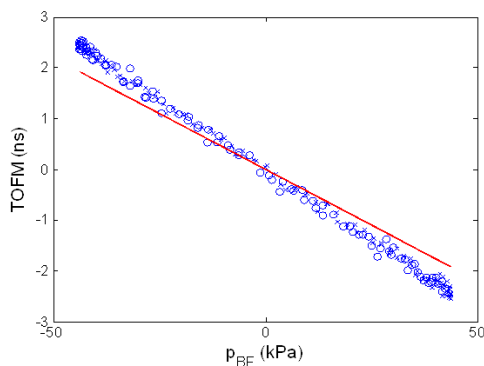


FIGURE 2.11 – Evolution du TOFM en fonction de l'amplitude de pression basse-fréquence (p_{BF}) instantanée dans l'eau. Les croix (x) et les ronds (o) représentent les TOFM pendant les phases de dilatation et de compression hydrostatique, respectivement. La droite rouge correspond à la valeur théorique du TOFM calculée dans l'eau ($\beta = 5$).

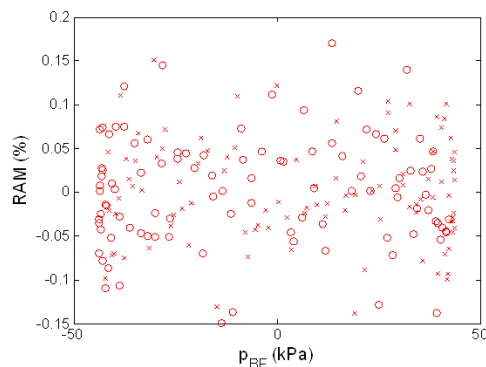


FIGURE 2.12 – Evolution de la RAM en fonction de l'amplitude de pression basse-fréquence instantanée dans l'eau, quasi inexistante. Les croix (x) et les ronds (o) représentent respectivement les valeurs de RAM pendant les phases de dilatation et de compression hydrostatiques.

Il est possible de calculer la valeur du paramètre non linéaire quadratique élastique β à partir du coefficient directeur de la représentation instantanée du TOFM (équation (2.42)).

Selon la température de l'eau, les valeurs de β mesurées sont comprises entre 4,5 et 6. Dans la littérature, β est donné variant entre 4,8 et 5,1 dans l'eau distillée aux températures respectives de 15°C et 25°C [155]. Les erreurs de mesures sont principalement dues à une mauvaise estimation de la pression basse-fréquence; l'hydrophone ne pouvant pas être placé sous le centre du disque de verre pendant la mesure sans gêner la propagation des ultrasons. Un rapport entre la pression mesurée au centre et celle mesurée à l'endroit où est placé l'hydrophone pendant la mesure est fait. Il est multiplié par un coefficient obtenu à partir de la régression linéaire faite sur le profil radial de pression basse-fréquence (cf. section 2.2.4.2), de façon à pendre en compte les légers effets de diffraction du disque.

2.2.3.2 Analyse fréquentielle

Une analyse fréquentielle des fonctions temporelles du TOFM et de la RAM est faite au moyen d'une transformée de Fourier discrète, effectuée dans une fenêtre temporelle glissante de la longueur de quelques périodes basse-fréquences. Les valeurs de la constante (ou valeur moyenne) et des amplitudes à la fréquence fondamentale et à l'harmonique 2 (figure 2.13) sont ensuite tracées en fonction de la valeur absolue de l'amplitude de pression de l'onde pompe. La figure 2.14 illustre l'exemple de l'eau pour lequel le TOFM varie en opposition de phase avec la pression basse-fréquence, de sorte que l'effet acousto-élastique n'entraîne pas l'enrichissement fréquentiel du spectre du TOFM. La valeur absolue de l'amplitude du TOFM augmente avec celle de la pression basse-fréquence. L'analyse

fréquentielle s'applique également à la RAM, mais dans le cas de l'eau (milieu non-linéaire classique non dissipatif), elle est nulle.

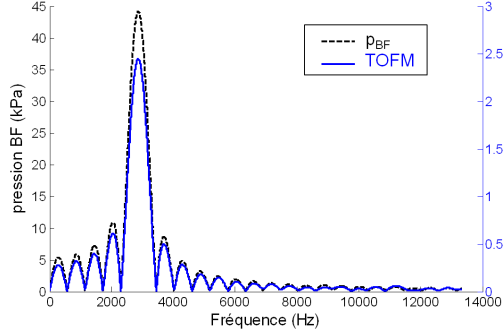


FIGURE 2.13 – Spectres de la pression basse-fréquence et du TOFM dans l'eau. L'effet acousto-élastique n'entraîne pas la création d'harmonique, seul un pic à la fréquence fondamentale de l'onde basse-fréquence est observé.

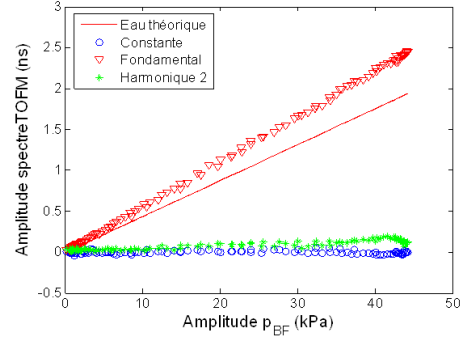


FIGURE 2.14 – Décomposition fréquentielle du spectre du TOFM dans l'eau. Les amplitudes de la constante, de la fondamentale et de l'harmonique 2 sont représentées en fonction de l'amplitude de pression basse-fréquence. La droite rouge illustre la valeur théorique du TOFM dans l'eau à l'ordre 1.

Les diagrammes instantanés apportent une quantification des constantes et des ordres 1 et 2 des paramètres TOFM et RAM en fonction de la valeur absolue de la pression basse-fréquence. La valeur du paramètre non linéaire quadratique β peut être calculée à partir de la pente du TOFM au premier ordre (pente de l'amplitude du fondamental en fonction de la pression basse-fréquence). Cependant, bien que des comportements hystérétiques puissent être illustrés sur ces diagrammes, cette représentation ne met pas en évidence les comportements hystérétiques instantanés. La plupart des mesures dans la suite du document sera exprimée à travers une représentation instantanée.

2.2.4 Caractérisation du dispositif

Les unités du TOFM et de la RAM sont petites dans l'absolu et se mesurent respectivement en nanoseconde et en pourcentage. Le moindre déphasage dans la chaîne de mesure, qu'il soit d'origine électronique ou mécanique, peut donc induire d'importantes sources d'erreurs et doit par conséquent être pris en compte. A cet effet, une amélioration du dispositif de maintien a été mise en œuvre et les déphasages entre les différentes sources électriques et acoustiques ont été mesurés.

2.2.4.1 Dispositif de maintien

L'utilisation d'une onde acoustique d'amplitude et de longueur d'onde relativement grande (onde pompe basse-fréquence) nécessite de prendre des précautions quant au maintien et à la disposition des éléments proches (transducteurs ultrasonores, hydrophone et échantillon). En effet, la pression générée par le disque rayonnant est suffisamment puissante pour faire osciller ces éléments et provoquer des modulations du temps de propagation ultrasonore liées à une variation de la distance de propagation ultrasonore ou basse-fréquence (jusqu'à l'hydrophone). Il s'agit en premier lieu de ne pas placer les transducteurs émet-

teur et récepteur trop près du centre du disque rayonnant où l'amplitude est maximale. Cependant, le choix de la distance inter-transducteurs est dépendant de la réception du signal ultrasonore fortement atténué après sa propagation dans un échantillon d'os trabéculaire. De plus, les effets non linéaires étant cumulatifs le long du chemin de propagation ultrasonore, il est nécessaire de limiter la distance parcourue dans l'eau pour extraire des non-linéarités provenant essentiellement de l'échantillon. De cette façon, les erreurs dues à la soustraction des effets dans l'eau sont minimisées. Le compromis retenu prévoit une distance de propagation comprise entre 60 et 65 mm (pour rappel, le diamètre du disque rayonnant est de 160 mm). L'emplacement de l'hydrophone basse-fréquence par rapport à la zone centrale d'interaction des deux ondes sonde et pompe n'est pas soumis aux mêmes exigences. La mesure des amplitudes maximales au centre de la zone d'interaction et à l'emplacement définitif de l'hydrophone (sur le côté de l'échantillon) permet de calculer, à partir du rapport pression centre/pression côté, la valeur de la pression basse-fréquence subie par le milieu sondé au cours de la mesure DAET.

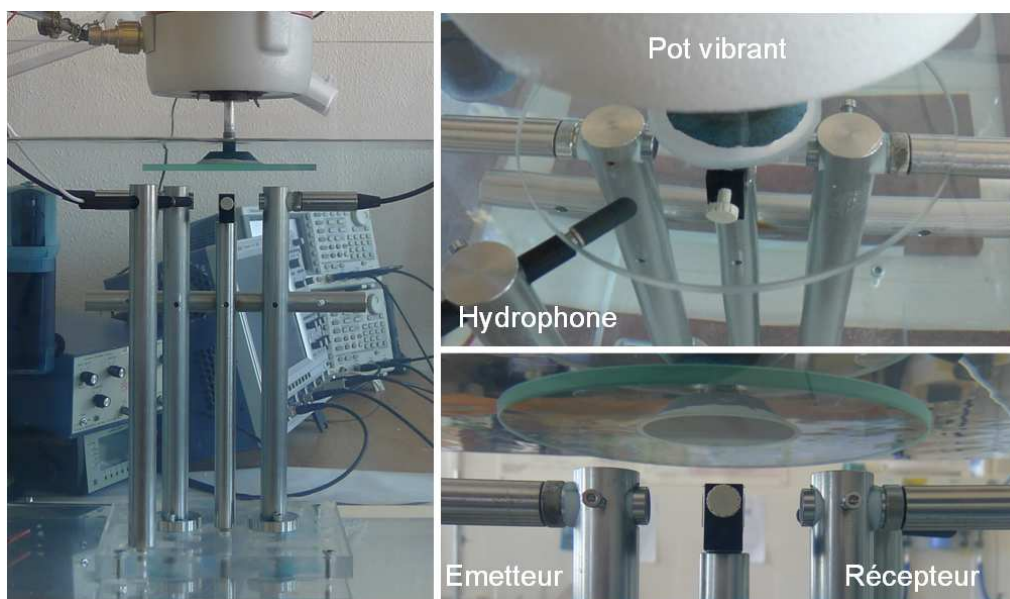


FIGURE 2.15 – Dispositif expérimental. Vue d'ensemble à gauche : le disque rayonnant en verre est relié au pot vibrant ; les transducteurs ultrasonores émetteur et récepteur, l'hydrophone et le porte-échantillon sont maintenus sur des tiges d'acier inoxydable. À droite, deux agrandissements sur les éléments du dispositif.

L'échantillon inséré dans la zone d'interaction des deux ondes acoustiques (basse-fréquence et ultrasonore) doit être également maintenu correctement sans être écrasé. L'os trabéculaire est en effet un matériau relativement dur et fragile. Les travées en surface, dont les extrémités ont été libérées lors de la découpe du spécimen, peuvent aisément s'écraser sous l'effet d'une pression, d'autant plus si celle-ci est ponctuelle. Pour prévenir au mieux ce problème, l'échantillon est enserré entre deux plaques de PMMA mobiles (figure 2.16).

En définitive, le dispositif de maintien fixe le porte-échantillon, les transducteurs ultrasonores et l'hydrophone basse-fréquence sur des tiges en acier rigides et peu encombrantes, de façon à déformer le moins possible le champ acoustique basse-fréquence. L'ensemble est vissé au fond de la cuve d'eau, permettant, au-delà de l'amélioration du maintien du

2.2. MÉTHODE DYNAMIQUE D'ACOUSTO-ÉLASTICITÉ : DAET

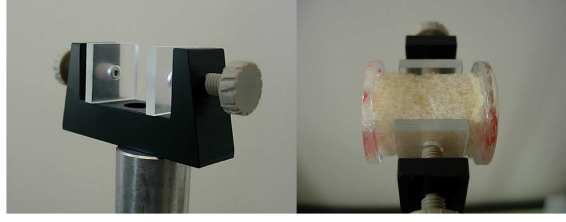


FIGURE 2.16 – Dispositif de maintien de l'échantillon d'os trabéculaire, inséré au centre de la zone d'interaction de l'onde pompe basse-fréquence et des impulsions ultrasonores.

dispositif expérimental, l'optimisation de la répétabilité des mesures.

2.2.4.2 Rayonnement du champ BF

Dans le contexte de la méthode DAET, il est important d'avoir une bonne idée de la topologie du champ de pression basse-fréquence utilisé. Il s'agit dans cette section de présenter les mesures des profils du champ de pression basse-fréquence axial et radial à 25 mm sous le piston. Une simulation analytique utilisant l'intégrale de Rayleigh a permis de modéliser ces profils, notamment le profil radial (latéral). En effet, l'échantillon est positionné dans un plan parallèle au disque résonnant (25 mm sous le disque). Or, d'après la condition de rayonnement (diamètre du piston petit ($D = 160$ mm) devant la longueur d'onde basse-fréquence ($\lambda = 600$ mm)), nous sommes dans le cas d'une source "petite", donc de diffraction importante, en champ lointain ($D^2/\lambda \approx 10$ mm), tout en étant situé à une distance petite en regard des dimensions du disque. Le profil radial de pression basse-fréquence n'est donc pas "classique", c'est pourquoi il est apparu souhaitable d'en établir une modélisation.

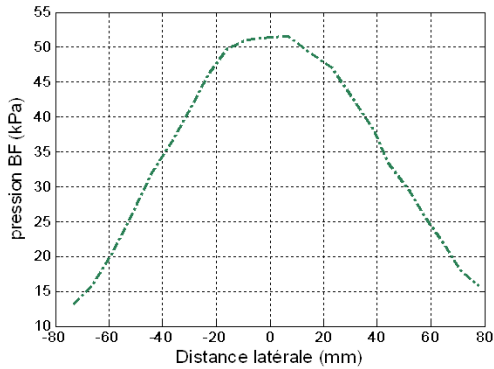


FIGURE 2.17 – Mesure du profil de pression basse-fréquence à 25 mm du disque de verre résonnant à 2500 Hz.

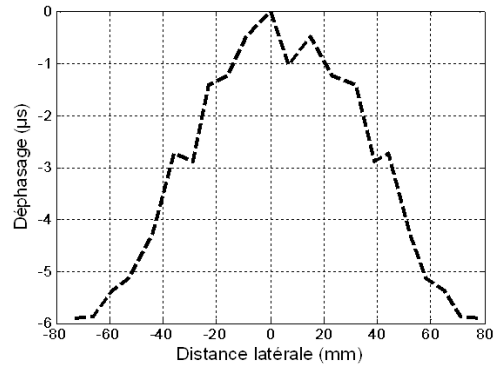


FIGURE 2.18 – Déphasage de la pression basse-fréquence par rapport au centre du disque, le long de son diamètre.

Une première étape a consisté à mesurer les deux profils de pression (figures 2.17 et 2.18). La simulation analytique basée sur un disque rayonnant plan n'a pas permis d'approcher correctement les données expérimentales. Nous avons donc procédé à une mesure de vibroacoustographie du champ de déplacement du piston le long de son diamètre (figure 2.19). La modulation du temps de vol des impulsions ultrasonores émises sous le

disque de verre et réfléchies par ce dernier a été mesurée, ainsi que la valeur de la pression basse-fréquence associée, recueillie au moyen de l'hydrophone basse-fréquence accolé au transducteur ultrasonore. L'amplitude maximale de déplacement du disque a été déduite des valeurs du TOFM maximal mesurées en chaque point du disque, le long de son diamètre. Le profil de déplacement obtenu, en "chapeau de gendarme" (figure 2.19), s'explique au centre par la rigidification centrale du disque créée par la tige métallique reliée au pot vibrant. L'amplitude de déplacement maximale, de près de $17,80 \mu\text{m}$ en valeur absolue, est observée sur les bords du disque, ce qui peut se comprendre pour des raisons similaires.

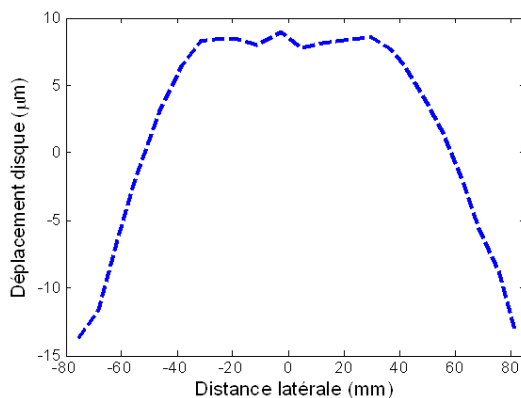


FIGURE 2.19 – Déplacement mesuré du disque de verre résonnant générant le champ de pression basse-fréquence autour de 2500 Hz.

Dans une seconde étape, une simulation bidimensionnelle du champ de pression acoustique basse-fréquence a été faite en "pondérant" l'équation du potentiel de vitesse d'un disque-piston (équation de Rayleigh) par le profil de déplacement mesuré (figure 2.20). Celle-ci présente clairement le caractère non constant de l'amplitude de pression rayonnée par le disque le long du chemin de propagation des impulsions ultrasonores. Une interpolation polynomiale le long du profil de pression radial à 25 mm en-dessous du disque (à l'endroit où sont situés les centres des transducteurs ultrasonore), permet le calcul d'un "coefficient de pression". Lors du calcul des diagrammes instantanés des paramètres TOFM et RAM, l'amplitude de pression mesurée est compensée par ce coefficient. Ce moyennage de la pression basse-fréquence sur la distance de propagation ultrasonore est à distinguer du moyennage de pression fait sur un temps de propagation ultrasonore permettant le recalage des signaux (paragraphe 2.2.3.1). Cette approximation est acceptable dans la mesure où le champ de pression, bien que sphérique à 25 mm du piston (où sont positionnés échantillon et transducteurs) possède un grand rayon de courbure ; la variation sur les 60 à 65 mm de distance de propagation est donc relativement faible.

La figure 2.21 présente les simulations des profils de pression axial et radial à 25 mm du disque. Le profil de pression radial normalisé a permis de calculer le coefficient de pression moyenne sur une distance de propagation (entre les transducteurs ultrasonores) utilisé pour prendre en compte les effets de diffraction du disque résonnant (vu à la fin du paragraphe 2.2.3.1).

D'autre part, la vérification de possibles réflexions acoustiques au fond de la cuve de dimensions ($60 \times 40 \times 40 \text{ cm}^3$) a entraîné la mesure du profil de pression axial sous le disque

2.2. MÉTHODE DYNAMIQUE D'ACOUSTO-ÉLASTICITÉ : DAET

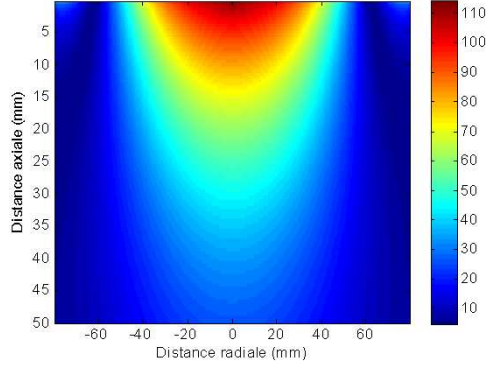


FIGURE 2.20 – Module du champ de pression (en kPa) rayonné par le disque de verre résonnant à 2500 Hz, simulé à partir de la mesure du profil de déplacement radial.

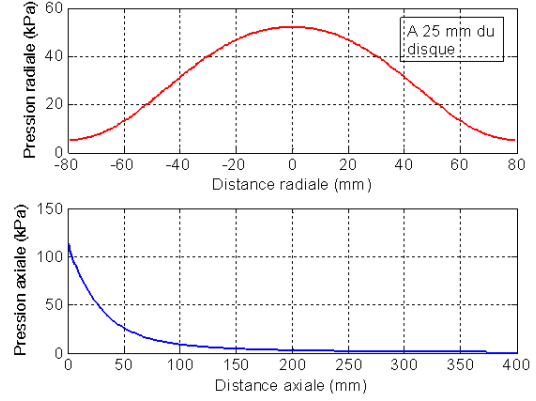


FIGURE 2.21 – Profil de pression axial et profil de pression radial simulés à 25 mm d'un disque de verre résonnant.

résonnant. La longueur d'onde correspondant à l'onde basse-fréquence générée par le disque dans l'eau à une fréquence de 2500 Hz est de l'ordre de 60 cm. La figure 2.22 compare trois profils de pression normalisés : l'un mesuré à l'hydrophone et les deux autres issus de la simulation de la pression rayonnée par un disque-piston (plan) et par un disque résonnant à 2500 Hz. La mesure réelle révèle des amplitudes de pression intermédiaires à ceux calculés dans les deux cas simulés. Malgré ses erreurs d'estimation, il apparaît que la pression basse-fréquence décroît rapidement sous l'axe du disque, pour atteindre des valeurs proches de 5 kPa à 30 cm du disque (figure 2.23).

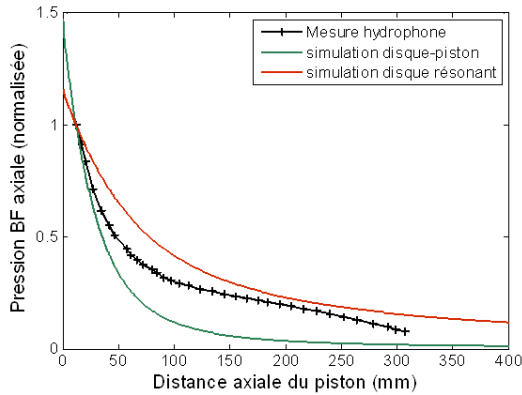


FIGURE 2.22 – Profil normalisé de pression axial dans l'axe du disque résonnant mesuré à l'hydrophone et simulé dans le cas d'un disque-piston (plan) et dans celui d'un disque résonnant à 2500 Hz.

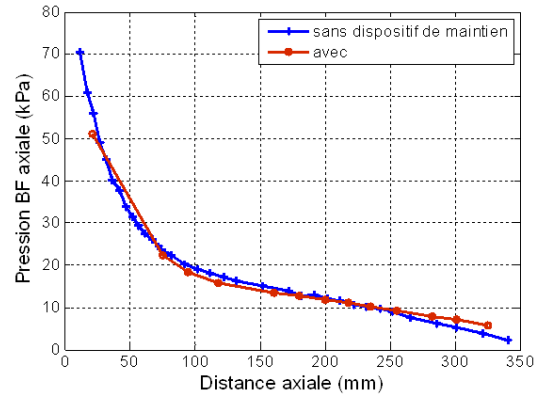


FIGURE 2.23 – Profils de pression basse-fréquence axiaux mesurés sous le disque résonnant à 2500 Hz avec et sans dispositif de maintien de l'échantillon.

La figure 2.23 montre que le profil de pression rayonnée par le disque en résonance n'est pas perturbé de façon significative par l'insertion du support de l'échantillon (présenté sur la figure 2.16).

2.2.4.3 Retards électroniques de la chaîne de mesure

Dans un système de mesure des variations des paramètres de temps de vol et d'amplitude, et de comparaison de ces mesures avec les variations d'amplitude de la pression basse-fréquence, il est important de s'assurer qu'il n'existe pas d'autres sources de déphasage que celles liées à l'étude du milieu.

Le dispositif DAET utilise deux générateurs de fonctions arbitraires, deux amplificateurs de puissance (signaux ultrasonores et basse-fréquence), un pot vibrant, un hydrophone basse-fréquence et son conditionneur, deux transducteurs ultrasonores, un amplificateur des signaux ultrasonores reçus et un oscilloscope. Les déphasages électroniques en émission et en réception des différents éléments de la chaîne de mesure ont été mesurés. Le chronogramme de la figure 2.24 présente les signaux émis et leurs déphasages. L'oscilloscope et les générateurs de signaux sont synchronisés. Le déphasage mesuré entre le trigger de l'oscilloscope et les impulsions électriques en sortie de l'amplificateur de puissance est de 360 ns. Celui observé entre le trigger de l'oscilloscope et l'hydrophone basse-fréquence, et qui traduit le temps de mise en fonctionnement du pot vibrant (retard mécanique) est de l'ordre de la centaine de microsecondes. Ce déphasage très important ne remet toutefois pas en question les représentations des paramètres de la DAET en fonction de l'amplitude de pression basse-fréquence. En effet, c'est bien la pression mesurée à l'hydrophone qui est en phase avec les impulsions ultrasonores reçues, à un-demi temps de vol près. Cette hypothèse de mesure ne peut être faite qu'à condition que l'hydrophone et les transducteurs ultrasonores soient positionnés dans un même plan parallèle au disque, c'est-à-dire à une même distance axiale du disque rayonnant.

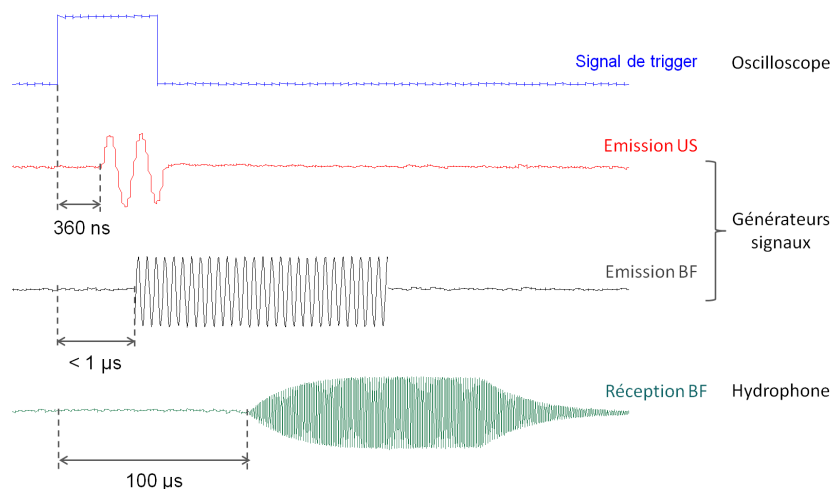


FIGURE 2.24 – Chronogramme des déphasages électroniques de l'émission des signaux ultrasonores et basse-fréquence avec le trigger de l'oscilloscope (qui est le même que celui des générateurs de signaux arbitraires). L'échelle entre les différents signaux (et déphasages) n'est pas respectée.

Un autre déphasage, dit "électro-acoustique", des impulsions ultrasonores provient de la réponse électromécanique des transducteurs ultrasonores. Il est mesuré en faisant la différence entre le temps de vol direct de l'écho principal d'une impulsion ultrasonore et le temps de vol de l'écho secondaire ayant fait un aller-retour supplémentaire dans le milieu. La valeur mesurée est de 500 ns. Ainsi, le temps de propagation utilisé dans le calcul de la

2.3. CONCLUSIONS

vitesse acoustique du milieu est obtenu après avoir soustrait le déphasage électro-acoustique (500 ns) et le déphasage électronique à l'émission (360 ns) du temps de propagation d'une impulsion ultrasonore ayant parcouru le milieu au repos.

2.3 Conclusions

La méthode d'acousto-élasticité dynamique DAET a été précédemment mise au point pour mesurer les non-linéarités viscoélastiques et dissipatives d'un milieu [125, 132, 133]. Elle se base sur les variations de temps de vol (TOFM) et d'amplitudes (RAM) d'impulsions ultrasonores sondes sous l'action d'une sollicitation acoustique basse-fréquence extérieure et sans contact pour estimer les paramètres non linéaires acoustiques d'un milieu. La DAET a été validée dans le milieu de référence qu'est l'eau, en mesurant des valeurs du paramètre non linéaire quadratique β comprises entre 4,8 et 6. Une attention particulière a été apportée dans le maintien du dispositif de façon à limiter les déphasages mécaniques et les problèmes de repositionnement, sources d'erreurs importantes dans le calcul du TOFM et de la RAM (dont les ordres de grandeur sont de l'ordre de la nanoseconde et du pourcent). De même, l'emploi d'un disque en verre résonnant comme source acoustique basse-fréquence a nécessité l'étude du champ de pression particulier rayonné. Les variations d'amplitude associées à la diffraction du champ de pression ont été prises en compte dans le calcul des paramètres TOFM et RAM.

2.3. CONCLUSIONS

Chapitre 3

Mesures préliminaires sur l'os trabéculaire

Sommaire

3.1	Mesures DAET localisées sur des calcanéums entiers	82
3.1.1	Mode opératoire	82
3.1.2	Résultats des mesures DAET	84
3.1.3	Histologie	88
3.1.4	Conclusions	91
3.2	Application de la DAET sur des échantillons osseux trabéculaires parallélépipédiques	92
3.2.1	Influence des encapsulations sur les signaux ultrasonores	92
3.2.2	Mesures DAET sur des échantillons parallélépipédiques et analyse histologique	93
3.2.3	Analyse histologique	96
3.2.4	Conclusions	96
3.3	Mesures DAET dans des solutions de microbulles encapsulées	98
3.3.1	Protocole expérimental	99
3.3.2	Résultats	100
3.3.3	Conclusions	102
3.4	Conclusion	103

Comme expliqué dans le chapitre 1 (paragraphe 1.1.2.2), le calcanéum est un site osseux pertinent pour le diagnostic de l'ostéoporose, notamment dans le contexte des techniques ultrasonores. Témoin important de l'activité métabolique du squelette, il présente l'avantage d'être accessible à la mesure ultrasonore en raison de la faible épaisseur des tissus environnants et de la géométrie quasi parallélépipédique des faces médiolatérales. Ce chapitre présente dans les deux premières parties l'évaluation de l'endommagement natif du tissu osseux trabéculaire de l'os du talon à travers deux études. La première partie porte sur des mesures DAET menées sur des calcanéums humains entiers, dans deux zones de porosités différentes. La seconde étude s'applique à des spécimens de forme parallélépipédique prélevés sur d'autres calcanéums humains et soumis à une série de mesures ultrasonores. En vue de tests mécaniques de fatigue en compression (chapitre 4), les extrémités des échantillons ont été encapsulées dans de la résine époxy. L'influence de ces encapsulations sur les mesures ultrasonores a été étudiée. Enfin, la reproductibilité de la méthode est traitée dans une troisième partie. En effet, des difficultés en lien avec la présence possible de bulles d'air au sein du réseau trabéculaire ont été rencontrées. Pour cette raison, nous présentons également des résultats obtenus dans des solutions d'agents de contraste, pour diverses dilutions, qui ont permis d'identifier la signature non linéaire acoustique complexe de ces microbulles.

3.1 Mesures DAET localisées sur des calcanéums entiers

L'os du talon présente une grande hétérogénéité de porosité sur l'ensemble de son volume. Les trois régions d'intérêt présentées sur la figure 1.8 possèdent également une organisation des travées propre à chacune (type plaques ou tiges). Ces caractéristiques résultent des principales directions de sollicitations mécaniques subies *in vivo* par le calcanéum. Afin d'estimer le niveau d'endommagement natif associé à différentes porosités et organisations des travées, des mesures DAET ont été menées sur deux zones de neuf calcanéums humains.

3.1.1 Mode opératoire



FIGURE 3.1 – ROI soumises à des mesures DAET. La zone (1), de plus faible porosité que la zone (2), se situe sous l'articulation talocalcanéenne postérieure et est soumise à de forts niveaux de sollicitation mécanique.

Choix des zones de mesure Neuf calcanéums humains ont été prélevés sur donneurs et nettoyés à l'aide du procédé Supercritic® de BIOBank. Il s'agit d'une méthode basée

3.1. MESURES DAET LOCALISÉES SUR DES CALCANÉUMS ENTIERS

sur la délipidation du tissu osseux par CO₂ à l'état supercritique permettant d'éliminer les graisses et la moelle osseuse sans dénaturation des molécules de collagène du tissu osseux [156, 157]. Les propriétés viscoélastiques des os sont de cette façon supposées être conservées au mieux, ce qui n'est pas le cas lors d'un dégraissage plus traditionnel par cuisson dans un bain de trichloroéthylène par exemple. Les calcanéums, numérotés de 1 à 9, ont été soumis à des mesures DAET sur deux zones de porosité et d'architecture particulièrement différentes choisies à la suite d'une première série de mesures sur 3 à 4 zones (selon les dimensions des échantillons) de chacune des pièces anatomiques. La figure 3.1 présente les deux zones d'intérêt (ROI, region of interest) retenues :

- La zone (1) se caractérise par une faible porosité et une architecture des travées de type plaque. Elle se situe 2-3 mm codale (*i.e.* en-dessous) sous l'articulation talocalcanéenne postérieure ;
- La zone (2) présente une plus grande porosité, ainsi qu'une relative homogénéité architecturale. Elle se trouve dans la partie postérieure de la grosse tubérosité calcanéenne, 5 mm ventrale (*i.e.* vers l'intérieur) par rapport à l'insertion du tendon calcanéen.

Maintien de l'échantillon La mesure DAET s'applique en transmission dans l'épaisseur de la coupe axiale du calcanéum entier, c'est-à-dire perpendiculairement aux zones 1 et 2 définies en figure 3.1. Pour cela, l'os est maintenu par une pince à bords plats sur sa partie inférieure et placé au centre des transducteurs ultrasonores, dans la zone d'interaction des champs acoustiques basse-fréquence et ultrasonore.

Protocole de mesure Préalablement à chaque mesure DAET, les calcanéums sont immergés dans l'eau et placés dans une enceinte sous vide afin de subir un processus de dégazage permettant l'élimination des bulles d'air emprisonnées dans la structure trabéculaire. Cette phase de dégazage dure plusieurs heures, typiquement trois à quatre heures. A la suite de cela, les calcanéums sont insérés dans le dispositif expérimental et soumis à une série de mesures DAET au niveau des zones 1 et 2. Lors de chaque mesure, les paramètres linéaires de vitesse de propagation acoustique et d'atténuation ont été mesurés. La vitesse de propagation dans l'échantillon $c_{éch}$ est calculée par la technique d'insertion/substitution dans l'eau :

$$c_{éch} = \frac{1}{\frac{\Delta TOF}{L_{éch}} + \frac{1}{c_0}}, \quad (3.1)$$

où ΔTOF est la différence des temps de propagation dans l'eau seule (TOF_0) et dans l'eau et l'échantillon (TOF_{global}). $L_{éch}$ représente la longueur de l'échantillon et c_0 , la vitesse de propagation dans l'eau (seule). Les temps de propagation sont définis par la détection du signal ultrasonore temporel à l'oscilloscope (premier passage à zéro).

L'atténuation à travers l'échantillon est estimée par le calcul de la BUA (broadband ultrasonic attenuation) en dB/MHz :

$$BUA = 20 \log_{10} \left| \frac{S_0(f)}{S(f)} \right|, \quad (3.2)$$

où $|S_0(f)|$ est le module du spectre de la fonction de transfert du signal ultrasonore transmis dans l'eau seule et $|S(f)|$, celui du signal transmis dans l'eau et l'os.

3.1.2 Résultats des mesures DAET

A l'issue des mesures DAET sur l'ensemble des neuf calcanéums, l'analyse des diagrammes instantanés du TOFM et de la RAM en fonction de la pression basse-fréquence a permis le calcul du paramètre non linéaire quadratique β . Les valeurs de β associées aux phases de dilatation (β_d) et de compression (β_c) de l'onde basse-fréquence sont calculées de manière à mettre en évidence l'asymétrie, lorsqu'elle existe, des diagrammes instantanés du TOFM en fonction de la pression basse-fréquence. Cependant, la valeur moyenne de β_d et β_c ne correspond pas à la valeur du β global mesuré sur l'ensemble du diagramme instantané. La figure 3.2 illustre le cas d'une mesure de TOFM instantané asymétrique. Les régressions linéaires faites sur les phases de dilatation et de compression basse-fréquences, à partir desquelles sont calculés les paramètres β_d et β_c , sont très différentes de la régression linéaire effectuée sur la totalité de la courbe.

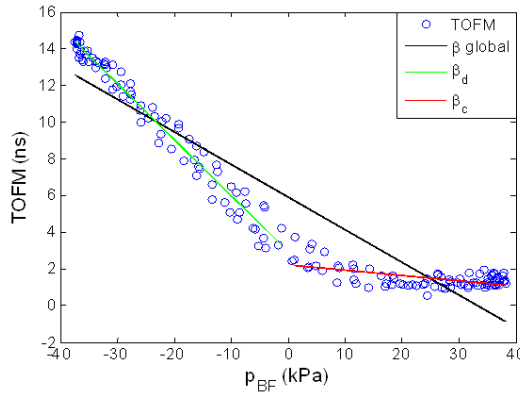


FIGURE 3.2 – Exemple de diagramme instantané du TOFM en fonction de la pression basse-fréquence mesuré sur un échantillon d'os "cuit". La régression linéaire effectuée sur l'ensemble de la courbe permet le calcul du paramètre β . Celles faites sur les phases de pression négative et positive donnent accès respectivement aux calculs de β_d et β_c .

Zone 1 Le tableau 3.1 rassemble les valeurs du paramètre β , ainsi que les mesures de la vitesse de propagation $c_{éch}$ et de BUA pour la zone 1.

Les valeurs des paramètres linéaires mesurés sont moyennement bien corrélées ($r^2 = 0,61$) à cause des valeurs de vitesse de propagation et de BUA du calcanéum n°9. Sans cet échantillon, $r^2 = 0,88$. La vitesse de propagation moyenne mesurée sur cette zone pour l'ensemble des 9 calcanéums est de 1783 ± 205 m/s et celle de la BUA est égale à 109 ± 45 dB/MHz. Leurs écarts-types mettent en relief la grande hétérogénéité de la zone 1.

Deux calcanéums (n°7 et n°9), parmi les neuf testés, exhibent de forts niveaux de non-linéarité acoustique avec des valeurs de β négatives 10 à 30 fois plus importantes que dans

3.1. MESURES DAET LOCALISÉES SUR DES CALCANÉUMS ENTIERS

Echantillon	$c_{éch}$ (m/s)	BUA (dB/MHz)	β	β_d	β_c
1	1587	52	6	5	5
2	1590	66	8	8	7
3	1610	70	3	2	4
4	2084	149	14	20	21
5	1566	50	6	6	6
6	1901	128	8	9	8
7	1905	159	-176	-163	-195
8	2101	141	12	11	11
9	1701	162	-60	-70	-49

TABLE 3.1 – Paramètres linéaires et non linéaires mesurés à travers la zone 1 de neuf calcanéums entiers. β_d et β_c sont les valeurs du paramètre non linéaire quadratique β calculés respectivement pendant les phases de dilatation et de compression basse-fréquence.

l'eau ($\beta = -176$ et -60 , respectivement). La figure 3.3 compare les courbes instantanées des paramètres TOFM et RAM mesurés dans la zone 1 de trois calcanéums (n°1, 3 et 7). L'échantillon n°7 présente des valeurs absolues maximales de TOFM et de RAM respectivement de l'ordre de 12 ns et 1,8%, avec des valeurs légèrement plus importantes pendant les phases de dilatation, tandis que les échantillons n°1 et n°3 révèlent des niveaux de non-linéarité acoustique faibles et différant peu de ceux mesurés dans l'eau. La figure 3.4 présente également les diagrammes instantanés des TOFM et RAM mesurés dans la zone 1 du calcanéum n°9. Pour les deux calcanéums n°7 et n°9, un comportement hystérétique et asymétrique apparaît sur les courbes de TOFM et RAM instantanées, signant des non-linéarités non classiques en comparaison de l'eau. Si l'on suppose que l'origine des non-linéarités acoustiques des calcanéums provient de la présence d'un micro-endommagement natif, l'asymétrie observée sur les diagrammes instantanés des calcanéums n°7 et n°9 peut s'expliquer par la plus grande facilité des microfissures à s'ouvrir (pression négative) qu'à se fermer (pression positive) sous l'action de l'onde basse-fréquence.

Concernant les valeurs de β mesurées sur le calcanéum n°4, elles sont "artificiellement" surévaluées par la valeur de la vitesse de propagation (élevée au cube dans l'équation du β (équation 2.45)) et ne traduisent pas nécessairement des non-linéarités acoustiques supérieures aux autres. D'autre part, quel que soit le milieu testé, lorsque l'atténuation est importante, ce qui est majoritairement le cas dans la zone 1, les impulsions ultrasonores reçues sont de faible amplitude, avec un petit rapport signal sur bruit (figure 3.5). Dans ce cas, à moins de forts niveaux de non-linéarité, les diagrammes instantanés présentent des valeurs de TOFM dispersées assez bruitées, comme l'illustre le cas du calcanéum n°4 sur la figure 3.6. Or, le calcul du paramètre β utilise la pente de la régression linéaire faite sur ce type de diagramme. Ainsi, lorsque les niveaux de non-linéarités observés sont relativement faibles (de l'ordre de ceux mesurés dans l'eau) et qu'il y a une grande dispersion des valeurs de TOFM instantanés due à l'atténuation du signal ultrasonore, la pente est calculée avec une erreur importante et la valeur de β qui en résulte "n'a pas de signification physique".

Une conclusion intéressante de ces premières expérimentations est liée à la comparaison des paramètres linéaires et non linéaires. Comme le laisse apparaître le tableau 3.1, il n'y a pas de corrélation entre les valeurs du paramètre β (surtout celles exhibant de fortes

3.1. MESURES DAET LOCALISÉES SUR DES CALCANÉUMS ENTIERS

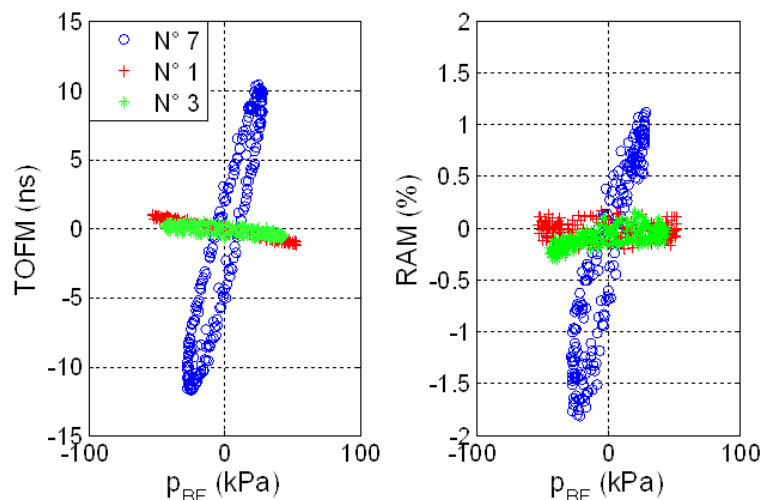


FIGURE 3.3 – Comparaison de 3 diagrammes instantanés du TOFM et de la RAM mesurés sur la zone 1 des calcanéums 1, 3 et 7. Le calcanéum 7 présente de forts niveaux de non-linéarité acoustique, une légère asymétrie entre les phases de dilatation et de compression basse-fréquences, ainsi qu’une tendance hystérétique sur le TOFM, comme sur la RAM.

non-linéarités) et la vitesse de propagation ou la BUA. Ceci semble confirmer le peu de sensibilité des paramètres linéaires à un possible micro-endommagement de ces échantillons.

Zone 2 Le tableau 3.2 récapitule les mêmes paramètres calculés sur la zone 2 des calcanéums entiers. Il apparaît que les non-linéarités mesurées sont quasi inexistantes ou, tout au plus, peu différentes de celles mesurées dans l’eau : valeurs de β proches de 5 (± 2), pas d’asymétrie entre les phases de dilatation et de compression (sauf légèrement pour le calcanéum n°7) et absence de boucle d’hystérésis. Comme attendu, les valeurs des paramètres linéaires de vitesse de propagation (1613 ± 71 m/s) et de BUA (80 ± 29 dB/MHz) sont plus faibles que celles mesurées sur la zone 1 et mieux corrélées ($r^2 = 0,97$). Les écarts-types sont également nettement moins importants et traduisent la plus grande homogénéité de la zone 2 par rapport à la zone 1.

Echantillon	$c_{éch}$ (m/s)	BUA (dB/MHz)	β	β_d	β_c
1	1552	44	7	7	7
2	1557	57	5	4	5
3	1570	73	5	5	4
4	1707	122	5	5	6
5	1546	48	5	5	5
6	1664	97	5	4	5
7	1655	101	1	-3	4
8	1727	120	8	8	9
9	1539	60	1	2	3

TABLE 3.2 – Paramètres linéaires et non linéaires mesurés à travers la zone 2 des neuf calcanéums entiers.

De l’ensemble de ces résultats, il ressort que deux calcanéums seulement parmi neuf

3.1. MESURES DAET LOCALISÉES SUR DES CALCANÉUMS ENTIERS

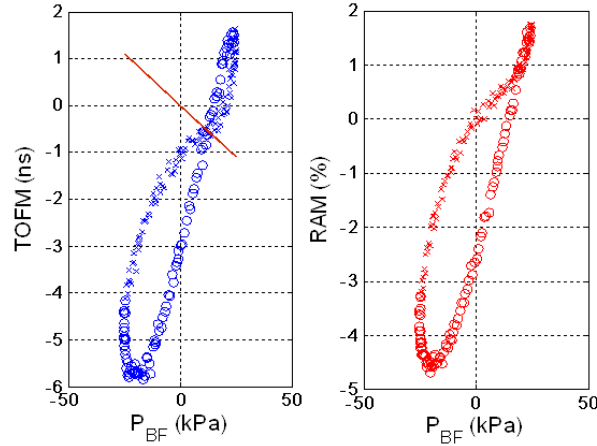


FIGURE 3.4 – Diagrammes instantanés du TOFM et de la RAM mesurés sur la zone 1 du calcanéum n°9. Les ronds et les croix identifient les valeurs de TOFM calculées respectivement lorsque la pression basse-fréquence augmente et diminue. La droite rouge correspond au TOFM théorique de l'eau.

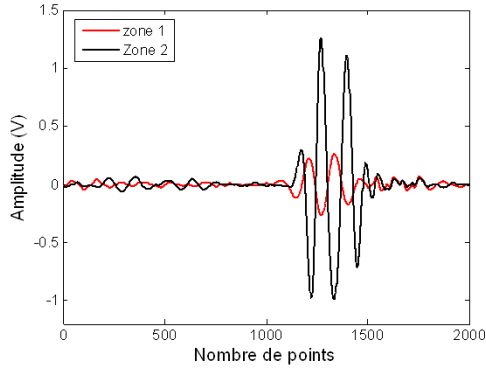


FIGURE 3.5 – Signaux ultrasonores propagés dans le calcanéum n°4 à travers la zone 1 (en rouge) et la zone 2 (en noir), beaucoup moins atténuante.

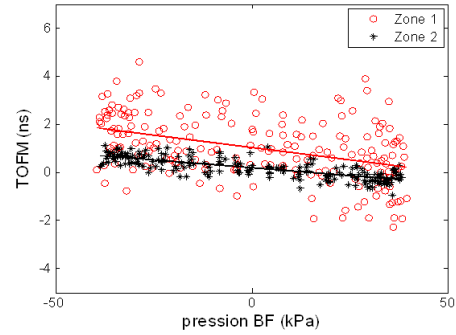


FIGURE 3.6 – Diagrammes instantanés du TOFM issus des mesures effectuées en zone 1 (en rouge) et 2 (en noir) du calcanéum n°4. Les deux droites correspondent aux régressions linéaires de ces courbes.

testés ont présenté de forts niveaux de non-linéarité, sur une zone de faible porosité, avec une valeur de β négative et une asymétrie plus ou moins prononcée entre les phases de dilatation et de compression de la pression basse-fréquence. Dans sa thèse [151], Guillaume Renaud a présenté le résultat d'une mesure DAET effectuée sur un calcanéum dégraissé par cuisson dans une succession de dilutions de trichloroéthylène. L'évolution du TOFM instantané de cet échantillon (figure 3.7) est en opposition de phase par rapport aux résultats obtenus sur les calcanéums n°7 et n°9. Les niveaux de non-linéarités sont équivalents pour le β ($\beta_d = 150$ et $\beta_c = 16$), mais les signes sont différents. Sans en comprendre parfaitement les mécanismes, nous suspectons fortement les propriétés du collagène, préservées dans le cas des échantillons de notre étude (traités BIOBank), d'influencer le signe du paramètre β . Afin de corrélérer ces niveaux de non-linéarités avec la présence de micro-endommagements, une analyse histologique a été menée sur ce calcanéum "cuit" et le calcanéum n°7 de notre étude.

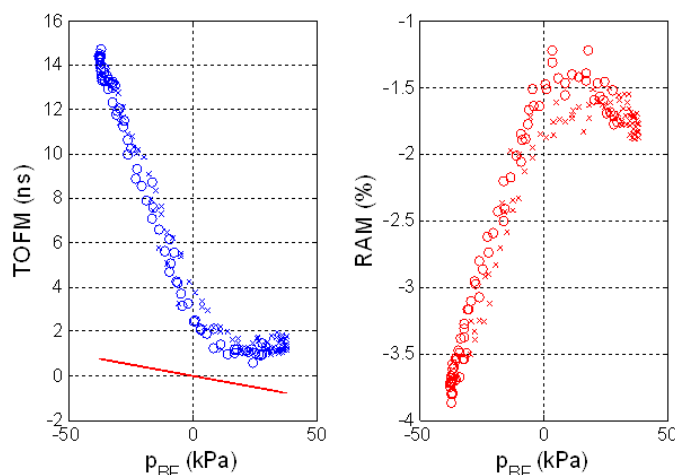


FIGURE 3.7 – TOFM et RAM en fonction de la pression basse-fréquence instantanée mesurés dans la zone 1 du calcanéum dégraissé par cuisson dans des dilutions de trichloroéthylène. Les deux diagrammes présentent une forte asymétrie entre les phases de dilatation et de compression basse-fréquence.

3.1.3 Histologie

L'observation de coupes histologiques prélevées sur deux calcanéums (un traité BIO-Bank et l'autre "cuit") s'est faite au moyen d'un microscope confocal à balayage laser (MCBL). Préalablement, le calcanéum n°7 (BIOBank) a été découpé en deux blocs correspondants aux deux zones d'étude ultrasonore, au moyen d'une scie diamant basse vitesse ISOMET™ (Buehler®). Le calcanéum "cuit" n'a été découpé que dans la zone 1, la zone 2 ayant été endommagée lors de travaux ultérieurs, indépendamment de ce travail de thèse.

Préparation des lames histologiques Chacun des blocs obtenus a été teint avec des marqueurs fluorescents appelés fluorochromes, inclus dans une résine époxy et découpés en lamelles d'observation. La technique de coloration par fluorochromes couplée à une observation au MCBL permet la discrimination de l'endommagement "natif" (*i.e.* présent dans l'os) des artefacts de découpe des lames [66, 72, 99, 158, 159, 160]. Habituellement, cinq fluorochromes sont employés pour la détection du micro-endommagement dans l'os : l'alizarine complexone, le xylénol orange, la calcéine (verte), l'oxytétracycline et la calcéine bleue. Tous se fixent vraisemblablement par chélation avec les ions calcium libérés en surface d'une fissure. Dans cette étude, deux fluorochromes ont été testés : l'alizarine complexone dont le spectre d'émission se situe dans le rouge et la calcéine qui émet dans le vert. Le protocole de coloration appliqué s'inspire de celui développé par Nagaraja *et al.* pour suivre l'accumulation du micro-endommagement dans l'os trabéculaire bovin [161]. Les blocs issus de la découpe des calcanéums ont été plongés pendant 8h dans une dilution d'alizarine complexone à 0,02% (pour le calcanéum n°7) ou une dilution de calcéine à 0,005% (pour le calcanéum "cuit"). La pénétration de la solution au cœur du réseau trabéculaire a été optimisée par un processus de dégazage des échantillons placés dans une enceinte à vide pendant 3h, en début de coloration. Un second dégazage a eu lieu pendant 1h lors de l'étape de rinçage des échantillons avec de l'eau distillée qui visait à éliminer les molécules de fluorochromes en excès (non fixées sur le tissu osseux). Les échantillons ont ensuite

3.1. MESURES DAET LOCALISÉES SUR DES CALCANÉUMS ENTIERS

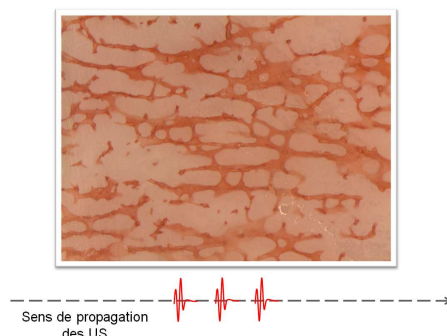


FIGURE 3.8 – Photographie d'une lame d'histologie observée. Lors de la découpe, l'axe horizontal de la lame a été aligné avec le sens de propagation des impulsions ultrasonores (US). L'apparente coloration de la résine époxy en rose résulte de l'éclairage de la lame pour la photographie.

été déshydratés dans des dilutions successives d'alcool, avant d'être inclus dans une résine époxy (Araldite® 2020). La découpe des blocs en lames histologiques de 200 à 300 μm d'épaisseur s'est faite avec une scie diamantée basse vitesse ISOMET™. Elle a été effectuée dans un plan parallèle au chemin de propagation des impulsions ultrasonores lors des mesures DAET (figure 3.8).

Quantification du micro-endommagement La microscopie confocale à balayage laser est une des techniques de référence pour l'observation d'échantillons biologiques en trois dimensions, fournissant des images de haute résolution et permettant d'éliminer la lumière parasite. Son avantage sur la microscopie à fluorescence conventionnelle réside dans la possibilité de visualiser les plans en dehors du plan focal, de façon à discriminer les artefacts de préparation.

Rappelons que le micro-endommagement osseux peut être répertorié selon trois types de fissures (section 1.2.1) :

- la fissure linéique dont la taille intermédiaire se situe entre celle d'un canalicule et celle d'un canal vasculaire,
- les réseaux de fissures linéiques croisées ou parallèles,
- et l'endommagement diffus qui regroupe un ensemble de fissures sub-microscopiques.

A ce classement est venu s'ajouter la rupture de travée qui correspond à un endommagement à l'échelle macroscopique. Cette dernière entre en effet dans les hypothèses d'origine des non-linéarités acoustiques par contact des bords sous l'action de l'onde basse-fréquence.

La quantification du micro-endommagement s'est opérée par un balayage linéaire des lames histologiques sur un champ de vue de l'ordre de 1,7 mm^2 . Les bords des lames ayant pu être endommagés lors de la découpe, l'observation a eu lieu à un champ de vue des bords. Deux types d'endommagement ont été observés sur le calcanéum BIOBank :

1. des fissures linéiques (images (b), (c) et (d) de la figure 3.9),
2. des macro-endommagements qui diffèrent des travées cassées et que nous avons nommés travées "déchirées", dont un exemple est présenté sur l'image (a) de la figure 3.9.

A notre connaissance ce deuxième type d'endommagement n'est pas répertorié dans la littérature, bien qu'il puisse se rapprocher des fissures linéiques décrites par Moore et

3.1. MESURES DAET LOCALISÉES SUR DES CALCANÉUMS ENTIERS

Gibson [42].

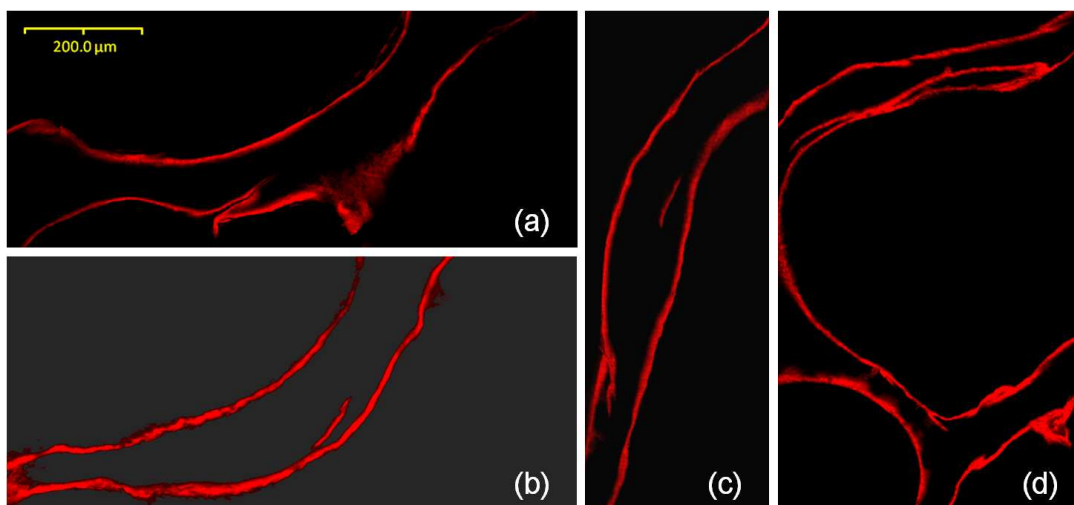


FIGURE 3.9 – Exemples d'endommagements observés au MCBL sur la zone 1 du calcanéum n°7 : (a) et (b), deux fissures linéiques ; (c), une travée "déchirée".

La surface trabéculaire intervenant dans le calcul de la densité d'endommagement totale observée a été mesurée au moyen d'un processus de binarisation des coupes histologiques (à partir des photos comme celle présentée sur la figure 3.8). Le tableau 3.3 présente la quantification de l'endommagement du calcanéum n°7 effectuée sur 3 lames par zone. La zone 1, de grande densité osseuse, révèle un nombre 2 à 2,5 fois plus important de micro-endommagements osseux que la zone 2 pour une surface de tissu osseux relative 30% plus importante. Le plus grand nombre de micro-endommagements n'est donc pas uniquement dû à une quantité plus importante de matière osseuse.

	Zone 1	Zone 2
Cr.Dn. (/mm ²)	0,201 ± 0,015	0,105 ± 0,013
Sp.T.Dn. (/mm ²)	0,263 ± 0,047	0,109 ± 0,039
R.B.Ar. (%)	41,6	29,0

Cr.Dn., densité de fissures linéiques (crack density) ; S.D., écart-type (standard deviation) ; Sp.T.Dn., densité de travées "déchirées" (split trabeculae density) ; R.B.Ar., surface de tissu osseux relative (relative bone area).

TABLE 3.3 – Densité moyenne de l'endommagement observé au MCBL sur 3 lames histologiques prélevées sur les zones 1 et 2 du calcanéum BIOBank.

La zone 1 du calcanéum dégraissé par cuisson dans une succession de dilutions de tri-chloroéthylène a présenté une multitude de traumatismes (micro et macroscopiques) de l'architecture osseuse, d'autant plus délicats à quantifier qu'ils finissent par se rejoindre (une fissure débouchant sur une autre). Une estimation grossière du nombre de fissures laisse penser qu'elles sont au moins dix fois plus nombreuses que dans la zone 1 du calcanéum dégraissé par BIOBank. La figure 3.10 illustre quelques exemples d'endommagements rencontrés.

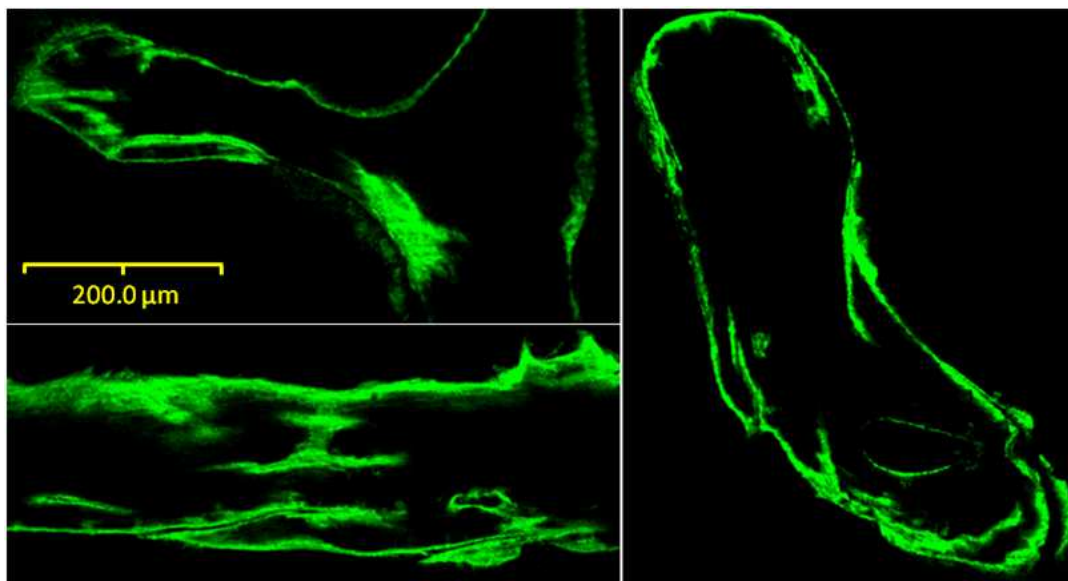


FIGURE 3.10 – Endommagement observé au MCBL dans la zone 1 du calcaneum dégraissé par cuisson dans un bain de trichloroéthylène.

3.1.4 Conclusions

Les mesures DAET sur calcaneums entiers ne se sont pas révélées sensibles au micro-endommagement dans les zones de grande porosité. Dans le cas de régions de faible porosité, deux calcaneums sur neuf testés ont présenté des niveaux de non-linéarités acoustiques significatifs, avec des valeurs de β négatives, égales à -176 et -60. Cependant, ces régions de faible porosité ont systématiquement présenté des mesures bruitées signant un comportement non linéaire en limite de mesure de la méthode DAET. Il existe donc un compromis à faire sur la longueur du matériau sondé pour améliorer la sensibilité de la méthode : une grande atténuation limite le passage des impulsions ultrasonores dans l'os (TOFM du milieu osseux très faible) ; une densité osseuse trop importante contribue à atténuer fortement les impulsions ultrasonores et à dégrader leur rapport signal à bruit. Qu'ils soient dégraissés par la méthode "traditionnelle" de cuisson dans des bains successifs de trichloroéthylène ou par CO_2 supercritique du procédé BIOBank, les calcaneums ont montré sur les régions de forte densité une asymétrie entre les phases de dilatation et de compression, accompagnée dans certains cas d'un comportement hystérétique caractéristique. Ce type de non-linéarités (non classiques) signe plutôt une évolution des paramètres TOFM et RAM selon le double de la fréquence de la pression basse-fréquence. Cependant la différence de signe du paramètre β mesuré dans les calcaneums traités BIOBank ($\beta < 0$) et dans le calcaneum "cuit" ($\beta > 0$) laisse supposer la sensibilité de la méthode DAET à la nature organo-minérale du tissu osseux et donc, à une modification des propriétés viscoélastiques de ce dernier.

L'étude histologique au MCBL des zones de faible porosité des deux calcaneums exprimant de forts niveaux de non-linéarités acoustiques a permis de conforter l'hypothèse selon laquelle ces non-linéarités sont issues de la présence de micro-endommagements dans le tissu osseux trabéculaire. L'analyse de la zone de forte porosité du calcaneum dégraissé

3.2. APPLICATION DE LA DAET SUR DES ÉCHANTILLONS OSSEUX TRABÉCULAIRES PARALLÉLÉPIPÉDIQUES

par BIOBank a révélé un niveau d'endommagement plus faible de moitié que dans la zone dense. Ces différences de niveaux d'endommagement selon les zones ne sont *a priori* pas étonnantes dans la mesure où une plus grande quantité de tissu osseux favoriserait davantage la présence de micro-endommagements. De plus, la proximité de l'insertion articulaire talo-calcanéenne postérieure fait de la zone 1 un endroit privilégié de concentration des contraintes mécaniques du calcanéum par rapport à la zone 2, ce qui pourrait compléter l'explication de la présence multiple de micro-endommagements.

3.2 Application de la DAET sur des échantillons osseux trabéculaires parallélépipédiques

La perte d'information liée à un mauvais rapport signal à bruit, s'opposant à la nécessité de propager les impulsions ultrasonores à travers un maximum de tissu osseux a entraîné la préparation d'éprouvettes d'os trabéculaire spécifiques. Egaleme nt issues de calcanéums humains, elles sont prélevées selon la diagonale délimitée par la grosse tubérosité calcanéenne et l'insertion de l'articulation talo-calcanéenne postérieure (figure 3.11), considérée comme l'axe physiologique de chargement de cet os.

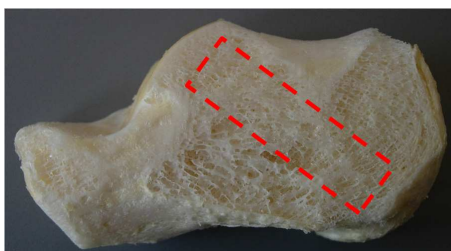


FIGURE 3.11 – Axe de découpe d'une éprouvette aligné selon l'axe physiologique de charge.

Le compromis fait pour minimiser l'atténuation des impulsions ultrasonores dans l'échantillon ($\geq -30\text{dB}$), tout en maintenant une distance de propagation à travers l'os la plus grande possible, nous a amené à limiter la longueur de l'éprouvette à 20-25 mm, selon sa densité osseuse. Dans une perspective de création de micro-endommagements induits par un chargement mécanique, présentée dans le chapitre 4, les bords des éprouvettes sont "encapsulés". Il s'agit d'une inclusion des extrémités de l'échantillon dans des capuchons cylindriques d'épaisseur environ 3 mm obtenus par moulage de résine époxy (Araldite® 2020), dont un exemple est présenté sur la figure 3.12. La fixation des encapsulations imprègne les premières travées de résine époxy sur près d'un millimètre de longueur.

3.2.1 Influence des encapsulations sur les signaux ultrasonores

Lors du paramétrage d'une mesure DAET, le choix de la fréquence ultrasonore a montré que le passage des ultrasons était favorisé pour des fréquences comprises entre 300 kHz et 500 kHz. Lorsque la densité de l'échantillon est faible, les impulsions ultrasonores sont reçues avec une amplitude maximale à des fréquences de 600 à 800 kHz. Les figures 3.13 et 3.14 illustrent la réception d'impulsions ultrasonores de fréquence centrale 300 kHz et 700

3.2. APPLICATION DE LA DAET SUR DES ÉCHANTILLONS OSSEUX TRABÉCULAIRES PARALLÉLÉPIPÉDIQUES



FIGURE 3.12 – Epreuve d'os trabéculaire dont les extrémités sont encapsulées.

kHz, respectivement, propagées dans une éprouvette aux bords libres, puis dans la même éprouvette dont les bords ont été inclus dans des capuchons de résine époxy.

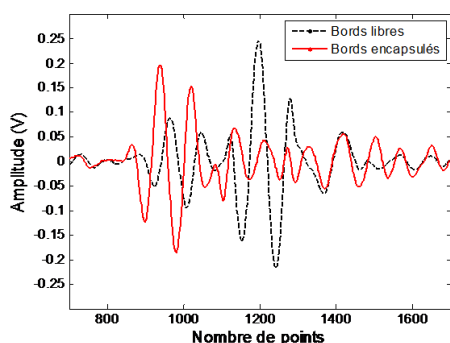


FIGURE 3.13 – Signaux ultrasonores de fréquence centrale 300 kHz ayant traversé le même échantillon avec bords libres, puis bords encapsulés.

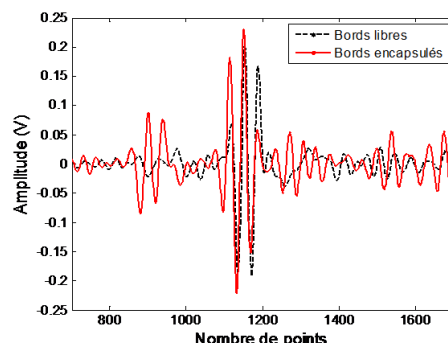


FIGURE 3.14 – Signaux ultrasonores de fréquence centrale 700 kHz ayant traversé le même échantillon avec bords libres, puis bords encapsulés.

Lorsqu'elles traversent l'échantillon osseux, les impulsions ultrasonores se propagent en partie dans l'os, en partie dans l'eau. Comme le montrent les figures 3.13 et 3.14, l'imprégnation des premières travées dans la résine époxy favorise le passage des impulsions ultrasonores dans le tissu osseux et fait apparaître sur les signaux reçus une onde rapide, suivie d'une onde plus lente qui s'est davantage propagée dans l'eau que dans l'os. L'amplitude de l'onde rapide est améliorée lorsque l'échantillon est encapsulé, indépendamment des fréquences ultrasonores considérées, et ce, malgré la réflexion de l'onde ultrasonore à la surface de l'encapsulation (ajout de bruit sur les signaux reçus). D'autre part, le temps de propagation de l'onde rapide est légèrement plus faible et est imputable à la propagation dans l'épaisseur de résine.

3.2.2 Mesures DAET sur des échantillons parallélépipédiques et analyse histologique

L'objectif de ce second protocole consiste à établir le lien entre les niveaux de non-linéarité acoustique mesurés par la méthode DAET et la quantification de l'endommagement natif au sein de ces éprouvettes (à l'aide d'une analyse histologique). Sept échantillons d'os trabéculaire issus de sept calcaneums humains de donneurs différents ont été prélevés selon l'axe décrit plus haut (figure 3.11) et découpés sous forme de parallélépipèdes, mais

3.2. APPLICATION DE LA DAET SUR DES ÉCHANTILLONS OSSEUX TRABÉCULAIRES PARALLÉLÉPIPÉDIQUES

Echantillons	fréquence US (kHz)	$c_{éch}$ (m/s)	BUA (dB/MHz)	β	β_d	β_c
M	600	2240	81,6	-1	-5	5
P	600	1610	60,2	0	-2	0
Q	700	1507	16,5	3	2	3
R	900	1548	12,8	3	3	4
T	600	1586	40,6	4	2	5
X	600	2139	72,5	5	3	7
Z	600	2159	102,7	-119	-125	-128

TABLE 3.4 – Paramètres linéaires ($c_{éch}$ et BUA) et non linéaires (β , β_d et β_c) mesurés sur 7 échantillons d'os trabéculaires découpés en parallélépipèdes. Ces paramètres sont moyennés sur les 3 mesures DAET effectuées successivement, avec repositionnement de l'échantillon entre chaque mesure.

n'ont pas été encapsulés.

Avant chaque mesure DAET, chacune des sept éprouvettes est dégazée dans une cuve à vide pendant trois à cinq heures de façon à éliminer l'air présent dans le réseau trabéculaire. Chaque éprouvette est ensuite soumise à une série de trois mesures DAET successives avec repositionnement de l'échantillon entre chaque acquisition. Le tableau 3.4 rassemble les valeurs moyennes des paramètres linéaires et non linéaires obtenues à partir des trois acquisitions DAET.

Un seul échantillon parmi les sept testés montre d'importants niveaux de non-linéarité acoustique (figure 3.15), reproductibles sur les 3 mesures successives faites avec le repositionnement intermédiaire de l'échantillon. Ce résultat semble cohérent avec les résultats présentés dans la première partie du chapitre, où seulement deux calcanéums sur neuf avaient révélé de forts niveaux de non-linéarité. Les valeurs mesurées de vitesse de propagation ($c_{éch}$) et d'atténuation (BUA) sont assez bien corrélées ($r^2 = 0,76$).

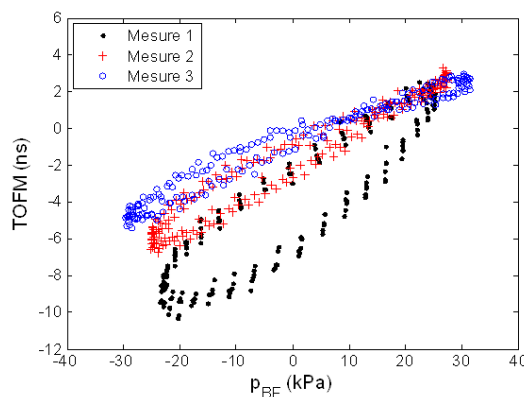


FIGURE 3.15 – Diagramme instantané du TOFM mesuré trois fois sur l'échantillon Z, avec repositionnement, présentant de forts niveaux de non-linéarités.

La reproductibilité de la mesure DAET lors de ce protocole est variable. Les figures 3.15, 3.16 et 3.17 illustrent trois exemples de TOFM instantanés mesurés sur trois échantillons (Z, P et T) dont la reproductibilité varie. La première mesure du TOFM de l'échantillon P (figure 3.16) révèle une asymétrie, une boucle d'hystérésis, ainsi qu'une pente globale posi-

3.2. APPLICATION DE LA DAET SUR DES ÉCHANTILLONS OSSEUX TRABÉCULAIRES PARALLÉLÉPIPÉDIQUES

tive (inverse de l'eau) qu'on ne retrouve pas lors des deux mesures suivantes. Au contraire, l'échantillon T exprime des variations de TOFM identiques d'une mesure à l'autre. Enfin, les trois diagrammes instantanés du TOFM mesuré sur l'échantillon Z présentent un comportement fortement non linéaire qui s'atténue entre la première et la dernière mesure, mais qui conserve globalement les mêmes caractéristiques.

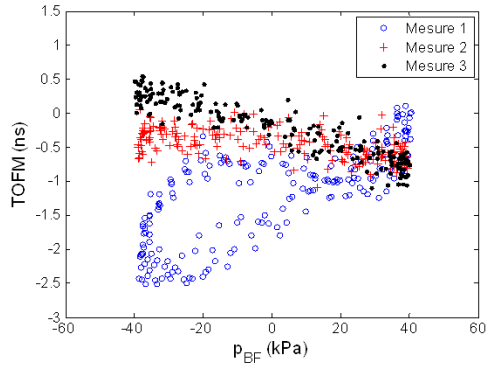


FIGURE 3.16 – TOFM en fonction de la pression basse-fréquence instantanée issus des 3 mesures DAET effectuées sur l'échantillon P.

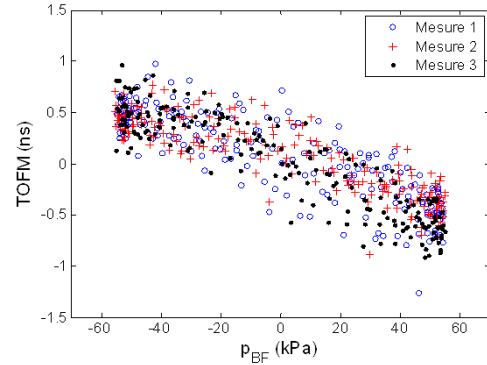


FIGURE 3.17 – TOFM en fonction de la pression basse-fréquence instantanée issus des 3 mesures DAET effectuées sur l'échantillon T.

Une seconde série de dix mesures successives, cette fois-ci sans repositionnement entre les différentes acquisitions, a été menée sur l'échantillon Z. Les diagrammes instantanés du TOFM et de la RAM, tracés sur la figure 3.18, des acquisitions 1, 5 et 9 révèlent à nouveau d'importants niveaux des paramètres TOFM et RAM qui s'atténuent avec le nombre de mesures.

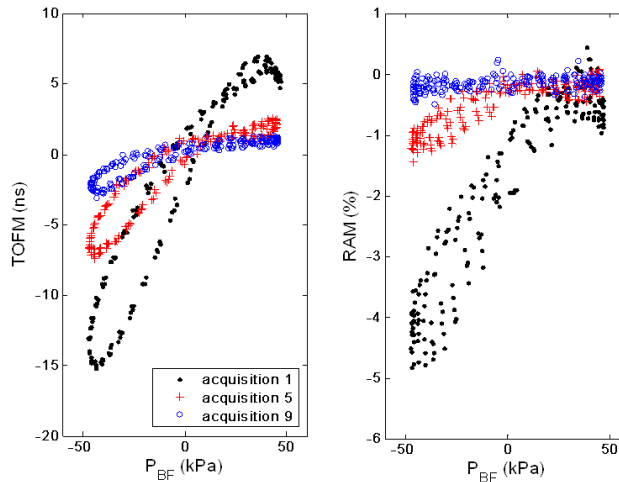


FIGURE 3.18 – Superposition des diagrammes du TOFM et de la RAM mesurés lors des acquisitions 1, 5 et 9 de la série de 10 mesures DAET successives sans repositionnement de l'échantillon Z entre chaque mesure.

Cette dernière série de mesures DAET sur l'échantillon Z soulève une question liée à un éventuel conditionnement de l'échantillon (peut-être même du conditionnement de son micro-endommagement) résultant de la sollicitation basse-fréquence.

3.2. APPLICATION DE LA DAET SUR DES ÉCHANTILLONS OSSEUX TRABÉCULAIRES PARALLÉLÉPIPÉDIQUES

Echantillons	Cr. Dn. (/mm ²)	S.D.
M	0,381	0,120
P	0,115	0,080
Q	0,123	0,030
R	0,080	0,060
T	0,155	0,080
X	0,563	0,010
Z	1,175	0,090

TABLE 3.5 – Quantification du micro-endommagement moyenné sur deux lamelles histologiques prélevées sur sept échantillons trabéculaires de forme parallélépipédique. Cr.Dn. : Densité de fissures et S.D. : écart-type associé.

3.2.3 Analyse histologique

Afin de quantifier le micro-endommagement présent dans les échantillons parallélépipédiques, un protocole de coloration identique à celui décrit en section (3.1.3) a été mis en place. Les sept échantillons ont été colorés avec une dilution à 0,02% d'alizarine complexone, avant d'être inclus dans de la résine époxy. Deux lamelles histologiques d'épaisseur 150 à 300 μm ont été prélevées selon l'axe de propagation des impulsions ultrasonores de chaque échantillon et observées au MCBL avec les précautions décrites dans la section (3.1.3).

La densité des microfissures observées est faible pour six échantillons sur sept, en moyenne égale à $0,236 \pm 0,176$ fissure par mm^2 et n'excédant pas $0,563 \pm 0,010$ fissure par mm^2 . Seul l'échantillon Z présente une densité de fissures bien supérieure, de $1,175 \pm 0,090$ fissures par mm^2 , soit près de cinq fois plus importante que celle observée sur l'ensemble des six autres échantillons. Le tableau 3.5 rassemble les résultats de l'analyse histologique.

Les échantillons M et X ont dévoilé des densités de microfissures inférieures à celle de l'échantillon Z, mais néanmoins notables par rapport à celles présentées par les autres échantillons. Dans ces deux cas particuliers, le micro-endommagement observé se distinguait singulièrement des types de microfissures définis précédemment. Il s'agissait probablement pour l'essentiel de lignes cimentantes fixées par le fluorochrome (figure 3.19), dont les caractéristiques morphologiques se distinguent aisément de celles des microfissures. La probabilité qu'elles constituent une source de non-linéarité acoustique est non négligeable (en tant qu'inclusions molles dans la matrice osseuse, par exemple) et justifie à ce titre, leur dénombrement.

3.2.4 Conclusions

La mesure DAET de sept échantillons parallélépipédiques extraits de calcaneums humains a fait ressortir des niveaux de non-linéarités acoustiques importants sur un seul spécimen. Ce résultat a été corrélé avec la quantification du micro-endommagement existant. En effet, le même échantillon a révélé une densité de fissures équivalant à près de cinq fois celle observée en moyenne sur les six autres.

Les trois mesures successives effectuées sur chaque échantillon, avec repositionnement, ont mis en évidence la reproductibilité variable de la mesure DAET. L'échantillon Z, fortement non linéaire, montre des diagrammes de TOFM instantanés avec une boucle hystéré-

3.2. APPLICATION DE LA DAET SUR DES ÉCHANTILLONS OSSEUX TRABÉCULAIRES PARALLÉLÉPIPÉDIQUES

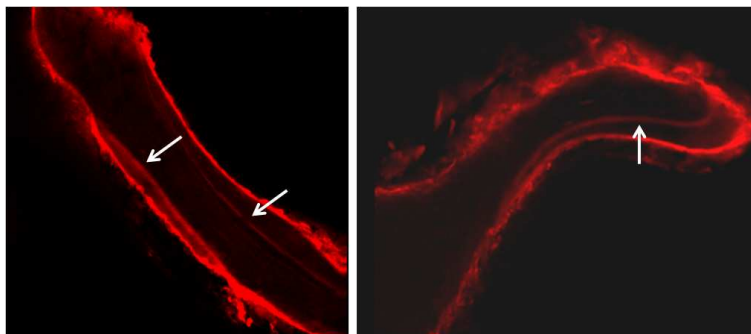


FIGURE 3.19 – Exemples de micro-endommagements évoquant des lignes cimentantes à l'intérieur des travées du tissu osseux.

tique remarquable et une légère asymétrie du TOFM correspondant au maximum de compression basse-fréquence. Ce comportement se retrouve sur les deux mesures suivantes, avec néanmoins une diminution importante des niveaux de ces paramètres. Pour trois échantillons (Q, R et T) sur sept, les trois mesures présentent des résultats qui diffèrent peu entre eux. Trois autres (M, P et X) ont exprimé lors de la première mesure des niveaux de TOFM qui n'ont plus été mesurés lors des deux mesures suivantes. Le diagramme du TOFM instantané de l'échantillon P en particulier, a montré une asymétrie dilatation/compression et une hystérésis laissant supposer la présence de micro-endommagements qui n'a pourtant pas été confirmée par l'analyse histologique de l'échantillon.

De façon générale, nous avons pu observer que le micro-endommagement natif était difficile à mettre en évidence avec l'approche DAET dans sa configuration actuelle. Il semble qu'un niveau minimum (seuil) de microfissures soit nécessaire pour mesurer des non-linéarités significatives. Néanmoins, à chaque fois que les paramètres TOFM et RAM ont présenté d'importants niveaux, une bonne corrélation avec l'analyse histologique a été observée. Toutefois, la suspicion de l'influence de microbulles d'air dissoutes dans l'eau nous a amené à procéder à un second "étalonnage" de la manipulation (en plus de la mesure dans l'eau) en mesurant un bloc de résine époxy non fissuré de la taille des échantillons osseux. Il s'agit d'un matériau homogène donnant des non-linéarités classiques (comportement linéaire du TOFM instantané) avec une valeur de β proche de 11.

Quelques rares fois, la présence de microbulles en surface de l'échantillon a été constatée, signant une évolution du TOFM instantané très différente (asymétrie dilatation/compression et β négatif), comme l'illustre la figure 3.20. Dans ce cas, la RAM associée a présenté une évolution similaire au TOFM instantané, mais pour des niveaux relativement peu importants, de l'ordre de $\pm 0,5\%$. Le rôle des microbulles est très certainement non négligeable et il n'est pas facile de donner un poids à la contribution des bulles d'air dans les mesures DAET. C'est pourquoi la dernière partie du chapitre, dédiée à des milieux à bulles, a pour objectif de caractériser la "signature DAET" de ce type de milieu. Néanmoins, sur l'ensemble des échantillons osseux testés, un échantillon sur huit à dix a montré de fortes non-linéarités, corrélées à une densité de micro-endommagement natif importante. Si les microbulles devaient être l'unique cause de ces non-linéarités, ces dernières auraient été observées sur un plus grand nombre d'échantillons.

3.3. MESURES DAET DANS DES SOLUTIONS DE MICROBULLES ENCAPSULÉES

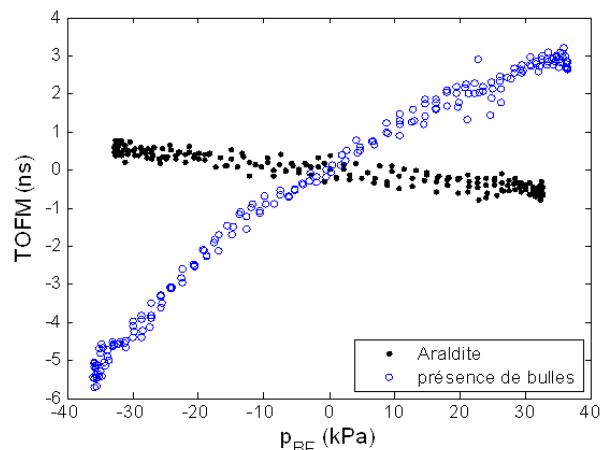


FIGURE 3.20 – Mesures du TOFM sur un bloc d’araldite homogène. La présence de microbulles sur une des face de l’échantillon entraîne une variation du TOFM instantané sensiblement différente (asymétrie dilatation/compression et $\beta < 0$).

3.3 Mesures DAET dans des solutions de microbulles encapsulées

En médecine, les agents de contraste ultrasonores (UCA, ultrasound contrast agent) sont appliqués en diagnostic et en thérapie. En imagerie ultrasonore, ils permettent d’améliorer de façon significative le contraste des images échographiques de certains milieux (sang, tumeurs) ou organes (foie, utérus, vessie) par différents mécanismes : de la simple augmentation de la diffusion de l’onde ultrasonore (augmentation du signal rétrodiffusé) à des phénomènes plus complexes comme la mise en résonance des UCA associée à la génération d’harmoniques. Les constructeurs d’échographes ont donc modifié leurs modules d’émission/réception pour exploiter cette différenciation par rapport au mode B conventionnel, et cette nouvelle modalité d’imagerie est maintenant présente sur toutes les nouvelles machines. A différents stades d’avancement, les UCA sont aussi exploités en thérapie. Par exemple, la sonoporation facilite le passage d’agents thérapeutiques au plus près de l’organe pathologique. Egalement, la thérapie ciblée permet d’améliorer l’incorporation de produits thérapeutiques dans les cellules cibles en associant l’accumulation des drogues transportées par les UCA sur une faible surface et la permibilisation membranaire provoquée par l’interaction des ultrasons avec les microbulles de gaz [162]. Les UCA sont injectés dans l’organisme par voie intraveineuse. En moyenne, on compte deux millions d’UCA par millilitre de solution. Les UCA se composent principalement de microbulles de gaz lourd de quelques μm de diamètre, encapsulées dans une coque protectrice dont l’épaisseur peut varier de quelques nm au μm . La coque est constituée de phospholipides, de protéines, de surfactants ou de polymères [163]. Le gaz employé permet une forte compressibilité. Le phénomène de résonance apparaît pour des fréquences ultrasonores de 1 à 10 MHz, augmentant l’amplitude de l’écho et par là même, le contraste des images.

Dans cette étude, deux agents de contraste (BR14[®] et SonoVue[®]) ont été caractérisés par la méthode DAET pour deux dilutions différentes (1/100 et 1/1000), supérieures à celles employées en imagerie de contraste, et à deux fréquences ultrasonores, 1 et 2 MHz.

3.3. MESURES DAET DANS DES SOLUTIONS DE MICROBULLES ENCAPSULÉES

Fréquence US concentrations	1 MHz 1/100	1 MHz 1/1000	2MHz 1/100	2 MHz 1/1000
BR14[®] (nombre d'acquisitions)	4 mesures (44, 22, 17, 29)	1 mesure (11)	2 mesures (21, 26)	1 mesure (20)
SonoVue[®] (nombre d'acquisitions)	2 mesures (16, 20)	1 mesure (11)	2 mesures (46, 32)	1 mesure (165)

TABLE 3.6 – Résumé des différentes configurations testées (type d'UCA, dilution et fréquence ultrasonore utilisés) et nombre d'acquisitions faites pour chacune d'entre elles.

3.3.1 Protocole expérimental

Les agents de contraste BR14[®] et SonoVue[®] ont été fournis par Bracco Research (Tranquart, Bracco, Genève) [163]. Les microbulles SonoVue[®] (BR-1) sont des bulles d'hexafluorure de soufre (SF_6) enrobées par une paroi de phospholipides. Leur taille varie entre 1 et 12 μm pour un diamètre moyen de 12,5 μm . Les bulles BR14[®] sont constituées de perfluorobutane (C_4F_{10}) et sont également encapsulées par une coque de phospholipides. Pour la mesure DAET, les UCA sont injectés avec une seringue dans une petite cuve en plexiglas, fermée et remplie d'eau. Chacune des conditions expérimentales définies (concentration d'UCA injectée, fréquence des impulsions ultrasonores) est répétée plusieurs fois, avec rinçage de la cuve et réinjection d'UCA, permettant d'estimer la reproductibilité de la mesure. Pour chaque mesure, plusieurs "tirs" DAET sont successivement effectués, sans repositionnement de la cuve, de façon à suivre l'évolution des niveaux de non-linéarité acoustique mesurés au fur et à mesure de la diminution de la concentration des UCA : disparition "naturelle" due à la stabilité limitée des UCA et/ou sous l'action de l'onde basse-fréquence et des impulsions ultrasonores. Ainsi, chaque mesure se décompose en 15 à 50 acquisitions successives, espacées d'environ 40 secondes. Afin de retarder la destruction des UCA, l'amplitude de pression basse-fréquence a été limitée à ± 15 kPa et le nombre de cycles basse-fréquences à 50 (figure 3.21) pour un disque résonant autour de 3 kHz. Le tableau 3.6 résume les dilutions, les fréquences ultrasonores utilisées et le nombre d'acquisitions effectuées par mesure dans les différents protocoles.

La figure 3.21 illustre une acquisition type avec la forme caractéristique de l'onde basse-fréquence résonante et l'ensemble des impulsions ultrasonores ayant sondé le milieu. Cette acquisition correspond à la mesure effectuée sur des BR14[®] concentrées à 1/100, à une fréquence ultrasonore de 2 MHz. Un agrandissement sur quelques périodes basse-fréquences (figure 3.22) met en évidence l'atténuation extrêmement forte des impulsions ultrasonores lors des phases de compression basse-fréquence. Cette atténuation forte durant les phases de compression de l'onde basse-fréquence n'est pas intuitive. En effet, avec la réduction du diamètres des microbulles sous l'action de la compression hydrostatique, l'augmentation de la transparence ultrasonore du milieu aurait été attendue. Une explication différente, en lien avec l'existence d'un gradient de contrainte autour de la bulle, peut être avancée, lorsque le diamètre de celle-ci diminue. La compressibilité du gaz étant 1000 fois supérieure à celle de l'eau, la dynamique de réduction du volume de la bulle est très rapide du côté du gaz et plus lente du côté de l'eau. Ceci pourrait engendrer une déflexion de l'onde plane ultrasonore incidente (impulsions ultrasonores) au voisinage des bulles, limitant l'énergie

3.3. MESURES DAET DANS DES SOLUTIONS DE MICROBULLES ENCAPSULÉES

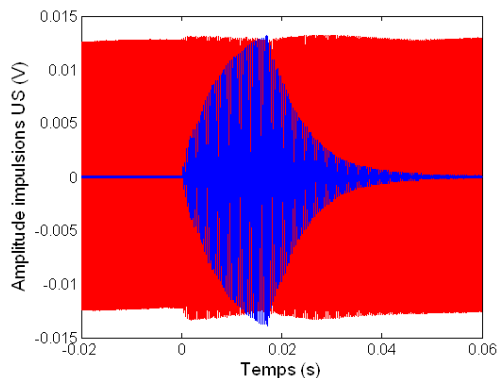


FIGURE 3.21 – Onde basse-fréquence (en bleu) et impulsions ultrasonores (en rouge) reçues lors d’une acquisition (BR14[®], 1/100).

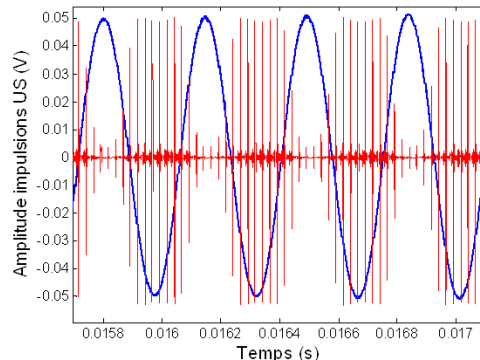


FIGURE 3.22 – Agrandissement sur quelques périodes BF de la figure 3.21. Pendant les phases de compression, l’atténuation des impulsions ultrasonores est presque totale.

ultrasonore finale sur le transducteur en réception.

3.3.2 Résultats

La vitesse de propagation des impulsions ultrasonores se propageant dans le milieu au repos (sans sollicitation basse-fréquence) est quasi identique à celle de l’eau (1500 m/s) et leur atténuation très faible (de l’ordre de 2,5 dB/MHz). Au contraire, dès que les UCA sont soumis à l’onde basse-fréquence, la variation d’amplitude des impulsions ultrasonores est très importante. La figure 3.23 montre le module du spectre fréquentiel d’impulsions ultrasonores de fréquence centrale 1MHz ayant sondé une dilution à 1/100 de SonoVue[®] dans différents états de pression basse-fréquence. La variation d’amplitude y est évidente et peut atteindre près de -40dB à -60dB.

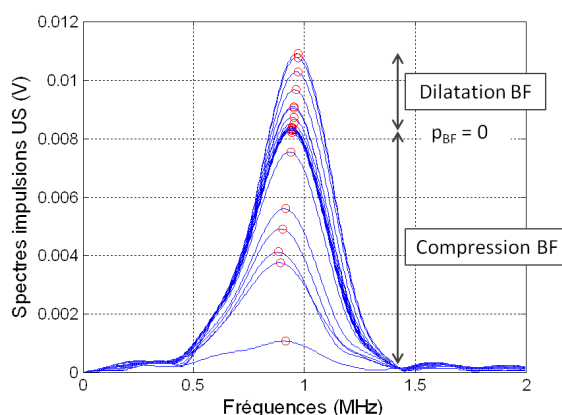


FIGURE 3.23 – Modules du spectre fréquentiel des impulsions ultrasonores 1MHz ayant sondé les UCA SonoVue[®] diluées à 1/100.

Pour chaque mesure effectuée, le calcul du TOFM des impulsions ultrasonores qui ont traversé le mélange eau distillée/microbulles permet de remonter au paramètre non linéaire quadratique β global. Le comportement des UCA s’est révélé fortement asymétrique

3.3. MESURES DAET DANS DES SOLUTIONS DE MICROBULLES ENCAPSULÉES

selon les phases de compression et de dilatation de la pression basse-fréquence, amenant à distinguer la valeur du paramètre β dans les phases de compression (β_c) et d'expansion (β_d) basse-fréquences.

La figure 3.24 donne un exemple de l'évolution temporelle du TOFM, de la RAM et de la pression basse-fréquence mesurées sur une solution de bulles SonoVue[®] concentrées à 1/100 et sondée avec des impulsions ultrasonores de fréquence centrale 1MHz. Un agrandissement sur quelques périodes du signal basse-fréquence révèle des modulations du temps de vol et de l'amplitude des impulsions ultrasonores bien moindres pendant les phases d'expansion que dans les phases de compression hydrostatique basse-fréquence (figure 3.25). Ce comportement asymétrique est attendu dans les microbulles. En effet, celles-ci se dilatent plus facilement (plus "linéairement") qu'elles ne se compriment. Ceci explique également les niveaux de non-linéarités beaucoup plus élevés observés pendant les phases de compression. C'est en effet lors des phases de compression qu'apparaissent des changements de modes de résonance. Les microbulles n'ont donc pas la même cinétique pour chacune de ces phases, pouvant expliquer l'asymétrie retrouvée dans les résultats des mesures DAET.

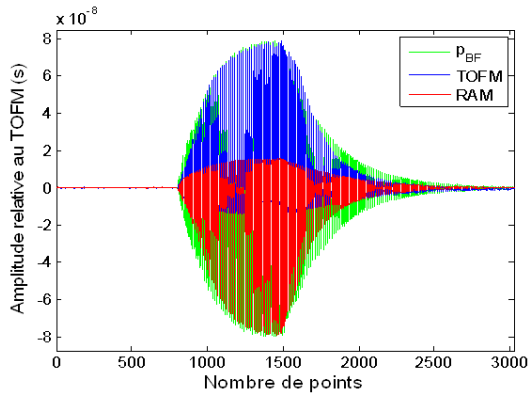


FIGURE 3.24 – TOFM, RAM et pression basse-fréquence en fonction du temps obtenus pour la mesure à 1MHz de bulles SonoVue[®] concentrées à 1/100.

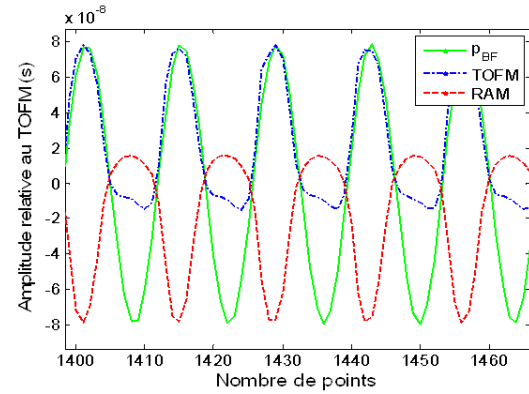


FIGURE 3.25 – L'agrandissement fait sur quelques périodes basse-fréquences met en évidence l'asymétrie du TOFM et de la RAM due à un comportement plus linéaire des bulles SonoVue[®] en dilatation, comparativement aux valeurs en compression.

L'évolution asymétrique du TOFM et de la RAM est confirmée sur la représentation instantanée de ces paramètres en fonction de la pression-basse fréquence (figure 3.26). Néanmoins, si le comportement non linéaire des bulles SonoVue[®] semble moins marqué pendant les phases d'expansion basse-fréquence que dans les phases de compression, les modulations de temps de vol correspondantes atteignent des valeurs de près de -20 ns (contre 75 ns pendant les cycles de compression). Ces valeurs de TOFM sont équivalentes aux niveaux de TOFM maximums mesurés dans l'os trabéculaire endommagé.

Les tableaux 3.7 et 3.8 rassemblent les valeurs de β mesurées dans chaque configuration, toutes les 5 acquisitions. L'asymétrie forte du TOFM est évidente entre les phases de compression et de dilatation hydrostatiques. Au fur et à mesure des "tirs" DAET, les niveaux de non-linéarités acoustiques (valeurs de β relatives) diminuent systématiquement pour les UCA BR14[®]. Seule la configuration 2MHz- 1/1000 montre des valeurs de β_c qui augmentent avec le temps (changeant de signe dès la deuxième acquisition).

3.3. MESURES DAET DANS DES SOLUTIONS DE MICROBULLES ENCAPSULÉES

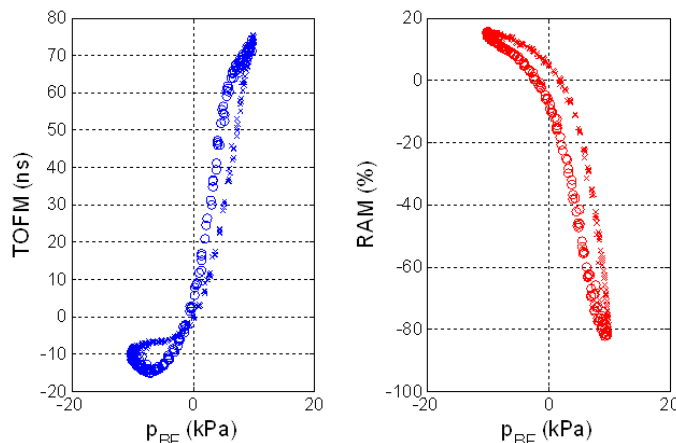


FIGURE 3.26 – Diagrammes instantanés du TOFM et de la RAM des impulsions ultrasonores à 1MHz, pour la dilution de SonoVue® à 1/100.

Enfin, les figures 3.27 à 3.30 rassemblent les diagrammes instantanés des paramètres TOFM et RAM calculés à la 11^{ème} acquisition de chaque série de mesure DAET effectuée sur les deux UCA disponibles. Dans tous les cas, les agents de contrastes ont un comportement non linéaire plus atténué pendant les phases de dilatation basse-fréquence ; même si les niveaux relevés sont de l'ordre de grandeur des plus forts niveaux mesurés dans l'os trabéculaire. Les phases de compression hydrostatique présentent des comportements beaucoup plus variés selon la dilution étudiée et la fréquence ultrasonore choisie. Il ressort que le TOFM mesuré à 2MHz, quelque soit la dilution et l'agent de contraste, est négatif. Au contraire, à 1MHz, les deux UCA aux deux dilutions étudiées présentent des TOFM positifs. En ce qui concerne la RAM, pendant les phases de dilatation basse-fréquence, il n'y a pas de lien évident entre dilution, fréquence ultrasonore et signe de la RAM (elle est indifféremment positive ou négative). En revanche, la RAM mesurée pendant les phases de compression hydrostatique est toujours négative, à l'exception des UCA BR14® diluées à 1/1000 et sondées avec des impulsions ultrasonores à 2MHz.

La reproductibilité des mesures DAET est excellente dans cette étude et se distingue, en ce sens, des expériences préliminaires menées sur l'os trabéculaire.

3.3.3 Conclusions

Il ressort de cette étude une très bonne reproductibilité des mesures DAET sur les agents de contraste SonoVue® et BR14®. Les diagrammes des non-linéarités élastiques et dissipatives, dans les mêmes configurations expérimentales (dilution UCA/fréquence ultrasonore), ont présenté chaque fois le même comportement et les mêmes valeurs. D'autre part, la méthode DAET s'est révélée très sensible aux non-linéarités acoustiques des UCA. Les valeurs du paramètre β obtenues sont très importantes, jusqu'à plus de 2000. Comme attendu, les microbulles encapsulées ont affiché un comportement asymétrique fort [164]. Enfin, de nombreuses valeurs du β ont été calculées négatives, ce qui n'est pas évident à expliquer. Dans la littérature, Dumortier [165] a également observé ce comportement.

3.4. CONCLUSION

Acq. n°	Temps (min)	1MHz-1/100		2MHz-1/100		1MHz-1/1000		2MHz-1/1000	
		β_d	β_c	β_d	β_c	β_d	β_c	β_d	β_c
1	0	544	-435	554	3778	461	381	-274	-18
6	3	298	-806			113	-298	-24	267
11	6	153	-694	191	2402	70	-393	20	357
16	9	82	-651	152	1778			26	375
21	12	37	-659	106	1417				
26	15	30	-655						

TABLE 3.7 – Tableau résumant les valeurs du paramètre β calculées pour différentes configurations dilution/fréquence ultrasonore, sur l'ensemble des acquisitions (Acq.) faites sur les UCA BR14[®]. Le comportement asymétrique entre les phases de dilatation (β_d) et de compression (β_c) basse-fréquence est manifeste.

Acq. n°	Temps (min)	1MHz-1/100		2MHz-1/100		1MHz-1/1000		2MHz-1/1000	
		β_d	β_c	β_d	β_c	β_d	β_c	β_d	β_c
1	0	-316	160	-38	1333	-12	-342	7	-318
6	3	-214	-675	4	1493	-12	-339	8	333
11	6	-125	-827	47	2121	-13	-247	6	327
16	9	-94	-870	62	2598			7	312
21	12			40	2278				

TABLE 3.8 – Tableau résumant les valeurs du paramètre β calculées pour l'ensemble des mesures faites sur les UCA SonoVue[®].

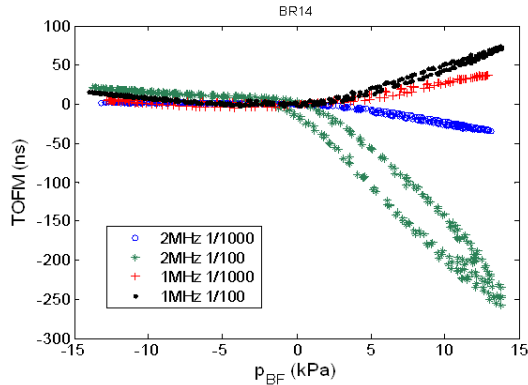


FIGURE 3.27 – Comparaison des courbes du TOFM en fonction de la pression basse-fréquence instantanée mesurées sur les BR14[®] dans les différentes configurations dilution/fréquence US.

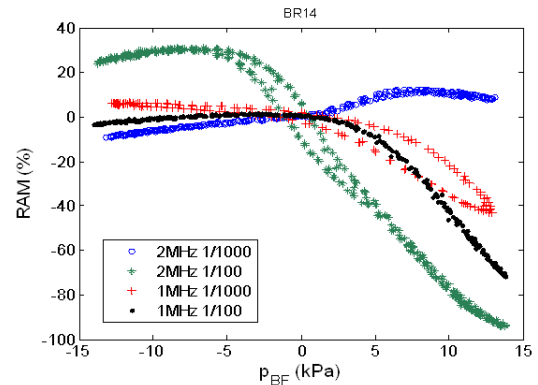


FIGURE 3.28 – Comparaison des courbes de la RAM mesurée dans les UCA BR14[®] pour les différentes configurations expérimentales.

3.4 Conclusion

Les études préliminaires présentées dans ce chapitre ont permis de montrer la sensibilité de la méthode DAET à l'endommagement natif du tissu osseux trabéculaire. Elle s'est révélée moyenne sur les deux protocoles menés sur des calcanéums entiers et des éprouvettes parallélépipédiques puisque seulement 25% des calcanéums entiers et seulement 14% des éprouvettes ont présenté de forts niveaux de non-linéarité acoustique. Cependant, l'étude

3.4. CONCLUSION

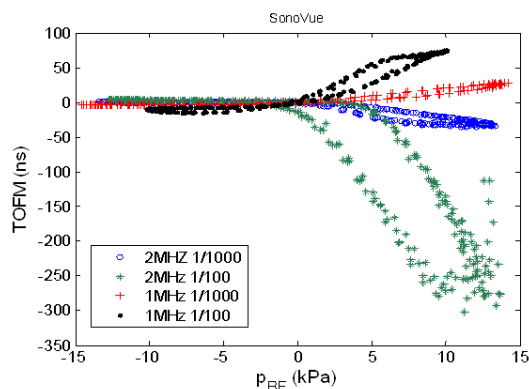


FIGURE 3.29 – Comparaison des courbes du TOFM en fonction de la pression basse-fréquence instantanée mesurées sur les SonoVue[®] dans les différentes configurations dilution/fréquence US.

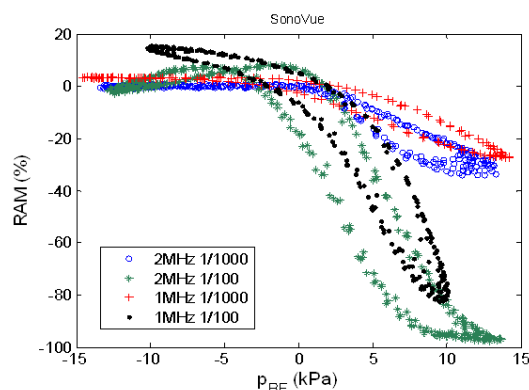


FIGURE 3.30 – Comparaison des courbes de la RAM mesurée dans les UCA SonoVue[®] pour les différentes configurations expérimentales.

histologique menée sur ces spécimens a mis en évidence une faible densité de fissures générale, à l'exception des échantillons ayant présenté d'importants niveaux de non-linéarité.

La reproductibilité des mesures DAET dans le tissu osseux trabéculaire s'est révélée faible et complexe. Les sources de variabilité peuvent être imputées à la présence de microbulles, malgré les étapes de dégazage longues qui ont été mises en place, mais également à des phénomènes de conditionnement du tissu osseux endommagé. En effet, cette variabilité a été essentiellement observée pour les échantillons présentant à l'analyse histologique une densité de microfissures élevée. Pour limiter ses perturbations, un produit surfactant a été ajouté à l'eau de la cuve expérimentale.

Afin de tenter d'estimer l'influence des microbulles d'air sur la mesure DAET, une étude a été menée sur des agents de contraste. Les niveaux de non-linéarités relevés sont très élevés, avec des valeurs de β pouvant atteindre 2000. Selon la dilution de produit de contraste et la fréquence ultrasonore des transducteurs, les comportements observés diffèrent. Pourtant, les variations des paramètres TOFM et RAM sont apparues dans tous les cas bien plus importantes pendant les phases de compression basse-fréquence que pendant celles de dilatation. De plus, la méthode DAET a montré une excellente reproductibilité lors de ces mesures.

Dans le tissu osseux, il semble que les niveaux de non-linéarité détectables par la méthode DAET soient pertinents à partir d'un seuil de densité de microfissures présentes dans le tissu osseux. Le peu d'échantillons ayant présenté ces niveaux indique que ce seuil semble difficile à atteindre à l'état natif. Dans ce sens, un protocole incluant des essais mécaniques a été mis en place pour la création de micro-endommagements, associés à des mesures DAET. Ce protocole fait l'objet du chapitre suivant, dans lequel la partie liée à l'endommagement mécanique induit a été réalisée en collaboration étroite avec le laboratoire de BioMécanique (LBM) des Arts et Métiers ParisTech dans le cadre du projet ANR Blanc "Bone Mechanical Health Assessment using Nonlinear Ultrasound Techniques" (BONUS 2007-2010).

Chapitre 4

Sensibilité de la méthode DAET au micro-endommagement osseux mécaniquement induit

Sommaire

4.1	Descriptif de l'étude	106
4.1.1	Préparation des échantillons	107
4.1.2	Protocoles de mesures DAET	108
4.1.3	Mise en place des essais mécaniques	109
4.1.4	Préparation des échantillons pour l'analyse histologique	111
4.2	Présentation des résultats	112
4.2.1	Essais mécaniques	112
4.2.2	Analyse des mesures DAET	113
4.2.3	Discussion sur les mesures DAET	123
4.2.4	Apport de l'analyse histologique	130
4.3	Conclusions	133

Les mesures préliminaires sur des échantillons osseux trabéculaires (calcanéums entiers et éprouvettes découpées) ont montré le potentiel de la méthode DAET à révéler de forts niveaux de non-linéarités acoustiques en lien avec la présence d'une densité importante de micro-endommagements. Comme expliqué dans le chapitre 3, ces résultats sont toutefois modérés par une reproductibilité moyenne de la mesure des paramètres non linéaires. Par ailleurs, le nombre d'échantillons présentant un niveau de micro-endommagement natif mesurable par la méthode DAET est faible (un sur huit à neuf). Partant de ce constat, un nouveau protocole de mesures des non-linéarités acoustiques sur des échantillons trabéculaires ayant subi un endommagement mécaniquement induit par fatigue a été mis en œuvre. Ce chapitre s'articule autour de trois parties traitant successivement des différentes étapes du protocole suivi, des résultats obtenus et enfin de leur interprétation.

4.1 Descriptif de l'étude

Des mesures DAET ont été effectuées, avant et après l'endommagement mécanique, de façon à évaluer la sensibilité de la méthode à l'accumulation de micro-endommagements osseux. Dans l'absolu, l'objectif principal de cette étude a consisté à quantifier la sensibilité de la mesure DAET à un micro-endommagement induit, c'est-à-dire à un niveau de micro-endommagement supérieur à celui observé la plupart du temps à l'état natif. En pratique, la création d'endommagements induits par fatigue s'est révélée plus délicate que prévue. Dans les faits, cette étude a fait l'objet de deux protocoles similaires réalisés à un an d'intervalle, avec dans un cas l'ajout d'une analyse histologique. C'est pourquoi nous parlerons par la suite d'un protocole 1 et d'un protocole 2. La figure 4.1 synthétise les grandes étapes suivies

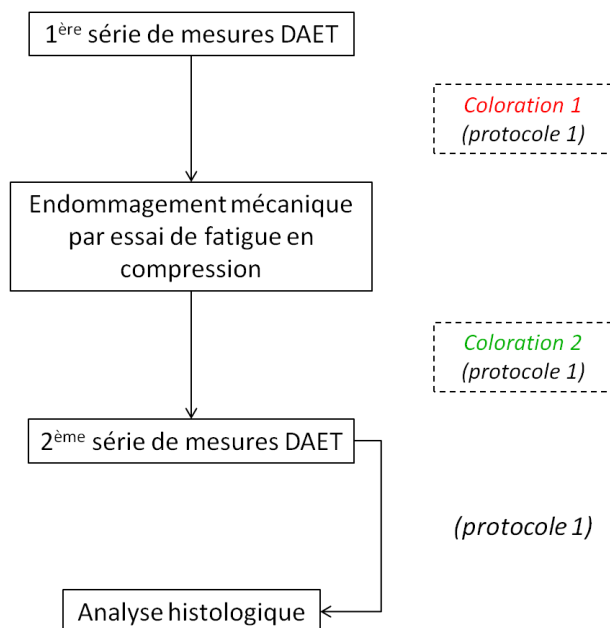


FIGURE 4.1 – Etapes principales du protocole général (identiques aux protocoles 1 et 2), avec l'ajout d'une analyse histologique dans le cas du protocole 1.

Les résultats présentés ci-après sont issus d'échantillons ayant effectivement satisfait

4.1. DESCRIPTIF DE L'ÉTUDE

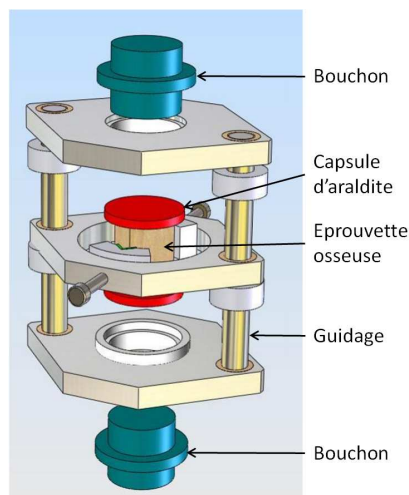


FIGURE 4.2 – Dessin de conception du dispositif dédié à l'encapsulation des éprouvettes d'os trabéculaire.

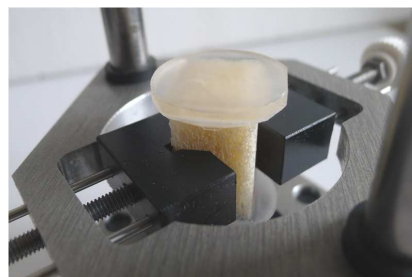


FIGURE 4.3 – Photo d'un échantillon dont les bords ont été encapsulés, maintenu dans le dispositif conçu à cet effet.

aux critères d'achèvement des essais mécaniques, à savoir une diminution de leur module d'Young de 40 à 50% (selon le protocole).

4.1.1 Préparation des échantillons

La préparation des éprouvettes d'os trabéculaire est pour l'essentiel la même que celle décrite dans la partie 3.2. Les échantillons utilisés sont issus de calcanéums humains nettoyés au moyen du procédé supercritic[®] BIOBank. Lors de la découpe d'une éprouvette, l'axe principal est aligné avec l'axe du calcanéum délimité par la grosse tubérosité calcanéenne et l'insertion de l'articulation talo-calcaneenne postérieure (figure 3.11 du chapitre 3). Ce prélèvement est effectué au moyen d'une scie diamantée basse vitesse ISOMET[™] (Buehler[®]) sous irrigation. L'homogénéité de la structure trabéculaire est privilégiée sur toute la longueur de l'échantillon. Bien que dépendantes du matériel osseux disponible (dimensions initiales des calcanéums), les éprouvettes réalisées présentent typiquement des dimensions de l'ordre de 20 à 25 mm de longueur et 15 à 16 mm de côté. Lors de la découpe, un soin particulier est apporté au parallélisme des faces des éprouvettes, parachevé par la réalisation d'un fraisage sur échantillons secs. Une dernière étape, conditionnée par la mise en oeuvre des essais mécaniques [93], consiste à inclure les bords des éprouvettes dans deux "capsules" de résine époxy (Araldite[®] 2020) de 3 mm d'épaisseur, imprégnant les premières travées sur près d'1 mm de longueur (figure 3.12). La réalisation des encapsulations a nécessité de concevoir un dispositif dédié¹, illustré sur les figures 4.2 et 4.3.

Le processus d'encapsulation se déroule en deux temps. Une fois l'échantillon enserré dans les "mors" de maintien du dispositif (blocs noirs de polyoxyméthylène sur la figure 4.3), de la résine époxy est coulée dans le bouchon inférieur, puis laissée polymérisée pendant près d'1h30 à 37°C. Cette étape de pré-polymérisation permet d'éviter à la résine

1. Pour les essais mécaniques, un simple collage des capsules aux extrémités des échantillons aurait suffi, mais les points de colle, pendant les mesures DAET, peuvent devenir la source de non-linéarités de contact ; d'où le choix d'une inclusion des bords dans de la résine.

devenue visqueuse, de remonter par capillarité dans la structure trabéculaire. L'extrémité inférieure de l'os est ensuite plongée dans cette résine et l'ensemble est placé dans une étuve à 37°C pour poursuivre la polymérisation de l'araldite. L'ensemble des deux étapes est réitéré pour la seconde extrémité de l'échantillon, après avoir retourné l'ensemble du dispositif d'encapsulation (tout en gardant l'échantillon maintenu entre les mors du dispositif).

Par ailleurs, le système de guidage du dispositif permet d'assurer un parallélisme des encapsulations indispensable à la réalisation des essais mécaniques. Toutefois, une dernière étape consiste à procéder au fraisage des encapsulations, de façon à corriger les éventuels défauts de parallélisme des faces et éliminer les irrégularités de surface créées lors du moulage de la résine époxy.

4.1.2 Protocoles de mesures DAET

Préalablement à chaque mesure DAET, les échantillons encapsulés sont plongés dans l'eau et subissent une phase de dégazage (élimination des bulles d'air piégées dans la structure trabéculaire), avant d'être insérés dans le dispositif expérimental.

La fréquence centrale des impulsions ultrasonores est choisie de façon à obtenir un signal en réception avec le meilleur rapport signal à bruit possible. L'os trabéculaire saturé en eau est un milieu biphasique dans lequel le signal ultrasonore se propage à la fois dans l'eau et dans l'os, avec une affinité plus grande pour l'un des deux milieux selon la porosité de l'échantillon. Comme mentionné précédemment (section 3.2.1), cette caractéristique fait apparaître deux ondes sur le signal ultrasonore en réception. La première, de faible amplitude, se propage davantage dans le tissu osseux. C'est l'onde dite rapide. Elle se distingue davantage pour des fréquences ultrasonores comprises entre 300 kHz et 500 kHz². La seconde, appelée onde lente, privilégie le passage dans l'eau et s'exprime davantage pour des fréquences ultrasonores comprises entre 600 kHz et 1 MHz. Son amplitude est presque toujours supérieure à celle de l'onde rapide. Pour tous les échantillons, chaque fois que l'onde rapide a pu être mise en évidence, des mesures DAET ont été faites à deux fréquences ultrasonores différentes : la première à une fréquence ultrasonore dite "basse-fréquence" (US BF), pour l'onde rapide, et la seconde à une fréquence ultrasonore dite "haute-fréquence" (US HF). Dans les cas où l'onde rapide n'a pas été observée, seule la mesure à la fréquence US HF a été effectuée.

Ce chapitre rassemble les mesures menées lors de deux protocoles séparés avec, en commun, un test mécanique pour la création du micro-endommagement sur chaque échantillon trabéculaire et la comparaison des mesures DAET effectuées avant et après essai mécanique. Cependant, lors du protocole 1, les mesures DAET ont été opérées sur chaque échantillon successivement (c'est-à-dire le même jour) et avec repositionnement. Dans le cas du protocole 2, les mesures DAET ont eu lieu sans repositionnement de l'échantillon, mais ont été renouvelées deux fois, à au moins deux jours d'intervalle (quatre maximum), avec un dégazage entre chaque acquisition. Dans ce dernier cas, nous avons souhaité mesurer les échantillons dans un état d'hydratation similaire, de sorte qu'après chaque série de mesures ultrasonores, les échantillons ont été sortis de l'eau, séchés totalement et immergés, avant

2. Pour rappel, la fréquence des transducteurs ultrasonores utilisés est centrée sur 1 MHz.

4.1. DESCRIPTIF DE L'ÉTUDE

de subir de nouveau le processus de dégazage. La figure 4.4 résume les étapes des deux protocoles de mesures DAET effectuées avant et après endommagement mécanique.

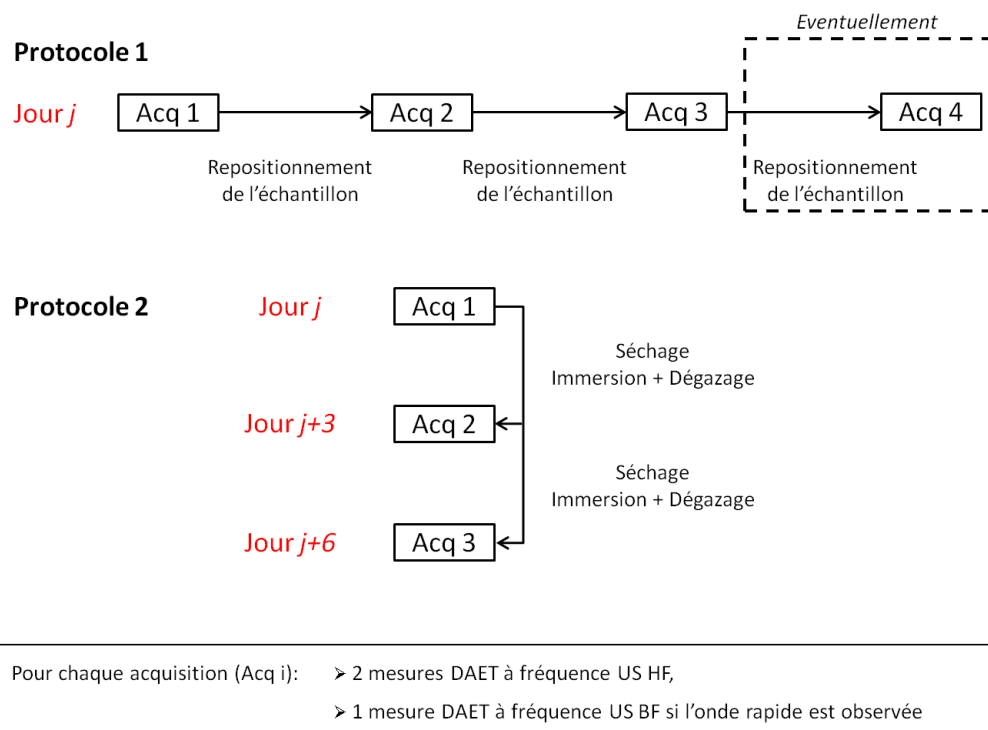


FIGURE 4.4 – Etapes des mesures DAET effectuées sur les échantillons trabéculaires des protocoles 1 et 2, avant et après les essais mécaniques.

4.1.3 Mise en place des essais mécaniques

Comme décrit dans la partie 1.2, l'origine du micro-endommagement osseux, lorsque celui-ci ne résulte pas de l'activité cellulaire de résorption du tissu osseux participant à son renouvellement, peut être la conséquence mécanique d'efforts répétitifs d'amplitude variable (même faible) : marche au quotidien, pratique sportive de haut niveau, etc. En mécanique, l'essai permettant de reproduire au mieux ce type de sollicitation est l'essai de fatigue. Il se définit comme un essai pour lequel l'amplitude et le nombre de sollicitations périodiques sont suffisants pour créer des microfissurations entraînant, à terme, la rupture du matériau. Dans ce travail de thèse, le protocole mené pour la création de micro-endommagements dans le tissu osseux trabéculaire est basé sur un test de fatigue en compression. Il s'appuie sur différents travaux, notamment ceux de Moore *et al.* [77], Rapillard *et al.* [166] et Dendorfer *et al.* [167, 168].

Des essais préliminaires, évoqués dans la section 4.1.1, ont révélé la nécessité d'inclure les extrémités des éprouvettes trabéculaires parallélépipédiques afin de ne pas écraser les travées en contact avec les plateaux de la machine de test [93] et induire une erreur sur l'estimation du module d'Young.

Les essais mécaniques ont été réalisés en collaboration avec le Laboratoire de BioMéca-

4.1. DESCRIPTIF DE L'ÉTUDE



FIGURE 4.5 – Echantillon inséré dans la machine de test pour subir l'essai de compression en fatigue (la couleur rose est due à la première coloration à l'alizarine complexone du protocole d'histologie).

nique (LBM) des Arts et Métiers ParisTech et effectués au LBM sur une machine d'essai INSTRON Electropuls E1000. La figure 4.5 présente une éprouvette de tissu osseux trabéculaire, encapsulée sur ses extrémités et insérée entre les plateaux de compression de la machine de test.

Hydratés la veille de l'essai mécanique par immersion dans une solution de sérum physiologique, les échantillons sont ensuite fatigués à température ambiante. L'essai mécanique débute par l'application d'une pré-charge (-30 à -100 N) sur l'échantillon, suivie d'une étape de pré-cyclage permettant de conditionner l'échantillon et d'atteindre une courbe contrainte/déformation stable. Cette étape consiste en quelques dizaines de cycles (de 20 à 60 cycles) réalisés à une fréquence de 2 Hz et pilotés en déformation, à l'issue de laquelle le module d'Young initial de l'échantillon est évalué. Ce pré-cyclage est effectué entre 0,2 et 0,6% de déformation. L'essai de fatigue à proprement parlé débute alors à une fréquence de 2 Hz, entre des bornes de déformation variables selon les protocoles (entre 0,2 et 0,6% dans le protocole 1 et entre 0,3 et 0,7% dans le protocole 2). Le pilotage de l'essai est cette fois-ci effectué en effort, assurant une variation de contraintes constante durant le test. En effet, un contrôle de l'essai en déformation conduit fréquemment à une réduction de la charge appliquée, imputable à une possible diminution de la longueur initiale de l'échantillon par écrasement des travées, et ce, malgré la réalisation d'encapsulations. L'effort de fatigue escompté n'est alors plus exercé sur l'échantillon. Les bornes d'effort utilisées lors de l'essai de fatigue sont calculées pendant le pré-cyclage, à partir des bornes de déformation entre 0,2 et 0,6%. Le critère d'arrêt de l'essai a été déterminé pour une diminution du module d'Young de 40 à 50% (selon le protocole) par rapport à sa valeur initiale ou pour une chute du module d'Young supérieure à 10% entre deux cycles consécutifs ou également pour une déformation permanente (résiduelle) de l'échantillon supérieure ou égale à 5%.

La valeur du module d'Young est calculée entre 40 et 90% de la phase de chargement du cycle considéré, comme illustré sur la figure 4.6. Les trois paramètres que sont la charge, le déplacement global et la déformation sont respectivement mesurés à l'aide d'un capteur de force 2 kN, de précision 1/1000 (INSTRON), d'un capteur machine et d'un extensomètre ± 2 mm, de précision 1%.

Comme expliqué précédemment, cette étude rassemble les mesures effectuées sur deux

4.1. DESCRIPTIF DE L'ÉTUDE

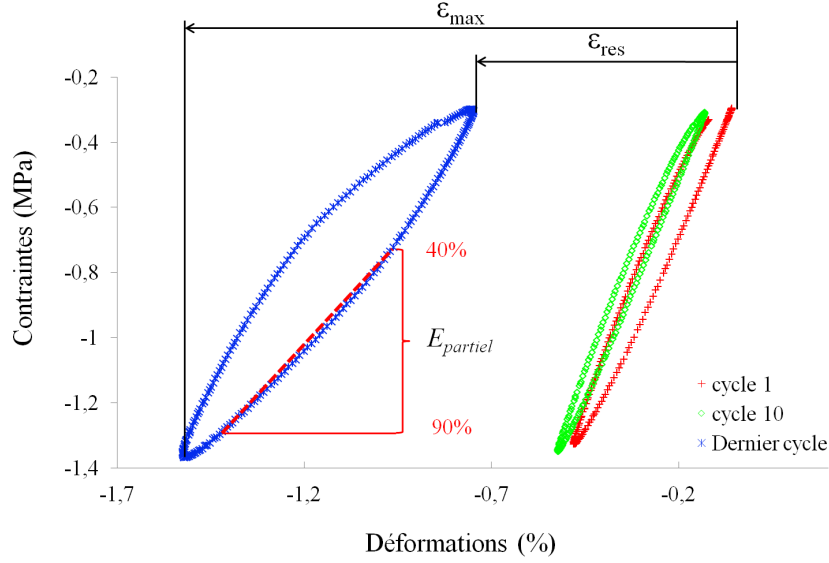


FIGURE 4.6 – Illustration du calcul du module d'Young entre 40% et 90% de la phase de chargement d'un cycle sinusoïdal, appelé $E_{partiel}$. Les déformations maximale (ϵ_{max}) et résiduelle (ϵ_{res}) sont mesurées entre le premier et le dernier cycle de l'essai de fatigue.

	Essais mécaniques			Mesures DAET avant/après	Histologie
	Pré-charge	Bornes ϵ	Critère arrêt		
Protocole 1	-30N	0,2 et 0,6%	50%	Le même jour	Oui
Protocole 2	-100N	0,3 et 0,7%	40%	Sur 2 à 4 jours	Non

TABLE 4.1 – Tableau récapitulatif des deux protocoles, où ϵ est la déformation mécanique. Le critère d'arrêt des essais mécaniques est lié à la diminution du module d'Young par rapport à sa valeur initiale.

protocoles assez proches. Les variations entre les deux protocoles mécaniques sont minimales et concernent les valeurs du critère d'arrêt des essais, des pré-charges (conditionnant les échantillons), ainsi que des bornes de déformations utilisées. Elles sont rassemblées dans le tableau 4.1.

4.1.4 Préparation des échantillons pour l'analyse histologique

Dans le but d'objectiver et de quantifier le micro-endommagement induit lors du test de fatigue, un protocole de double coloration pour une histologie en microscopie confocale a été mis en place. Ce dernier vise en effet à distinguer le micro-endommagement induit par l'essai mécanique de fatigue en compression, du micro-endommagement initialement présent dans l'échantillon. Ce protocole s'appuie sur le travail de Nagaraja *et al.* [161], déjà évoqué dans la section 3.1.3 du chapitre 3. Avant l'essai mécanique, mais après l'ensemble des premières mesures DAET, les échantillons sont plongés pendant 8h dans une dilution d'alizarine complexone à 0,02%. Les étapes de dégazage et de rinçage sont identiques à celles décrites dans la section 3.1.3. La seconde coloration a lieu à l'issue des essais mécaniques de fatigue par compression. Elle consiste cette fois à immerger les échantillons dans une dilution de calcéine à 0,005%. De la même façon, on procède à une phase de dégazage et de

ringage des échantillons. Au terme de la seconde série de mesures DAET, les échantillons sont inclus dans une résine époxy liquide. Après polymérisation à 40°C, de fines coupes histologiques de 200 à 300 μm d'épaisseur sont réalisées dans un plan parallèle au chemin de propagation des ultrasons. Ces lamelles histologiques sont ensuite montées sur lames de verre et observées au MCBL. La quantification du micro-endommagement effectuée suit le protocole décrit précédemment dans la section 3.1.3. Comme le rappelle le tableau 4.1, ce sont uniquement les échantillons du protocole 1 qui ont été analysés en histologie.

4.2 Présentation des résultats

Sur l'ensemble des deux protocoles, seuls les résultats issus des échantillons ayant subi un endommagement mécanique avéré (critères de fin d'essai respectés) sont présentés. Malgré la difficulté à réaliser un endommagement mécanique du tissu osseux trabéculaire, neuf échantillons osseux trabéculaires ont manifesté une diminution de leur module d'Young correspondant au critère d'arrêt de l'essai. Les échantillons issus du protocole 1 sont les échantillons 36D, 60D, 91D et 116D. Ceux issus du protocole 2 sont les échantillons 84D, 84G, 20G, 61D et 61G.

Dans cette partie, les résultats de l'endommagement mécanique par fatigue sont tout d'abord présentés. Une section, plus conséquente est dédiée aux résultats d'acousto-élasticité dynamique, avant et après fatigue. A chaque fois que cela est possible, les résultats des échantillons des protocoles 1 et 2 sont donnés distinctement. Enfin, une troisième section est consacrée à l'analyse histologique des échantillons du protocole 1.

4.2.1 Essais mécaniques

L'essentiel de la difficulté des essais de fatigue en compression provient de la dimension des échantillons testés. Ces dimensions, en partie dépendantes des mesures DAET, impliquent une hétérogénéité du réseau trabéculaire sur l'ensemble de l'éprouvette. Les différences de porosité, d'architecture ou de qualité du tissu osseux rendent impossible une "standardisation" (même relative) des éprouvettes.

La figure 4.7 illustre les résultats de l'essai de fatigue en compression mené sur l'échantillon 61D. La diminution de la valeur du module d'Young se traduit sur les courbes contrainte-déformation par une diminution de la pente de la régression linéaire effectuée sur une boucle (élargissement des bornes de déformation), l'augmentation de la déformation résiduelle, ainsi que l'élargissement de la boucle d'hystérésis du cycle.

Le tableau 4.2 présente les données mécaniques des essais de fatigue en compression subis par les neuf échantillons retenus. La pré-charge et l'intervalle d'effort appliqués aux échantillons lors des essais de fatigue en compression sont assez différents pour les deux protocoles. Le taux d'échec pour induire une diminution du module d'Young lors du premier protocole a amené à reconsidérer les bornes de fatigue. Comprises entre 0,2 et 0,6% de déformation dans un premier temps, les bornes d'effort de l'essai ont ensuite été associées à des déformations comprises entre 0,3 et 0,7%. Ceci s'est traduit par une augmentation du nombre d'échantillons ayant effectivement présenté une diminution du module d'Young, sans pour autant atteindre 100% de réussite. Le nombre de cycles déterminant l'arrêt du

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

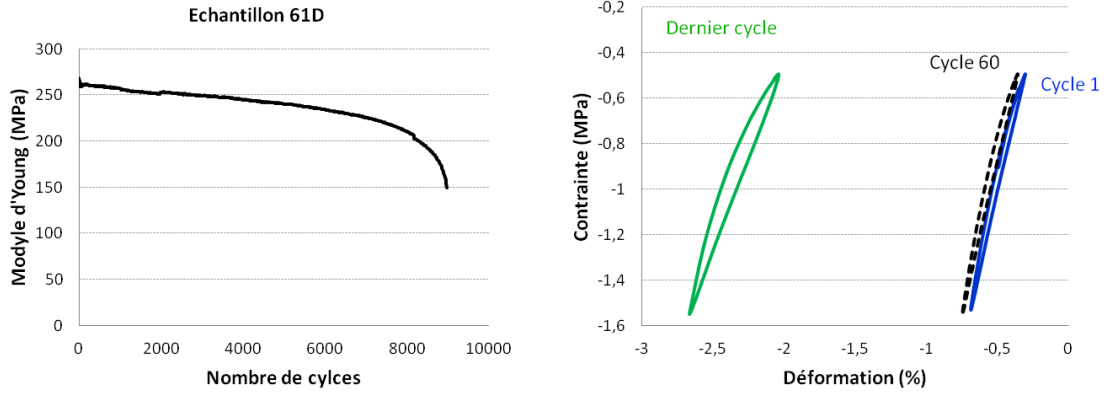


FIGURE 4.7 – Exemple de l'échantillon 61D : à gauche, l'évolution du module d'Young en fonction du nombre de cycles de fatigue; à droite, les diagrammes contrainte-déformation des premiers et dernier cycles.

Echantillons	Pré-charge (N)	Intervalle effort (N)	E_0 (MPa)	Nombre cycles
84D	-100	-535 ; -150	373	2253
84G	-100	-345 ; -134	203	50580
20G	-100	-351 ; -131	215	4822
61D	-100	-397 ; -125	276	8980
61G	-100	-208 ; -78	137	155
60D	-30	-257 ; -52	274	24470
91D	-30	-283 ; -61	268	504
116D	-30	-475 ; -44	510	713
36D	-30	-51 ; -20	75	18751

TABLE 4.2 – Résultats des essais de fatigue en compression réalisés avec succès sur les neuf échantillons.

cyclage en fatigue est également très variable d'un échantillon à l'autre. La disparité inter-individuelle des échantillons peut expliquer cette observation.

4.2.2 Analyse des mesures DAET

4.2.2.1 Paramètres acoustiques linéaires

Le calcul des paramètres acoustiques non linéaires et notamment le paramètre β , nécessite la connaissance du paramètre linéaire de vitesse de propagation ultrasonore dans l'échantillon. Il peut donc sembler assez naturel de décrire l'évolution des paramètres acoustiques linéaires, vitesse de propagation et atténuation (BUA), avant et après l'endommagement mécanique, même s'ils sont reconnus peu sensibles à la présence de micro-endommagement. Cependant, différentes contraintes expérimentales ont rendu inappropriée la comparaison de ces paramètres.

1. Concernant la vitesse de propagation dans le milieu, l'estimation du temps de vol des impulsions ultrasonores est relativement délicate. En effet, les signaux ultrasonores reçus ont presque tous présenté une onde rapide et une onde lente. Malgré tout, la

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

plupart du temps, l'amplitude de l'onde rapide s'est révélée insuffisante pour permettre de repérer avec précision son temps de vol. Quant à l'onde lente, malgré un rapport signal à bruit tout à fait correct, elle a affiché fréquemment un recouvrement entre le début de son signal et la fin de celui de l'onde rapide, rendant difficile l'estimation de son temps de propagation.

2. La distance entre les transducteurs ultrasonores a changé entre les mesures DAET avant et après endommagement mécanique et s'est révélée incorrectement évaluée la seconde fois. Cette imprécision a introduit une erreur notable sur la mesure de la vitesse dans l'eau, entraînant des variations significatives dans le calcul de la vitesse de propagation dans les échantillons trabéculaires.
3. La longueur des échantillons a diminué de quelques millimètres lors des essais mécaniques. Quant au taux d'hydratation des échantillons, il affecte de quelques dixièmes de millimètres les longueurs mesurées.

Cet ensemble d'erreurs de précision sur l'estimation du temps de vol, sur la distance inter-transducteurs ultrasonores ou encore sur la longueur des échantillons, rend inexploitable la comparaison des paramètres de vitesse et d'atténuation. Finalement, le tableau 4.3 présente les valeurs initiales des paramètres linéaires des échantillons osseux, vitesse de propagation et BUA. Les vitesses de propagation ont été calculées à partir d'une seule mesure des signaux ultrasonores HF (fréquence centrale comprise entre 500 et 900 kHz), effectuée lors des mesures acoustiques précédant la réalisation des essais mécaniques. Le temps de vol utilisé est celui de l'onde lente (systématiquement visible, contrairement à l'onde rapide), même si le vrai début de l'écho n'est pas toujours évident à détecter. Notons par ailleurs l'influence de l'araldite sur les bords des échantillons osseux. Elle n'accélère cependant pas la vitesse de propagation de plus de 60 m/s. Le calcul de la BUA (équation 3.2) est effectué sur la même mesure acoustique que celle retenue pour le calcul de la vitesse de propagation.

Echantillons	L (mm)	S (mm ²)	ρ (g/cm ³)	c (m/s)	BUA (dB/MHz)
84D	27,5	256,00	1,143	1573	39,8
84G	28,0	256,00	1,297	1546	26,7
20G	28,5	252,80	1,800	1578	31,3
61D	26,8	252,80	1,859	1622	58,6
61G	25,7	223,50	1,826	1660	33,5
60D	21,1	188,64		1670	49,2
91D	21,3	205,50		1771	73,8
116D	20,7	191,76		1736	67,8
36D	21,0	222,00		1776	86,3

TABLE 4.3 – Paramètres acoustiques linéaires (vitesse, c et atténuation, BUA) et mécaniques (densité, ρ et dimensions) mesurés avant l'essai de fatigue par compression.

La densité apparente $\rho = BV/TV$ (volume d'os/volume total) calculée pour une seule série d'échantillons, utilise le principe d'Archimède (pesée des échantillons dans l'air et dans l'hexane).

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

4.2.2.2 Calcul des paramètres acoustiques non linéaires

Lorsque cela s'est révélé possible, deux mesures DAET ont donc été effectuées pour une même acquisition (même échantillon, même jour, sans repositionnement) : l'une à une fréquence US BF (300 à 500 kHz) pour favoriser la propagation de l'onde rapide et l'autre à une fréquence US HF (500 à 900 kHz) pour mettre en évidence l'onde lente. Quel que soit le type de mesure considéré, le calcul des paramètres non linéaires a été réalisé à partir des critères suivants :

- Le signal ultrasonore utilisé pour le calcul des paramètres TOFM et RAM a été découpé de façon à conserver à la fois l'onde lente et l'onde rapide lorsque les deux coexistent. Ceci permet d'une part de s'affranchir du problème de localisation du début de l'onde lente et d'autre part, de prendre en compte l'information véhiculée par l'onde rapide (directement reliée au tissu osseux),
- La vitesse de propagation prise en compte dans le calcul du paramètre non linéaire quadratique β avant et après l'essai de fatigue et pour chaque échantillon est celle mentionnée dans le tableau 4.3,
- Les variations du paramètre TOFM ont été évaluées sur l'ensemble du diagramme instantané, ainsi que pendant les phases de pression basse-fréquence négative (dilatation) et les phases de pression basse-fréquence positive (compression), à travers le calcul respectivement des paramètres β , β_d et β_c ,
- De la même façon, la RAM a été évaluée globalement et selon les phases de dilatation et de compression basse-fréquence. Cette fois, c'est la pente de la RAM en fonction de la pression-basse fréquence instantanée qui a été relevée : pente globale et pentes de la RAM pendant les phases de dilatation (RAM_d) et de compression (RAM_c).

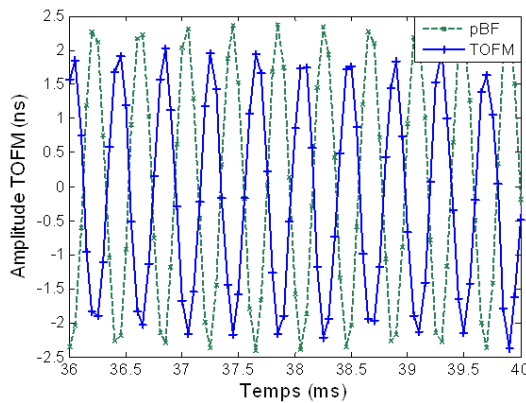


FIGURE 4.8 – Exemple de l'échantillon 84G. Evolutions temporelles en opposition de phase du TOFM et de la pression basse-fréquence. La modulation du temps de vol des impulsions US est assez symétrique entre les phases de dilatation et de compression basse-fréquence.

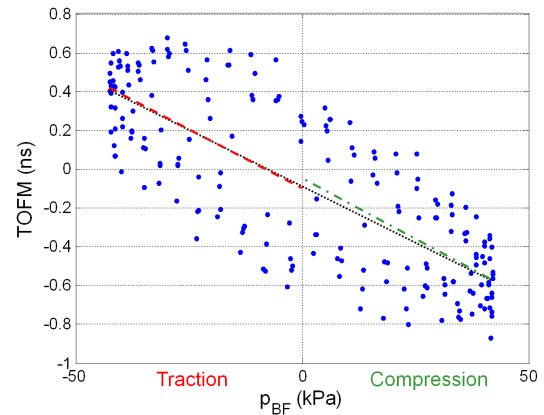


FIGURE 4.9 – Diagramme instantané du TOFM correspondant à la figure 4.8. Les valeurs des β , β_d et β_c sont calculées respectivement à partir des pentes du TOFM global et du TOFM pendant les phases de dilatation et de compression.

L'exemple de la figure 4.8 illustre l'évolution temporelle de la pression basse-fréquence et du TOFM associé, mesurés sur l'échantillon 84G avant la réalisation de l'essai de fatigue. TOFM et pression basse-fréquence varient en opposition de phase. Seule la non-linéarité quadratique (à la fréquence fondamentale) ressort (pas d'asymétrie entre les phases de dila-

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

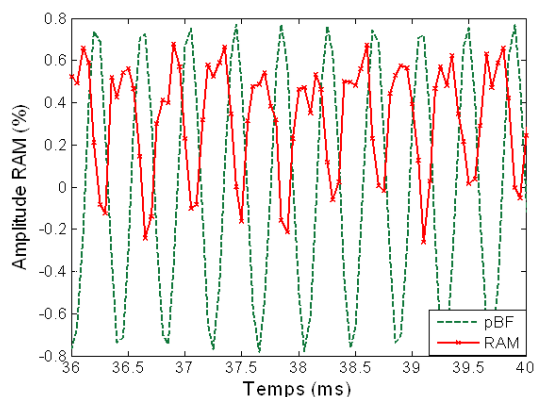


FIGURE 4.10 – Exemple de l'échantillon 84G. Evolution temporelle de la RAM par rapport à la pression basse-fréquence. La modulation d'amplitude des impulsions US fait apparaître de l'ordre 3 (fréquence double), un offset (valeur moyenne non nulle), ainsi qu'un déphasage important pendant les phases de compression.

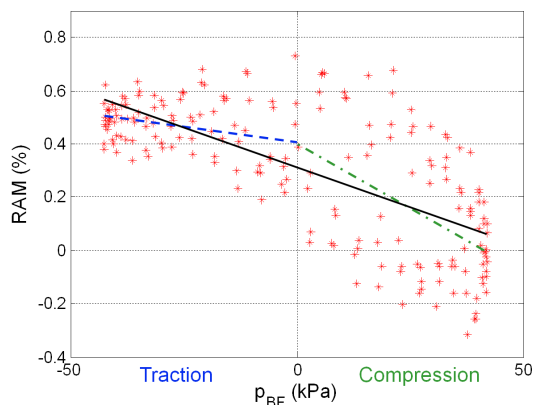


FIGURE 4.11 – Evolution de la RAM en fonction de la pression basse-fréquence (correspondant à la fig. 4.10). Les pentes évaluées sur les phases de dilatation (- -) et de compression (-.-) marquent la forte asymétrie du diagramme instantané.

tation et de compression sur la figure 4.9). Le diagramme temporel de la RAM (figure 4.10) présente également une non-linéarité quadratique, ainsi que cubique (à la fréquence double). Cette dernière explique la présence d'un offset (valeur moyenne non nulle). Ces tendances sont également confirmées sur les spectres des signaux temporels de ces deux paramètres, représentés sur la figure 4.12.

D'autre part, la RAM ne réagit pas de façon similaire aux phases de dilatation et de compression basse-fréquence. Cette forte asymétrie se retrouve sur la représentation instantanée de ce paramètre (figure 4.11). Ce n'est pas le cas du TOFM qui évolue proportionnellement à la sollicitation basse-fréquence (figure 4.9), à la manière d'un milieu non linéaire classique comme l'eau. Enfin, il peut y avoir un déphasage temporel entre la pression basse-fréquence et les paramètres TOFM et RAM. Lorsqu'il existe, ce déphasage se traduit sur les diagrammes instantanés par une boucle hystérétique. Dans l'exemple présenté ici, l'hystérésis est présente sur l'ensemble du diagramme instantané du TOFM. Sur la représentation instantanée de la RAM, elle est effective essentiellement pendant les phases de compression basse-fréquence.

4.2.2.3 Non-linéarités élastiques et dissipatives individuelles

Ce traitement numérique a été mené sur l'ensemble des mesures DAET effectuées sur les neuf échantillons trabéculaires. Les tableaux des figures 4.13 et 4.14 présentent les moyennes des paramètres calculés et les écart-types associés. Ces derniers traduisent une mauvaise reproductibilité globale des mesures. Rappelons à ce sujet que les écart-types obtenus sur les échantillons 60D, 91D, 116D et 36D du protocole 1 expriment la reproductibilité de la méthode sur des mesures DAET successives, effectuées le même jour, avec repositionnement des échantillons entre chaque mesure. Les écart-types estimés sur les échantillons 84D, 84G, 20G, 61D et 61G du protocole 2 traduisent quant à eux une reproductibilité de la méthode sur plusieurs jours (sans repositionnement le même jour).

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

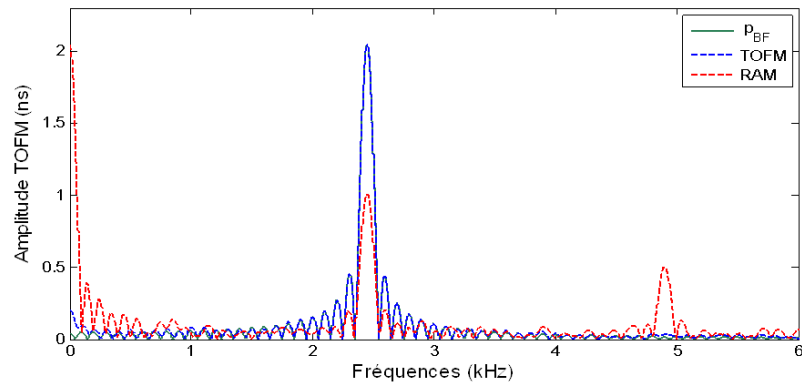


FIGURE 4.12 – Spectres superposés de la pression basse-fréquence, du TOFM et de la RAM (les amplitudes des spectres sont normalisées par rapport à la valeur maximum de TOFM). Le spectre de la RAM présente une constante (offset) et des pics aux ordres 1 (fondamental) et 2 (harmonique 2).

L'ensemble des diagrammes instantanés du TOFM et de la RAM en fonction de la pression basse-fréquence, obtenus à partir des différentes mesures DAET effectuées avant et après les essais mécaniques d'endommagement par fatigue, sont présentés en annexe A pour chaque échantillon.

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

		Fréquence US = [500 – 900] kHz					Fréquence US = [300-500] kHz				
	Ech.	β	β_d	β_c	Φ (μ s)		β	β_d	β_c	Φ (μ s)	
PROTOCOLE 1	Avant	-43,8 $\pm$ 47,0	-65,5 $\pm$ 58,3	-28,4 $\pm$ 41,9	-8,9 $\pm$ 109,8						
	Après	-8,5 $\pm$ 13,6	-8,6 $\pm$ 13,0	-6,0 $\pm$ 12,3	64,9 $\pm$ 41,9						
	Avant	37,9 $\pm$ 7,4	47,7 $\pm$ 18,9	27,1 $\pm$ 18,2	6,5 $\pm$ 15,4		-11,7 $\pm$ 30,6	-13,4 $\pm$ 40,0	-10,8 $\pm$ 20,4	-28,1 $\pm$ 55,3	
	Après	-131,8 $\pm$ 42,8	-92,6 $\pm$ 51,1	-149,6 $\pm$ 44,9	-119,9 $\pm$ 12,2		-294,2 $\pm$ 78,0	-273,5 $\pm$ 110,6	-311,4 $\pm$ 39,3	-133,4 $\pm$ 9,8	
	Avant	12,4 $\pm$ 4,4	18,3 $\pm$ 13,7	10,4 $\pm$ 5,6	12,2 $\pm$ 5,7		9,6	3,9	16,2	14,5	
	Après	-3,0	-10,8	1,0	-2,8		-169,2 $\pm$ 68,7	-193,3 $\pm$ 99,5	-149,7 $\pm$ 46,7	-61,6 $\pm$ 46,9	
PROTOCOLE 2	Avant	-5,0 $\pm$ 3,7	-12,4 $\pm$ 7,7	-3,2 $\pm$ 6,4	29,3 $\pm$ 7,2						
	Après	-21,9 $\pm$ 19,9	-29,3 $\pm$ 22,2	-8,7 $\pm$ 13,7	-33,9						
	Avant	2,6 $\pm$ 0,6	1,9 $\pm$ 1,2	2,9 $\pm$ 0,7	6,1 $\pm$ 3,9		-3,3	-6,5	-1,5	-17,8	
	Après	2,0 $\pm$ 3,5	0,7 $\pm$ 4,8	3,4 $\pm$ 2,2	-3,2 $\pm$ 11,3		-6,6 $\pm$ 3,7	-12,8 $\pm$ 5,3	0,6 $\pm$ 4,0	-53,2 $\pm$ 19,7	
	Avant	-1,7 $\pm$ 8,1	-3,2 $\pm$ 9,0	0,9 $\pm$ 5,8	8,6 $\pm$ 2,9		-8,2 $\pm$ 13,0	-11,0 $\pm$ 16,4	-2,4 $\pm$ 7,2	-21,9 $\pm$ 34,5	
	Après	-1,9 $\pm$ 8,7	-3,5 $\pm$ 9,9	1,2 $\pm$ 5,5	-40,1 $\pm$ 55,0		-12,2 $\pm$ 15,2	-14,6 $\pm$ 15,9	-7,7 $\pm$ 13,7	-78,1 $\pm$ 77,3	
	Avant	0,6 $\pm$ 3,1	-0,3 $\pm$ 3,9	1,8 $\pm$ 1,6	-3,6 $\pm$ 12,0		-4,9 $\pm$ 10,1	-7,2 $\pm$ 11,0	-1,8 $\pm$ 7,0	-50,8 $\pm$ 87,6	
	Après	1,1 $\pm$ 3,6	-0,7 $\pm$ 4,8	3,2 $\pm$ 2,3	-7,8 $\pm$ 7,4		-1,4 $\pm$ 6,1	-4,0 $\pm$ 7,5	2,7 $\pm$ 3,0	-6,9 $\pm$ 12,1	
	Avant	-2,4 $\pm$ 13,0	-6,3 $\pm$ 17,7	3,1 $\pm$ 4,9	2,4 $\pm$ 7,4		-13,1 $\pm$ 25,6	-19,0 $\pm$ 30,2	-6,4 $\pm$ 15,8	-31,0 $\pm$ 50,9	
	Après	1,3 $\pm$ 4,9	0,2 $\pm$ 6,7	1,7 $\pm$ 4,4	-7,8 $\pm$ 3,0		-1,8 $\pm$ 15,1	-5,1 $\pm$ 22,1	0,8 $\pm$ 8,6	8,6 $\pm$ 26,7	
PROTOCOLE 2	Avant	3,6 $\pm$ 7,6	2,3 $\pm$ 9,3	5,4 $\pm$ 4,9	-8,9 $\pm$ 13,4						
	Après	4,5 $\pm$ 3,9	4,7 $\pm$ 3,1	5,4 $\pm$ 3,4	-1,9 $\pm$ 3,4		3,7 $\pm$ 4,2	3,1 $\pm$ 7,5	4,5 $\pm$ 1,6	2,4 $\pm$ 2,3	

FIGURE 4.13 – Moyennes et écart-types des paramètres non linéaires relatifs au TOFM (β , β_d et β_c) pour chaque échantillon, sur l'ensemble des mesures DAET. Φ représente le déphasage temporel mesuré entre la pression basse-fréquence et le TOFM. En vert sont soulignés les échantillons ayant montré un changement significatif des paramètres non linéaires avant et après l'essai de fatigue.

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

		Fréquence US = [500 – 900] kHz				Fréquence US = [300-500] kHz			
	Ech.	RAM (10 ⁻⁸ /Pa)	RAM _d (10 ⁻⁸ /Pa)	RAM _c (10 ⁻⁸ /Pa)	Φ RAM (μs)	RAM (10 ⁻⁸ /Pa)	RAM _d (10 ⁻⁸ /Pa)	RAM _c (10 ⁻⁸ /Pa)	Φ RAM (μs)
PROTOCOLE 1	Avant	35,1±64,7	54,0±86,0	33,0±68,0	15,7±20,1				
	Après	-8,4±8,8	-10,0±9,3	-7,6±11,0	-6,5±17,0				
	Avant	12,3±8,1	15,0±9,3	6,5±8,1	3,3±11,3	3,0±11,1	4,6±16,0	0,6±9,8	10,7±15,5
	Après	-3,5±26,9	-14,0±23,0	-5,0±41,0	/	-17,3±25,9	-29,0±14,0	-4,7±40,0	-6,1
	Avant	-3,7±2,2	2,3±6,4	-3,3±3,3	-5,1±19,3	0,1	2,4	17,0	-13,5
	Après	-48,7	-60,0	-28,0	10,6	16,8±25,4	16,0±52,0	20,0±23,0	28,0±3,4
PROTOCOLE 2	Avant	6,7±7,9	16,0±10,0	-0,7±6,9	11,4±17,3				
	Après	-9,7±12,7	-8,7±14,0	-6,9±11,0	-4,2±9,0				
	Avant	-3,3±3,7	0,2±6,4	3,6±4,1	11,1±27,1	-7,0	-9,7	-4,4	-4,9
	Après	-4,6±3,3	-6,1±5,5	-3,8±2,2	30,8±4,6	-4,2±9,8	-4,6±18,0	-3,0±3,6	30,1±10,6
	Avant	4,1±10,3	2,7±13,0	4,8±7,0	71,8±69,1	-2,3±0,3	-8,6±4,8	1,2±4,0	6,0
	Après	0,8±3,9	0,7±5,5	1,7±3,5	-6,3±20,7	2,9±6,8	3,9±9,3	3,2±6,2	8,6±34,3
	Avant	6,2±3,2	2,2±9,0	4,2±2,2	12,9±2,9	8,8±10,7	10,0±10,0	6,4±7,4	24,6±3,9
	Après	8,6±9,7	12,0±14,0	2,9±2,4	5,2±25,4	12,2±14,5	16,0±19,0	5,1±6,3	6,3±0,2
	Avant	2,1±10,0	3,1±18,0	-1,6±4,5	3,2±21,2	12,1±11,6	12,0±12,0	12,0±10,0	-18,8±30,4
	Après	-15,6±2,7	-17,0±7,3	-14,0±3,8	17,8±5,3	-8,5±0,8	-6,9±2,9	-7,8±5,3	20,0±9,7
	Avant	10,2±15,0	12,0±17,0	6,2±8,3	11,7±18,7				
	Après	2,3±0,3	1,1±5,1	4,3±3,4	3,5±9,0	7,8±4,7	8,1±8,3	8,5±2,2	-2,7±3,2

FIGURE 4.14 – Moyennes et écart-types des pentes de la RAM globale et de la RAM mesurée pendant les phases de dilatation RAM_d et de compression RAM_c de la pression basse-fréquence. Le déphasage temporel entre la RAM des impulsions ultrasonores et la pression basse-fréquence est donné par ΦRAM . En rose sont soulignés les échantillons ayant montré un changement significatif des paramètres non linéaires avant et après l'essai de fatigue.

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

Remarque Les moyennes et écart-types des paramètres non linéaires ont été calculés sur l'ensemble des mesures DAET, à l'exception des échantillons 84G et 84D avant l'essai mécanique. En effet, pour ces deux échantillons, la troisième mesure DAET (Acq ($j+6$)) a révélé des non-linéarités acoustiques considérables (β pouvant atteindre des valeurs de -60 et boucles hystérétiques beaucoup plus importantes que celles observées pour les autres mesures). Les diagrammes instantanés du TOFM et de la RAM pour ces deux mesures, effectuées à une fréquence US HF (700 kHz et 800 kHz, respectivement pour les échantillons 84D et 84G), sont présentés sur les figures 4.15 et 4.16.

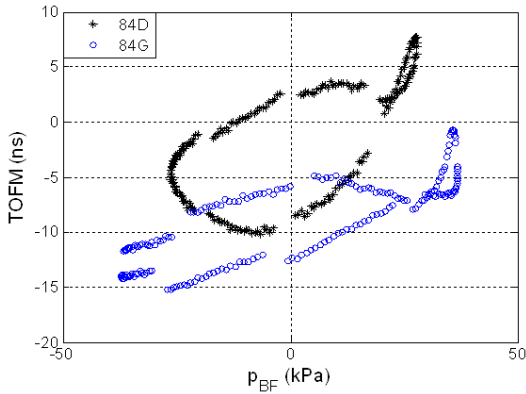


FIGURE 4.15 – Diagrammes instantanés du TOFM mesuré sur les échantillons 84G et 84D, qui n'ont pas été pris en compte dans la moyenne des paramètres non linéaires β relatifs au TOFM.

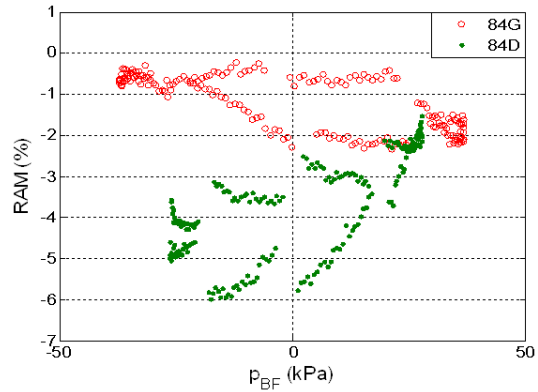


FIGURE 4.16 – Diagrammes instantanés de la RAM mesurée sur les échantillons 84G et 84D correspondant aux mesures du TOFM de la figure 4.15.

Ces comportements non linéaires forts ont également été observés pour deux autres échantillons (exclus des échantillons présentés dans ce chapitre). Ces quatre mesures ont en commun le jour auquel elles ont été effectuées. Nous suspectons l'influence de la température particulièrement froide des échantillons à la sortie du processus de dégazage (certains jours, l'eau dans laquelle est placé l'échantillon congèle sous vide). Le froid pourrait agir sur la rigidité du tissu osseux (notamment à travers les molécules de collagène) et expliquer la réponse non linéaire caractéristique des échantillons testés ce jour particulier (ouverture/fermeture des fissures plus proches d'un contact grains/grains par exemple).

Il ressort finalement que sur les neuf échantillons étudiés, quatre révèlent des niveaux de non-linéarité acoustique plus importants après un endommagement mécanique effectif : ce sont les échantillons 91D, 116D, 36D et 84D. Ces niveaux sont d'autant plus accentués lorsque les mesures DAET ont été réalisées aux fréquences US BF (300 à 600 kHz). Les cinq échantillons restant, 60D, 84G, 20G, 61D et 61G, ne présentent pas d'évolution significative des non-linéarités acoustiques après l'essai de fatigue en compression. Ces résultats sont exprimés sur les histogrammes des figures 4.17 à 4.20. Ces derniers représentent la différence des paramètres non linéaires mesurés après et avant l'endommagement par fatigue en compression : (β après - β avant), (β_d après - β_d avant), (β_c après - β_c avant) et (Φ après - Φ avant). Une analyse équivalente a été effectuée avec les pentes de la RAM instantanée. Sur les deux derniers histogrammes des figures 4.19 et 4.20, l'échantillon 60D n'est pas représenté en raison de la très grande variabilité qu'il a affichée (niveaux de non-linéarités très importants de la mesure 2 avant endommagement mécanique) et qui couvre

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

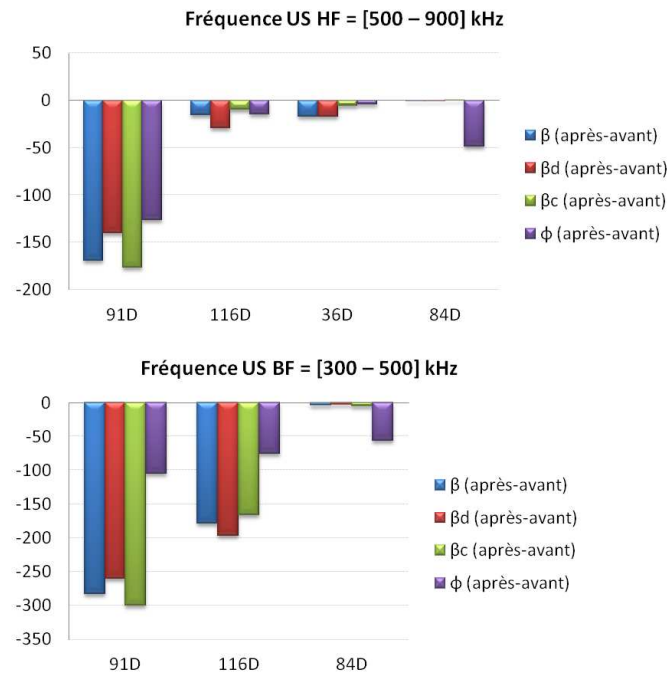


FIGURE 4.17 – Échantillons présentant des niveaux de non-linéarités acoustiques plus importants après essais mécaniques : différence (après - avant) des paramètres non linéaires relatifs au TOFM calculé à partir des mesures DAET effectuées aux 2 fréquences US, HF et BF.

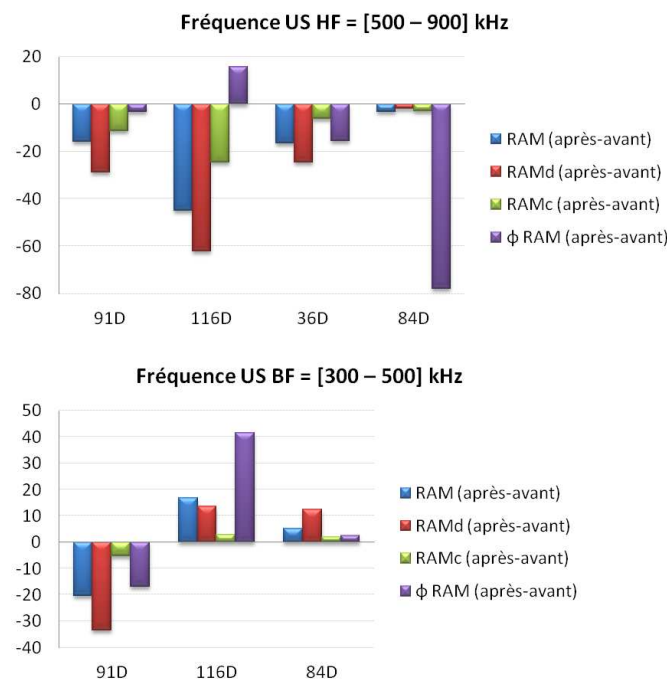


FIGURE 4.18 – Échantillons présentant des niveaux de non-linéarités acoustiques plus importants après essais mécaniques : différence (après - avant) des paramètres non linéaires relatifs à la RAM calculée à partir des mesures DAET effectuées aux 2 fréquences US, HF et BF.

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

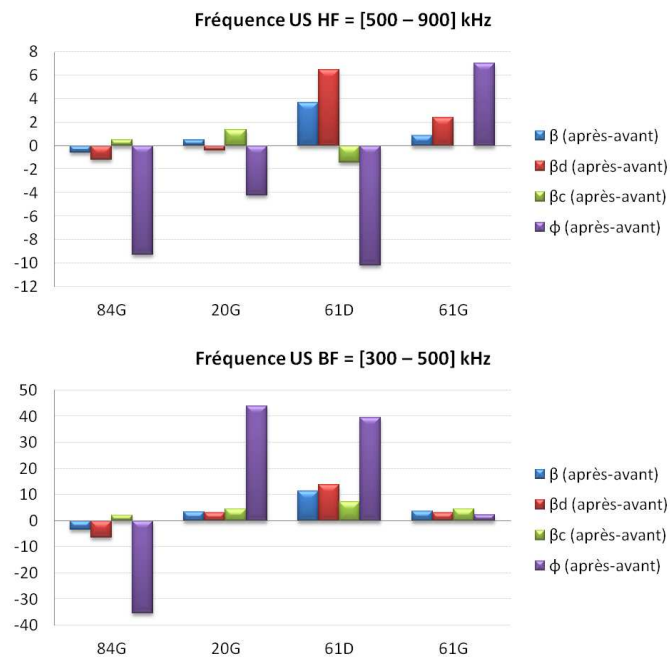


FIGURE 4.19 – Échantillons ne présentant pas de niveaux de non-linéarités acoustiques plus importants après essais mécaniques : différence (après - avant) des paramètres non linéaires relatifs au TOFM calculé à partir des mesures DAET effectuées aux 2 fréquences US, HF et BF.

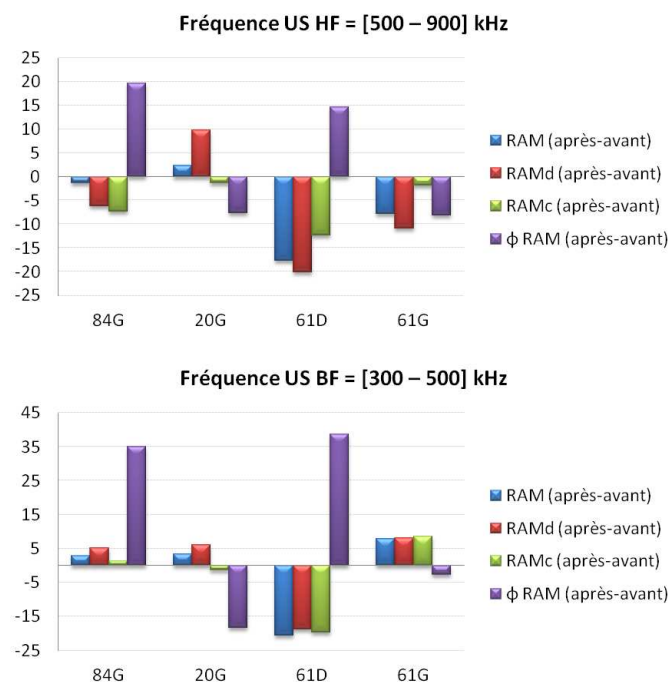


FIGURE 4.20 – Échantillons ne présentant pas de niveaux de non-linéarités acoustiques plus importants après essais mécaniques : différence (après - avant) des paramètres non linéaires relatifs à la RAM calculée à partir des mesures DAET effectuées aux 2 fréquences US, HF et BF.

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

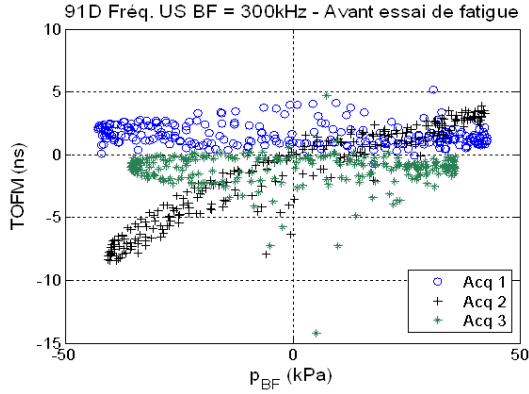


FIGURE 4.21 – Diagramme des TOFM en fonction de la pression basse-fréquence, mesurés sur l'échantillon 91D avant l'essai de fatigue en compression.

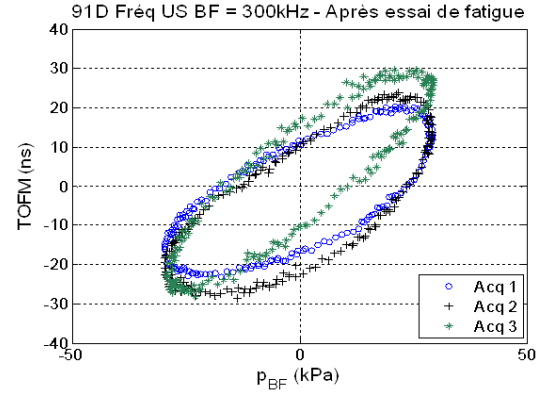


FIGURE 4.22 – Diagramme des TOFM en fonction de la pression basse-fréquence, mesurés sur l'échantillon 91D après l'essai de fatigue en compression.

les valeurs des autres échantillons. Les figures 4.21 et 4.22 présentent les diagrammes des TOFM instantanés mesurés respectivement avant et après l'essai de fatigue en compression sur l'échantillon 91D, pour lequel les niveaux de non-linéarités ont augmenté de façon significative après l'essai mécanique.

L'ensemble des histogrammes présente de grandes disparités. Néanmoins quelques tendances semblent émerger. Concernant les échantillons dont les paramètres acoustiques non linéaires ont évolué favorablement à l'accumulation de micro-endommagements mécaniquement induits, les valeurs de l'ensemble des paramètres β sont significativement négatives (inférieures à -30 pour au moins un des paramètres β , β_d et β_c des mesures US HF ou US BF), contrairement aux autres échantillons qui présentent aussi bien des valeurs de β positives que négatives dans une gamme plus faible (de -10 à +10), près de 2 à 30 fois moins importantes. Ces tendances ne sont pas aussi évidentes concernant les résultats relatifs à la pente de la RAM. On observe une augmentation de la valeur absolue de ce paramètre dans le groupe d'échantillons ayant également présenté de fortes non-linéarités élastiques.

4.2.3 Discussion sur les mesures DAET

Comme le montrent ces résultats, la reproductibilité des mesures DAET s'est révélée une difficulté constante sur l'ensemble des protocoles expérimentaux. Un soin particulier a été apporté au maintien des échantillons dans le système de mesure (cf. paragraphe 2.2.4.1). Les échantillons ont également été dégazés sous vide durant plusieurs heures, préalablement à chaque mesure ultrasonore. Nous avons montré au chapitre 3 que la présence de microbulles d'air dissout dans l'eau pouvait révéler des niveaux de non-linéarités acoustiques importants. C'est en effet un des facteurs responsables de la variabilité des mesures DAET. D'autres facteurs plus complexes encore, tels que les effets de conditionnement des échantillons, apportent probablement leur contribution à cette variabilité. Deux exemples sont détaillés dans la suite de cette section, pour illustrer les différentes formes de variabilité de la méthode DAET (paragraphe 4.2.3.1) et l'apparition de phénomène de conditionnement des échantillons (paragraphe 4.2.3.2) lié à la réalisation de mesures DAET consécutives.

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

4.2.3.1 Reproductibilité sur plusieurs jours : exemple de l'échantillon 61D

L'échantillon 61D appartient au protocole 2. Des mesures DAET ont été effectuées à plusieurs jours d'intervalle. Les résultats détaillés de toutes ces mesures sont présentés sur les tableaux des figures 4.24 et 4.25. Les caractéristiques acoustiques considérées pour le calcul des paramètres non linéaires de cet échantillon sont rappelées dans le tableau de la figure 4.23.

Ech.	L utilisée* (mm)	c (m/s)	BUA (dB/MHz)
61D	26,8	1622	58,6

* Longueur utilisée dans le calcul des paramètres β avant et après l'essai mécanique.

FIGURE 4.23 – Caractéristiques de l'échantillon 61D pour le traitement des mesures DAET avant et après endommagement mécaniquement induit.

61D Mes. DAET avant	β	β_d	β_c	Φ (μ s)	RAM _d (10^{-8} /Pa)	RAM _c (10^{-8} /Pa)	Φ RAM (μ s)
1	-22,4	-29,6	-5,4	15,7	32	0,4	20,9
1bis	-15,5	-27,8	-0,4	/	12	-8,3	/
2	3,8	-0,3	5,8	0,1	3,1	4,5	29,4
2bis	5,2	3,2	6,1	-1,7	0,1	0,7	-2
3	7,2	8,9	6,0	-0,8	-15,8	-4,7	-12,9
3bis	7,0	8,1	6,7	-1,1	-1,3	-1,9	-19,3
Moyenne	-2,4	-6,3	3,1	2,4	5,0	-1,6	3,2
Ecart-type	13,0	17,7	4,9	7,4	16,0	4,5	21,2

FIGURE 4.24 – Résultats des mesures DAET effectuées sur l'échantillon 61D préalablement au test mécanique de fatigue en compression. Les mesures 1, 2 et 3 sont réalisées à des jours différents, sans repositionnement de l'échantillon entre la première mesure et la mesure bis de chaque acquisition.

61D Mes. DAET après	β	β_d	β_c	Φ (μ s)	RAM _d (10^{-8} /Pa)	RAM _c (10^{-8} /Pa)	Φ RAM (μ s)
1	-8,0	-12,2	-6,7	/	-3,9	-18,6	25,4
1bis	-0,1	-3,1	0,3	-3,4	-13,2	-13,6	9,8
2	3,4	3,1	3,3	-9,8	-23,1	-15,8	14,9
2bis	4,4	5,2	4,0	-11,2	-20,7	-15,6	17,5
3	4,4	4,0	4,8	-6,9	-21,5	-11,9	17,7
3bis	3,6	3,9	4,1	-7,8	-19,4	-7,9	21,3
Moyenne	1,3	0,2	1,7	-7,8	-17,0	-13,9	17,8
Ecart-type	4,9	6,7	4,4	3,0	7,3	3,7	5,3

FIGURE 4.25 – Résultats des mesures DAET effectuées sur l'échantillon 61D à la suite du test mécanique de fatigue en compression. Les mesures 1, 2 et 3 sont réalisées à des jours différents, sans repositionnement de l'échantillon entre la première mesure et la mesure bis de chaque acquisition.

Les figures 4.26 à 4.29 montrent l'évolution du TOFM et de la RAM en fonction de la pression basse-fréquence instantanée au cours des mesures DAET réalisées avant et après l'essai mécanique et à l'issue duquel l'échantillon 61D a subi une diminution de son module d'Young de 40% par rapport à sa valeur initiale au bout de 8980 cycles de fatigue.

Avant l'essai de fatigue par compression, les mesures des paramètres TOFM et RAM présentent une assez grande variabilité (cf. moyennes et écart-types du tableau 4.24), particulièrement entre la mesure effectuée le premier jour et les deux autres jours. La première

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

mesure (jour j de la figure 4.26) présente une forte asymétrie entre les phases de pression basse-fréquence négative et positive, avec un β global négatif. Dans ce cas, les niveaux de non-linéarités mis en exergue par le TOFM et la RAM sont plus élevés lorsque la pression basse-fréquence est positive et affichent une hystérésis. Les deux mesures effectuées trois et six jours plus tard signent cette fois des valeurs de β positives. L'asymétrie entre les phases de dilatation et de compression est moins marquée, voire disparaît lors de la dernière mesure. La présence d'hystérésis est moins marquée, sauf sur la courbe de la RAM de la seconde mesure.

Concernant les mesures DAET effectuées après l'essai de fatigue, la reproductibilité est légèrement meilleure (cf. moyennes et écart-types du tableau 4.25), avec néanmoins toujours une différence notable entre le résultat de la première mesure et ceux des deux suivantes (changement de signe du β global, diminution de la largeur de la boucle hystérétique et des niveaux de non-linéarités.)

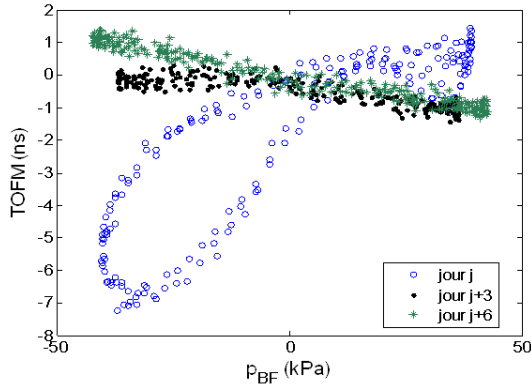


FIGURE 4.26 – Comparaisons des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 61D avant l'essai mécanique.

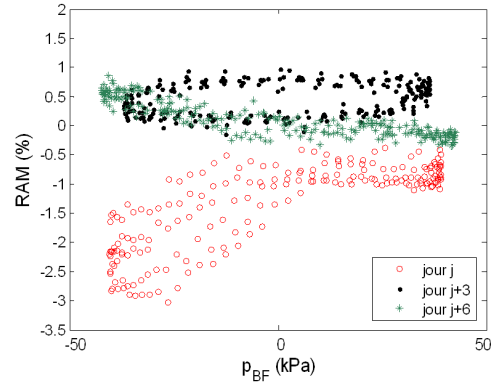


FIGURE 4.27 – Comparaisons des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 61D avant l'essai mécanique.

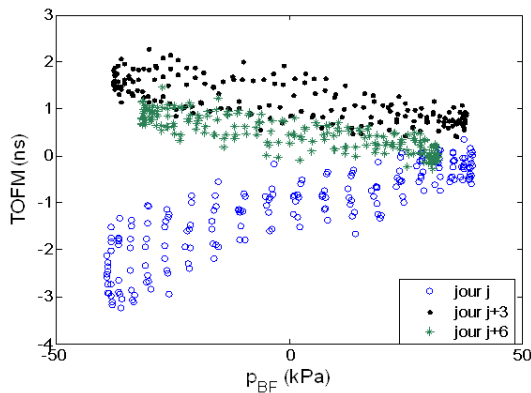


FIGURE 4.28 – Comparaisons des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 61D après l'essai mécanique.

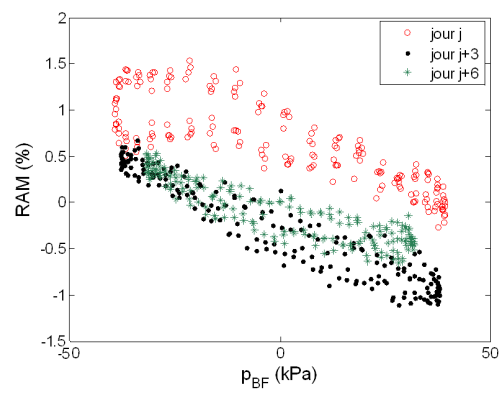


FIGURE 4.29 – Comparaisons des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 61D après l'essai mécanique.

L'exemple de l'échantillon 61D illustre la mauvaise reproductibilité des mesures DAET sur le tissu osseux trabéculaire. Il apparaît également que les valeurs numériques des paramètres β et des pentes de la RAM sont difficilement exploitables : mauvaise reproduc-

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

tibilité de nos mesures et écart-types très grands. Les diagrammes instantanés permettent davantage de conclure sur la reproductibilité des mesures en termes de tendances : signe et valeurs du paramètre β , présence d'hystérésis ou encore asymétrie entre les paramètres non linéaires correspondant à des valeurs de pression basse-fréquence positives ou négatives. En outre, les valeurs absolues du paramètre β sont inférieures ou égales à 10, à l'exception de la première série de mesures avant l'essai de fatigue ($\beta_d = -30$). A l'instar des conclusions préliminaires du chapitre 3, il apparaît qu'en dessous d'un certain seuil de non-linéarités élastiques ($\beta > -20$), les mesures DAET appliquées au tissu osseux trabéculaire se situent dans le niveau de bruit de la mesure. Enfin, force est de constater que la réalisation de l'essai de fatigue sur l'échantillon 61D ne semble pas avoir influencé les niveaux de non-linéarités mesurés, tout du moins dans le sens attendu.

4.2.3.2 Phénomène de "conditionnement" : exemple de l'échantillon 36D

Un autre phénomène est observé assez régulièrement, sans pour autant apparaître de manière systématique lors des mesures DAET successives. Il pourrait s'agir d'une sorte de conditionnement de l'échantillon dû à l'onde acoustique basse-fréquence. L'échantillon 36D appartient au protocole 2, au cours duquel les mesures DAET ont été menées de la façon suivante :

1. Insertion de l'échantillon dans le montage expérimental,
2. Mesure DAET n°1,
3. Repositionnement de l'échantillon (sans le sortir de la cuve expérimentale),
4. Mesure DAET n°2,
5. Repositionnement de l'échantillon,
6. Mesure DAET n°3,
7. Retrait de l'échantillon du dispositif expérimental.

Les résultats des différentes mesures avant et après l'essai mécanique sont présentés en détail respectivement dans les tableaux des figures 4.31 et 4.32. Le tableau de la figure 4.30 rappelle les caractéristiques de l'échantillon utilisées pour le calcul des différents paramètres non linéaires.

Ech.	L utilisée* (mm)	c (m/s)	BUA (dB/MHz)
36D	21,0	1776	86,3

* Longueur utilisée dans le calcul des paramètres β avant et après l'essai mécanique.

FIGURE 4.30 – Caractéristiques de l'échantillon 36D pour le traitement des mesures DAET avant et après endommagement mécaniquement induit.

Les mesures avant l'essai de fatigue sur cet échantillon présentent une diminution progressive des valeurs du paramètre β ($\beta_d = -4, 1; -13, 8; -19, 4$). Par ailleurs, après l'essai de fatigue, c'est la tendance inverse qui est observée. Un très fort niveau de non-linéarités est mesuré sur la première mesure ($\beta_d = -47; -36; -4, 5$).

L'enchaînement des mesures DAET sur les échantillons testés peut provoquer un effet de conditionnement dont les mécanismes sont peu connus, mais qui résulterait de l'application de forts niveaux d'excitations (ici, la sollicitation mécanique de la pression basse-fréquence)

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

36D Mes. DAET avant	β	β_d	β_c	Φ (μ s)	RAM_d (10^{-8} /Pa)	RAM_c (10^{-8} /Pa)	Φ RAM (μ s)
1	-1,3	-4,1	3,8	21,4	4,2	-3,6	29,0
2	-4,8	-13,8	-4,8	31,2	19,2	-5,7	10,7
3	-8,8	-19,4	-8,6	35,4	24,4	7,2	-5,5
Moyenne	-5,0	-12,4	-3,2	29,3	15,9	-0,7	11,4
Ecart-type	3,7	7,7	6,4	7,2	10,5	6,9	17,3

FIGURE 4.31 – Résultats des mesures DAET effectuées sur l'échantillon 36D préalablement au test mécanique de fatigue en compression. Les mesures sont réalisées successivement, le même jour, avec repositionnement de l'échantillon.

36D Mes. DAET après	β	β_d	β_c	Φ (μ s)	RAM_d (10^{-8} /Pa)	RAM_c (10^{-8} /Pa)	Φ RAM (μ s)
1	-39,9	-47,4	-20,7	/	-15,9	-15,5	5,8
2	-25,4	-36,0	-11,7	/	-17,9	-9,4	-6,9
3	-0,5	-4,5	6,2	-33,9	8,0	4,7	-11,6
Moyenne	-21,9	-29,3	-8,7	-33,9	-8,6	-6,7	-4,2
Ecart-type	19,9	22,2	13,7	/	14,4	10,4	9,0

FIGURE 4.32 – Résultats des mesures DAET effectuées sur l'échantillon 36D à l'issue du test mécanique de fatigue en compression. Les mesures sont réalisées successivement, le même jour, avec repositionnement de l'échantillon.

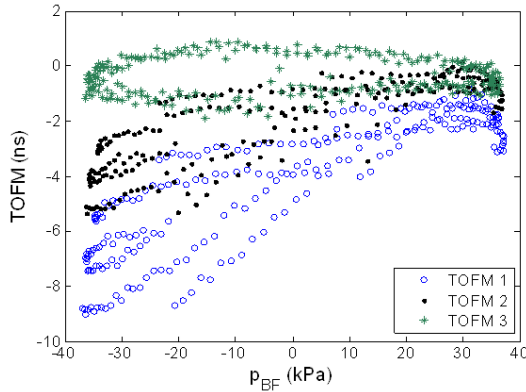


FIGURE 4.33 – Comparaisons des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 36D, après l'essai mécanique. Les effets non linéaires diminuent au fur et à mesure des acquisitions.

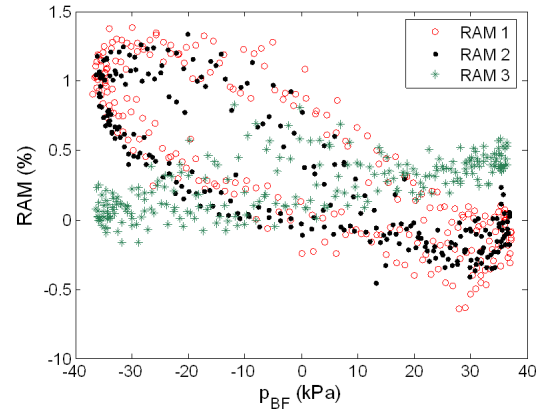


FIGURE 4.34 – Comparaisons des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 36D, après l'essai mécanique. La troisième acquisition présente un comportement non linéaire très différent des deux premières (inversion de la pente globale).

subis par l'échantillon. On peut également noter sur les diagrammes temporels correspondant à la première mesure de cette série (figure 4.35) que ni le TOFM, ni la RAM ne recouvrent leur état initial après l'arrêt de la sollicitation acoustique basse-fréquence. Ce comportement signe généralement un changement d'état de l'échantillon (qui peut être réversible au cours du temps), lié au conditionnement bien connu en acoustique non linéaire.

Ce phénomène est responsable de diagrammes instantanés complexes. La figure 4.37 illustre la conséquence de ce comportement évolutif du paramètre TOFM instantané. Celui-ci est artificiellement pourvu de "branches" (forme étoilée), en raison d'un effet de sous-échantillonnage (aliasing). L'agrandissement de la représentation temporelle (figure 4.36),

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

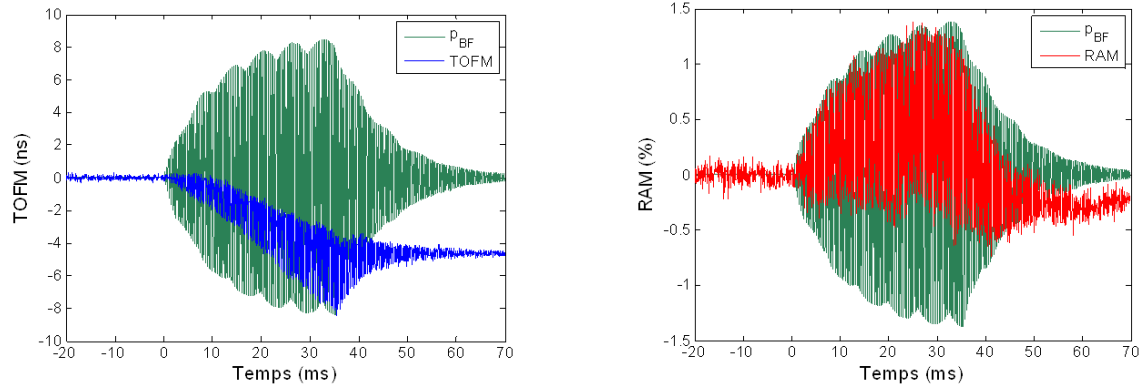


FIGURE 4.35 – Représentations temporelles des paramètres TOFM (à gauche) et RAM (à droite) par rapport à la pression basse-fréquence, mesurés sur l'échantillon 36D (mesure 1, après endommagement). Le décalage par rapport à la valeur moyenne affiché par les deux paramètres signe un conditionnement de l'échantillon présent dès le début de la sollicitation BF pour le TOFM, tandis qu'il n'apparaît qu'à partir de l'arrêt de la commande BF pour la RAM.

met en évidence le nombre de points échantillonnant quelques périodes du signal basse-fréquence et du TOFM associé. Les points rouges représentent les mesures de la pression basse-fréquence et du TOFM sur un peu plus d'une période basse-fréquence. Il apparaît que les phases de pression croissante et décroissante sont sous-échantillonnées en regard des zones où la pression varie moins rapidement (maxima et minima). Les marqueurs rouges de la figure 4.37 correspondent à ceux de la représentation temporelle de la figure 4.36. La forme du TOFM instantané est donnée en reliant ces points entre eux. Elle aurait été mieux approchée sans l'effet d'aliasing. Le phénomène de conditionnement, qui s'accroît au cours de l'acquisition, décale cette forme globale sur chaque période basse-fréquence. Sans l'effet de sous-échantillonnage, les "branches" de la courbe instantanée ne seraient pas (autant) apparues.

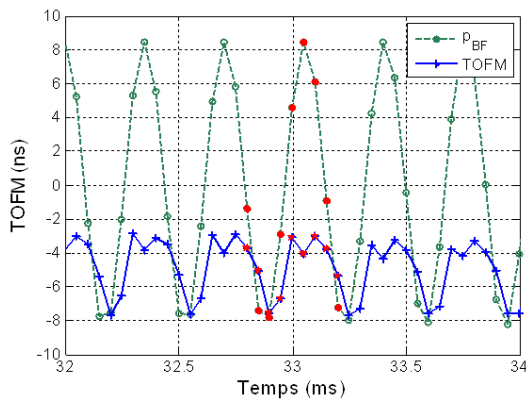


FIGURE 4.36 – Zoom temporel du TOFM et de la pression BF de la figure 4.35. Les marqueurs rouges correspondent à l'échantillonnage d'un peu plus d'une période BF et du TOFM associé.

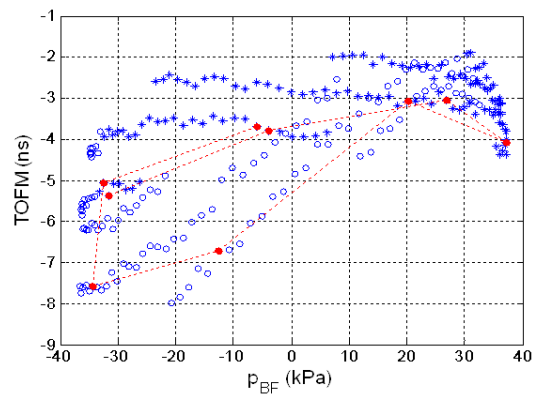


FIGURE 4.37 – Diagramme instantané correspondant à la mesure DAET de la figure 4.35. o : TOFM mesuré pendant les phases de pression croissante; * : TOFM mesuré pendant les phases de pression décroissante.

La même analyse faite sur la RAM (fenêtre d'analyse bleue sur la figure 4.38) ne fait pas apparaître la forme étoilée du diagramme instantané du TOFM (courbe formée par

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

les cercles bleus de la figure 4.38). En effet, la valeur moyenne de l'évolution temporelle de la RAM reste quasi identique sur cette fenêtre d'analyse. Au contraire, si la fenêtre d'analyse est déplacée sur un intervalle temporel succédant à l'arrêt mécanique du pot vibrant (fenêtre d'analyse pointillée de la figure 4.38), et qui correspond à une décroissance libre de la pression basse-fréquence, ainsi qu'à une apparition de l'offset de la RAM, le diagramme instantané obtenu est très différent. L'effet d'aliasing, couplé au phénomène de conditionnement de l'échantillon, fait apparaître de nouveau une forme étoilée sur le diagramme de la RAM instantanée (figure 4.38). On peut remarquer par ailleurs, que la courbe de la RAM instantanée calculée sur la fenêtre d'analyse décalée (résonance libre du piston), est "contenue" dans la courbe de la RAM instantanée obtenue sur la première fenêtre d'analyse (résonance établie du disque de verre).

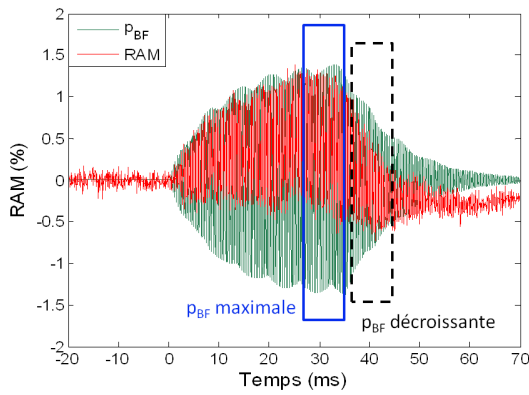


FIGURE 4.38 – Fenêtres temporelles utilisées pour l'analyse instantanée du TOFM en fonction de la pression basse-fréquence.

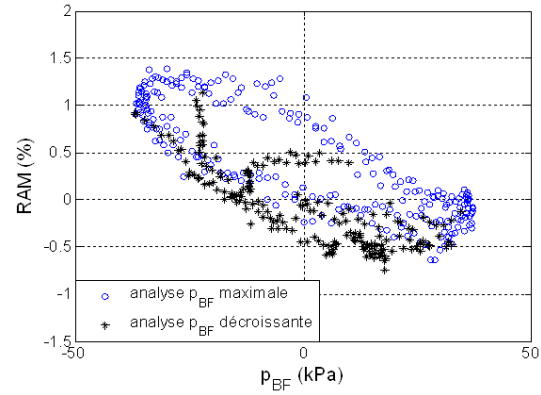


FIGURE 4.39 – Comparaison des diagrammes instantanés du TOFM obtenus à partir des deux fenêtres d'analyse indiquées en figure 4.38.

4.2.3.3 Effet seuil

Malgré la mauvaise reproductibilité des mesures (en partie due aux phénomènes de conditionnement), un comportement particulier est apparu sur beaucoup de diagrammes instantanés des paramètres TOFM et RAM, et qui se caractérise par :

- Le signe négatif du paramètre non linéaire quadratique β ,
- Un niveau de non-linéarités plus élevé pour des valeurs de pression basse-fréquence négatives que pour des valeurs de pression positives (asymétrie des diagrammes instantanés), particulièrement dans le cas du TOFM,
- Une évolution limitée du TOFM en compression basse-fréquence : au-delà de 20 à 30 kPa, le TOFM semble ne plus évoluer beaucoup.

Cette dernière caractéristique pourrait s'expliquer par l'existence d'un seuil de pression au-delà duquel l'action sur les microfissures du tissu osseux n'évoluerait plus (ouverture ou fermeture difficiles). Les figures 4.40 et 4.41 illustrent le cas de la mesure DAET de l'échantillon 84D effectuée avant la création mécanique de micro-endommagement. Pendant les phases de compression, le TOFM évolue avec la pression basse-fréquence tant que celle-ci ne dépasse pas 20 kPa. Au-delà, le TOFM commence par diminuer, puis réaugmente de façon à suivre de nouveau l'évolution de la pression basse-fréquence, au moment où débute

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

les phases de dilatation.

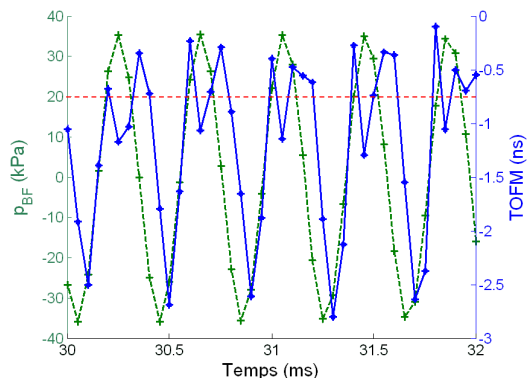


FIGURE 4.40 – Agrandissement temporel du TOFM et de la pression BF au cours d’une mesure DAET sur l’échantillon 84D. Au-delà de 20 kPa, le TOFM ne suit plus l’évolution de la pression BF.

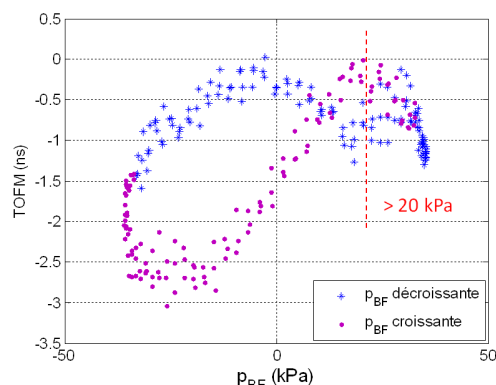


FIGURE 4.41 – Diagramme instantané du TOFM correspondant à la figure 4.40. La forme en huit traduit l’évolution temporelle complexe du TOFM.

4.2.4 Apport de l’analyse histologique

Une analyse histologique au MCBL a été menée sur les échantillons 60D, 91D et 116D du protocole 1. L’observation de 4 lames, prélevées sur chacun des échantillons, s’est faite sous lumière rouge (laser argon) pour identifier le micro-endommagement présent dans l’échantillon avant l’essai mécanique (endommagement natif et éventuellement provenant de la préparation de l’échantillon) et coloré à l’alizarine complexone. Puis, l’examen des microfissures s’est poursuivi sous lumière verte (laser hélium-néon) de façon à discerner le micro-endommagement créé par l’essai mécanique, teint à la calcéine verte. La superposition des deux images obtenues a permis de déterminer la présence initiale, la création ou l’agrandissement des fissures observées (cf. figure 4.42).

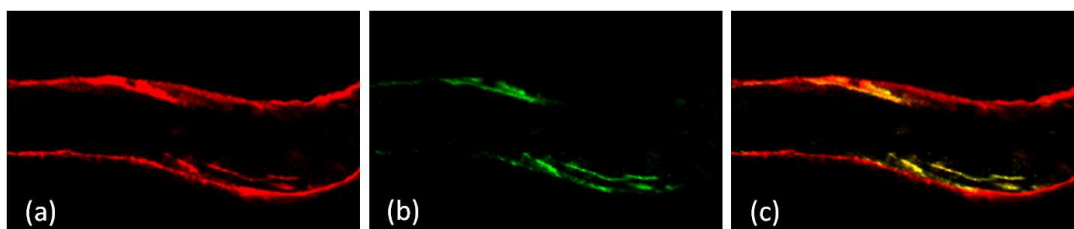


FIGURE 4.42 – Principe de la discrimination du micro-endommagement : (a) 1^{ère} coloration à l’alizarine complexone; (b) 2^{nde} coloration à la calcéine verte; (c) La superposition des deux images montre l’agrandissement des fissures linéiques initialement présentes.

Les types d’endommagements dénombrés peuvent être classés dans la catégorie des micro-traumatismes, parmi lesquels on trouve les fissures linéiques simples (figure 4.43), croisées ou parallèles (figure 4.44), ou dans la catégorie des macro-traumatismes, avec dans ce cas des travées cassées, "déchirées", ainsi que des travées paraissant avoir flambé sous l’action du cyclage en compression (figure 4.45). Le tableau 4.4 présente les densités de micro-endommagements observées sur les trois échantillons étudiés. Les fissures agrandies

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

par l'essai mécanique sont comptabilisées à la fois dans la densité de fissures avant et dans la densité de fissures après le test de fatigue en compression, conduisant à une sous-estimation de l'endommagement créé.

Echantillons	Densité de micro-endommagements (/mm ²)	
	Avant	Après
60D	0,192 ± 0,081	0,214 ± 0,078
91D	0,257 ± 0,201	0,283 ± 0,225
116D	1,355 ± 0,129	1,788 ± 0,270

TABLE 4.4 – Densités de micro-endommagements calculées à partir de l'observation au MCBL de 4 lames histologiques prélevées sur les échantillons 60D, 91D et 116D du premier protocole

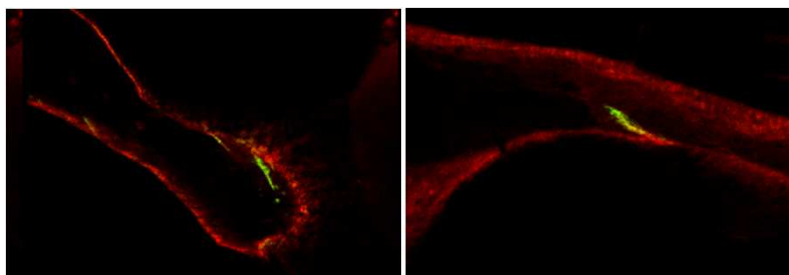


FIGURE 4.43 – Deux fissures linéiques agrandies après l'endommagement mécanique induit observées en microscopie confocale sur l'échantillon 60D.

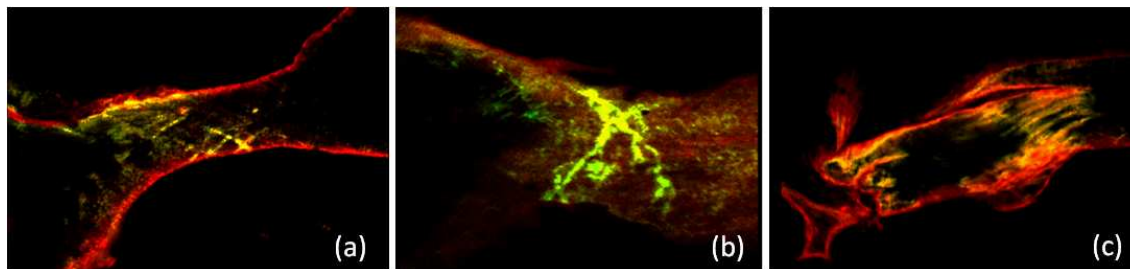


FIGURE 4.44 – Fissures linéiques croisées (a) et (b) et fissures linéiques parallèles (c) observées au MCBL lors de l'analyse histologique des échantillons du protocole 1 (échantillons 116D (a) et (c) et 60D (b)).

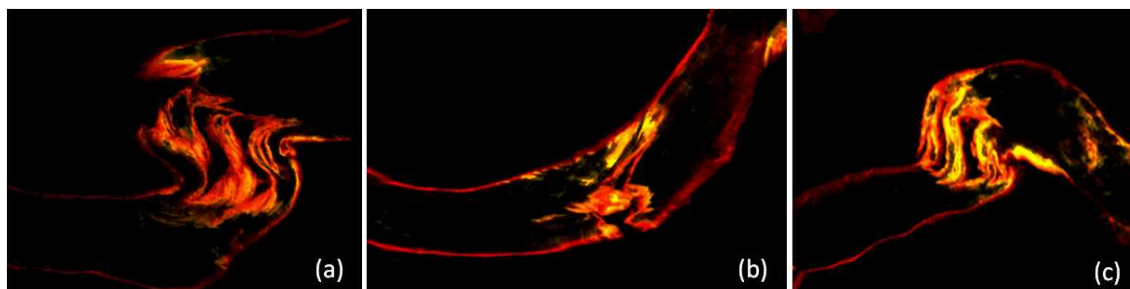


FIGURE 4.45 – Exemples de travées "flambées" (a) et (c) et de travée cassée (b) observées au MBCL lors de l'analyse histologique des échantillons du protocole 1 (échantillon 116D).

4.2. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS

Lors de l'analyse histologique de ces trois échantillons, la distinction entre les microfissures initialement présentes et celles agrandies n'a pas été aisée. Bien entendu, le réglage des paramètres du microscope confocal entre pour une part importante dans la finesse de l'analyse, puisque les spectres d'émission des fluorochromes utilisés ne sont pas aussi étroits que souhaité. Néanmoins, la présence de calcéine sur des fissures colorées une première fois à l'alizarine complexone entraîne l'hypothèse de la sollicitation par l'essai mécanique de microfissures initialement présentes (couleur résultante, orangée). L'agrandissement de ces fissures pourrait avoir lieu de façon suffisamment fine pour laisser se fixer des molécules de calcéine à proximité des molécules d'alizarine déjà présentes, lors de la seconde coloration. D'autre part, lors du comptage des microfissures agrandies, celles-ci ont été prises en compte à la fois dans la densité de micro-endommagement initialement présent et dans la densité de micro-endommagement créé. Ceci entraîne une sous-estimation de l'endommagement induit par l'essai mécanique. De plus, il n'a pas été possible de "pondérer" les types d'endommagement observés. En effet, l'influence d'un macro-endommagement de type travée flambée sur les non-linéarités acoustiques n'est sans doute pas le même que celui d'une microfissure. Cette hypothèse est renforcée par la capacité certainement plus grande d'une travée déchirée à réagir à la sollicitation basse-fréquence qu'une microfissure, possiblement plus difficile à ouvrir et fermer. Le tableau de la figure 4.46 présente le détail de l'analyse histologique menée sur les trois échantillons.

	Echantillon Coupe	60D	60D	60D	60D	91D	91D	91D	91D	116D	116D	116D
		C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C4	C5	C6
Fissures linéiques	Nvelles	4	0	1	2	0	1	1	2	46	21	
	Anciennes	2	1	7	0	1	0	4	0	11	10	
	Agrandies	6	9	19	9	2	5	17	15	77	27	
Travées déchirée	Nvelles	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
	Anciennes	0	0	0	0	0	0	1	0	4	2	
	Agrandies	3	0	4	0	0	0	3	0	15	39	
Fissures linéiques parallèles	Nvelles	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Anciennes	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	
	Agrandies	2	0	0	1	1	0	0	0	13	10	
Travées cassées	Nvelles	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	Anciennes	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	
	Agrandies	0	0	0	0	1	0	1	0	0	3	
Total	Av Endgt	14	10	30	10	5	5	26	15	125	91	
	Ap Endgt	18	10	31	12	5	6	28	17	171	115	
	surface (mm ²)	84,0	66,1	96,0	72,0	57,2	45,6	48,4	50,8	86,4	72,0	72,0
Cr.N.Ar (/mm ²)	Avant fatigue	0,167	0,151	0,313	0,139	0,0874	0,1096	0,5372	0,2952	1,447	1,264	0,000
	Après fatigue	0,214	0,151	0,323	0,167	0,0874	0,1316	0,5785	0,3345	1,979	1,597	0,000

FIGURE 4.46 – Quantification du micro-endommagement des échantillons du protocole 1 par observation au MCBL. L'endommagement agrandi est comptabilisé à la fois dans la densité de fissures avant et dans la densité de fissures après l'essai de fatigue.

4.3 Conclusions

Les résultats issus de cette étude montrent qu'une petite moitié des échantillons a montré une augmentation des non-linéarités acoustiques en lien avec l'accumulation de micro-endommagements. Les niveaux de non-linéarités mesurés avec la méthode DAET n'ont en effet pas augmenté systématiquement avec l'endommagement induit. Cependant, les mesures concluantes semblent faire ressortir un motif spécifique des diagrammes instantanés du TOFM (figure 4.41).

Par ailleurs, l'analyse histologique partielle de trois échantillons a révélé plusieurs types de micro-endommagements, ainsi que la présence de macro-endommagements de type travées déchirées, travées cassées ou encore travées soumises à un flambage mécanique. La question se pose alors de savoir à quel type d'endommagement la méthode DAET, appliquée en l'état actuel, se montre sensible ?

Malgré les efforts importants mis en œuvre dans la compréhension des champs acoustiques utilisés et dans l'amélioration du maintien du dispositif expérimental, la mauvaise reproductibilité des mesures DAET persiste. Elle provient en partie de la présence d'air dissout dans l'eau de la cuve expérimentale qui, sous l'action d'importants niveaux de pression basse-fréquence, prend la forme de microbulles fortement non linéaires parasitant les mesures acoustiques.

Enfin, nous avons également observé un phénomène de conditionnement des échantillon à la sollicitation acoustique basse-fréquence, conduisant à des comportements des paramètres TOFM et RAM complexes et variables entre les mesures successives effectuées le même jour. D'autre part, le dégazage sous vide des échantillons a entraîné une diminution de la température voisine de 0°C au bout de quelques heures. Ce facteur semble également avoir contribué à la variabilité des mesures DAET.

Cette étude a toutefois montré une sensibilité accrue de la méthode DAET à l'endommagement induit, comparativement à celui natif. Par ailleurs, ces mesures expérimentales *in vitro* ont entraîné une forte suspicion quant à la présence de microbulles d'air perturbant les non-linéarités mesurées. Ce problème n'a pas lieu d'être *in vivo*.

4.3. CONCLUSIONS

Chapitre 5

Éléments d'analyse pour l'interprétation des non-linéarités acoustiques

Sommaire

5.1	Simulation de la propagation ultrasonore dans l'os trabéculaire par une méthode pseudo-spectrale	136
5.1.1	Présentation de la méthode pseudo-spectrale	137
5.1.2	Influence des fissures sur la propagation ultrasonore	142
5.2	Modèle viscoélastique	146
5.2.1	Approche analytique du comportement viscoélastique	146
5.2.2	Application du modèle pour les mesures DAET dans l'eau et l'os trabéculaire	150
5.2.3	Perspectives	151
5.3	Conclusions	152

Les non-linéarités acoustiques mesurées sur les échantillons osseux trabéculaires posent quelques difficultés d'interprétation, notamment en ce qui concerne les valeurs négatives du paramètre β . En effet, certaines mesures ont présenté une évolution instantanée du paramètre TOFM qu'on pourrait presque qualifier de "contre-intuitive" (mais nous sommes dans le domaine de la non-linéarité...) ou tout du moins dont le sens physique n'apparaît pas évident. De même les hystérésis souvent présentes sur les diagrammes instantanés du TOFM ne peuvent pas s'expliquer à travers les paramètres non linéaires du développement en série de Taylor du module élastique (β et δ). Plusieurs hypothèses peuvent être émises concernant d'une part l'ouverture et la fermeture des fissures sous l'action de l'onde basse-fréquence, qui ne sont sans doute pas simplement reliées à des effets de dilatation et compression hydrostatiques, respectivement. D'autre part, l'intégrité du collagène dans la grande majorité des échantillons osseux testés est largement suspectée influencer les comportements viscoélastiques mesurés.

Dans ce chapitre, deux modélisations sont présentées pour tenter d'apporter de premiers éléments d'analyse pour l'interprétation des non-linéarités acoustiques. Une première modélisation s'attache à simuler la propagation acoustique (impulsions ultrasonores) dans un milieu biphasique poreux, utilisant un code numérique de propagation pseudo-spectral, et à noter l'influence de microfissures au sein de ce milieu. Une seconde modélisation, analytique cette fois, s'intéresse au développement du module élastique M associant les ordres supérieurs à une rhéologie de la viscoélasticité. Il s'agit dans ce cas d'évaluer l'influence de paramètres non linéaires élastiques et visqueux dans la complexité des schémas décrits par le TOFM instantané.

5.1 Simulation de la propagation ultrasonore dans l'os trabéculaire par une méthode pseudo-spectrale

Les approches numériques pour simuler la propagation ultrasonore sont particulièrement intéressantes dans le contexte des milieux complexes, biphasiques, hétérogènes, comme le tissu osseux trabéculaire. Nous avons souhaité, à travers ce travail, donner quelques éléments de réponse à deux aspects de la propagation ultrasonore dans des échantillons osseux par la méthode DAET. Le premier point s'attache à savoir si l'ordre de grandeur du TOFM mesuré expérimentalement est compatible avec l'inclusion par simulation, de microfissures ouvertes dans le maillage du tissu osseux. Le second objectif consiste à vérifier l'existence d'une onde rapide et d'une onde lente, et notamment à évaluer sur chacune d'elle les niveaux de TOFM relatifs au nombre de microfissures incluses dans le maillage. Des travaux antérieurs ont été menés au laboratoire pour le développement d'un code pseudo-spectral de propagation ultrasonore dans les milieux liquides et solides [169, 170, 171, 172], code qui a été repris et adapté pour notre étude. Cette section s'articule en deux parties présentant successivement le modèle pseudo-spectral utilisé, puis son application à la propagation ultrasonore dans le tissu osseux trabéculaire "sain" et fissuré.

5.1.1 Présentation de la méthode pseudo-spectrale

Le modèle numérique appliqué dans ce travail se base sur la méthode pseudo-spectrale présentée par Kreiss et Oliger dans une étude comparant différentes méthodes pour l'intégration d'équations hyperboliques [173]. Dans notre cas, la méthode est utilisée pour suivre la propagation d'une onde au cours du temps, on parle classiquement de méthode PSTD (pseudo-spectral time domain). Les propriétés de dérivation de la transformée de Fourier sont utilisées pour résoudre les dérivées spatiales des équations aux dérivées partielles (EDP). Ces dernières se simplifient en équations différentielles ordinaires ne dépendant plus que du temps. L'intégration temporelle s'effectue au moyen d'un schéma d'Adams-Bashforth.

Parmi les avantages des méthodes pseudo-spectrales, le premier réside dans la possibilité de simuler la propagation sur de longues distances (plusieurs centaines de longueurs d'onde), et ce de manière plus stable que les autres méthodes de type éléments finis ou différences finies [174, 175]. D'autre part, Liu [176] a montré que pour des équations dont les coefficients variaient lentement, le calcul exact des dérivées spatiales par la méthode pseudo-spectrale de Fourier ne requerrait pas plus de deux noeuds pour la plus petite longueur d'onde. Le faible nombre de points par longueur d'onde, et par conséquent le faible temps de calcul, sont un atout majeur de la méthode PSTD.

Remarque : Le tenseurs des contraintes est noté $\mathbf{T}$, en accord avec la notation du code repris.

5.1.1.1 Equations régissant le milieu considéré

Dans ce modèle, l'os est envisagé comme un milieu solide élastique. L'équation de propagation du milieu résulte du principe fondamental de la dynamique et s'écrit, dans le cas où les forces extérieures agissant selon la direction (i) sont nulles

$$\rho_0 \frac{\partial v_i}{\partial t} = \frac{\partial T_{ij}}{\partial x_j}, \quad (5.1)$$

où ρ est la masse volumique et v_i la vitesse particulaire dans la direction i . Le tenseur des contraintes élastiques T_{ij} s'exprime, selon la loi de Hooke, en fonction du déplacement particulaire u et du tenseur des constantes élastiques c_{ijkl} :

$$T_{ij} = c_{ijkl} \frac{\partial u_k}{\partial x_l}. \quad (5.2)$$

Ainsi, à partir des équations (5.1) et (5.2), un milieu solide élastique peut être décrit par le vecteur vitesse et le tenseur des contraintes :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial v_i}{\partial t} = \frac{1}{\rho_0} \frac{\partial T_j}{\partial x_i} \\ \frac{\partial T_j}{\partial t} = c_{ijkl} \frac{\partial v_k}{\partial x_l} \end{array} \right. \quad (5.3)$$

5.1. SIMULATION DE LA PROPAGATION ULTRASONORE DANS L'OS TRABÉCULAIRE PAR UNE MÉTHODE PSEUDO-SPECTRALE

Appliqué au cas bidimensionnel (x_1, x_3) d'un solide élastique supposé isotrope, le système (5.3) devient :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial v_1}{\partial t} = \frac{1}{\rho^{(0)}} \left(\frac{\partial T_{11}}{\partial x_1} + \frac{\partial T_{13}}{\partial x_3} \right) \\ \frac{\partial v_3}{\partial t} = \frac{1}{\rho^{(0)}} \left(\frac{\partial T_{13}}{\partial x_1} + \frac{\partial T_{33}}{\partial x_3} \right) \\ \frac{\partial T_{11}}{\partial t} = (2\mu + \lambda) \frac{\partial v_1}{\partial x_1} + \lambda \frac{\partial v_3}{\partial x_3} \\ \frac{\partial T_{13}}{\partial t} = \mu \left(\frac{\partial v_1}{\partial x_3} + \frac{\partial v_3}{\partial x_1} \right) \\ \frac{\partial T_{33}}{\partial t} = \lambda \frac{\partial v_1}{\partial x_1} + (2\mu + \lambda) \frac{\partial v_3}{\partial x_3} \end{array} \right. \quad (5.4)$$

Les paramètres élastiques λ et μ (coefficients de Lamé) sont définis au chapitre 2 et $\rho^{(0)}$ est la masse volumique du milieu.

5.1.1.2 Dérivation spatiale

Comme mentionné précédemment, une première étape de la méthode pseudo-spectrale consiste à calculer les dérivées spatiales des équations de propagation dans le domaine de Fourier. La dérivée d'une fonction $G(x)$ quelconque par rapport à x se fait de la façon suivante :

$$\frac{\partial G(x)}{\partial x} = FFT^{-1} [(-jk_x).FFT(G(x))], \quad (5.5)$$

où FFT est la transformée de Fourier rapide et FFT^{-1} , la transformée inverse. L'implémentation numérique de ce calcul se fait donc en trois étapes successives :

1. calculer la transformée de Fourier de la fonction considérée,
2. multiplier le résultat par l'opérateur de propagation jk_x (si la propagation se fait selon l'axe x), où k_x est la composante selon x du nombre d'onde,
3. effectuer la transformée de Fourier inverse de l'ensemble.

Afin d'améliorer la stabilité et de s'affranchir du bruit numérique résultant des variations brutales du milieu (phénomène de Gibbs dû à l'utilisation des transformées de Fourier), le maillage du domaine spatial est effectué au moyen de grilles décalées. Les composantes de la vitesse particulaire $\vec{v}$ et du tenseur des contraintes T_{ij} sont réparties selon le schéma de la figure 5.1.

Ainsi, pour chaque calcul de dérivation, les valeurs obtenues sont décalées d'un demi pas spatial $(\Delta x_i/2)$ de façon à faire correspondre les termes du système (5.4) entre eux.

5.1. SIMULATION DE LA PROPAGATION ULTRASONORE DANS L'OS TRABÉCULAIRE PAR UNE MÉTHODE PSEUDO-SPECTRALE

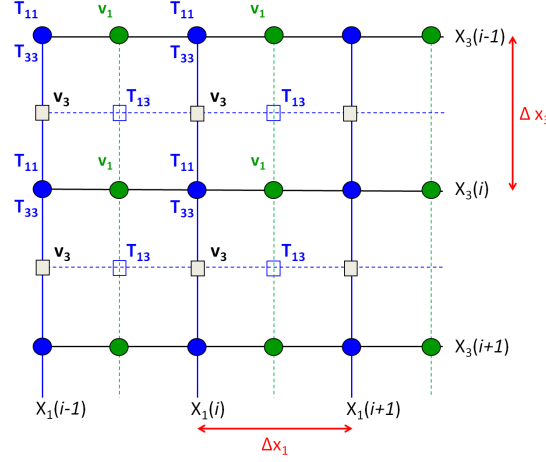


FIGURE 5.1 – Répartition spatiale des variables décrivant le milieu simulé dans le cas de grilles décalées.

5.1.1.3 Insertion de zones absorbantes

L'étude numérique de la propagation d'onde dans un domaine de calcul fini nécessite l'introduction de conditions aux limites particulières. Afin d'éviter les rebonds sur ces frontières artificielles, ainsi que les phénomènes de périodicité spatiales inhérents à la transformée de Fourier, la solution retenue consiste à insérer sur les bords du domaine des couches absorbantes de type PML (Perfectly Matched Layers), développées par Berenger [177] pour la propagation d'ondes électromagnétiques. Yuan *et al.* [178] utilisent la première fois les PML pour la simulation de la propagation d'ondes acoustiques. Ils démontrent qu'une zone PML de huit noeuds peut réduire les réflexions d'environ 80 dB. En 2000, Anderson [179] programme la propagation d'une onde acoustique en couplant l'utilisation des PML aux méthodes pseudo-spectrales. Les PML sont des couches parfaitement adaptées en impédance qui absorbent les ondes atteignant les limites du domaine de calcul. La figure 5.2 représente la grille de calcul du modèle numérique (de dimensions $N \times M$) aux bords de laquelle sont disposées les conditions absorbantes, sur une épaisseur de m points. A l'intérieur de ces couches, les équations de propagation diffèrent donc de celles appliquées dans le reste du domaine par l'introduction de termes d'atténuation ω_i , pondérant les variables considérées.

L'application des équations (5.4) aux zones PML se simplifie au moyen d'un passage dans le domaine fréquentiel [180]. Le changement de variables opéré est le suivant :

$$\tilde{x}_1 = \int_0^{x_1} s_1(x'_1) dx'_1 \quad (5.6)$$

$$\tilde{x}_3 = \int_0^{x_3} s_3(x'_3) dx'_3, \quad (5.7)$$

où les variables s_1 et s_3 sont appelées variables d'étirement. Ces dernières ont été choisies au cours des travaux précédents [169, 170, 171, 172] de façon à obtenir des résultats conformes à ceux calculés par Berenger [177] :

5.1. SIMULATION DE LA PROPAGATION ULTRASONORE DANS L'OS TRABÉCULAIRE PAR UNE MÉTHODE PSEUDO-SPECTRALE

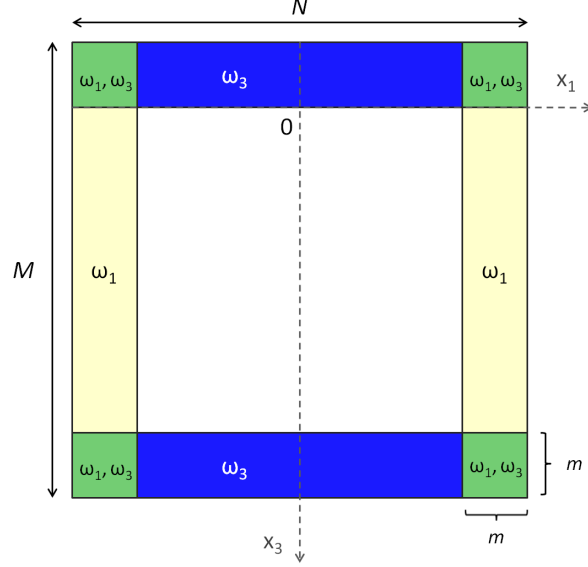


FIGURE 5.2 – Zones absorbantes (PML) appliquées sur les bords de la grille du domaine de calcul. ω_i sont les atténuations des PML dans la direction de propagation i .

$$\begin{cases} s_1 = a_1 + j \frac{\omega_1}{\omega} \\ s_3 = a_3 + j \frac{\omega_3}{\omega} \end{cases} \quad (5.8)$$

Les grandeurs a_i ($i = 1, 3$) sont utiles lorsqu'il y a des ondes évanescentes. Dans notre cas, elles sont négligeables et $a_1 = a_3 = 1$. Les atténuations ω_i sont nulles en dehors des zones PML. En raison de l'application de PML spécifiques à la direction de propagation, il est nécessaire de décomposer la vitesse particulière et le tenseur des contraintes comme suit :

$$\vec{v} = \begin{cases} v_1 = v_1^1 + v_1^3 \\ v_3 = v_3^1 + v_3^3 \end{cases} \quad (5.9) \quad T = \begin{cases} T_{11} = T_{11}^1 + T_{11}^3 \\ T_{13} = T_{31} \\ T_{33} = T_{33}^1 + T_{33}^3 \end{cases} \quad (5.10)$$

La première équation du système (5.4) peut donc se décomposer de la façon suivante :

$$\begin{aligned} \frac{\partial v_1}{\partial t} &= \frac{\partial v_1^1}{\partial t} + \frac{\partial v_1^3}{\partial t} \\ &= \left(\frac{1}{\rho^{(0)}} \frac{\partial T_{11}}{\partial x_1} \right) + \left(\frac{1}{\rho^{(0)}} \frac{\partial T_{13}}{\partial x_3} \right). \end{aligned} \quad (5.11)$$

Si l'on considère la décomposition selon v_1^1 de l'équation (5.11), le changement de coordonnées $x_1 \rightarrow \tilde{x}_1$, avec $s_1 = 1 + j \frac{\omega_1}{\omega}$, permet d'écrire :

5.1. SIMULATION DE LA PROPAGATION ULTRASONORE DANS L'OS TRABÉCULAIRE PAR UNE MÉTHODE PSEUDO-SPECTRALE

$$\frac{\partial v_1^1}{\partial t} = -j\omega v_1^1 = \frac{1}{\rho^{(0)}} \left(\frac{1}{s_1} \frac{\partial T_{11}}{\partial \tilde{x}_1} \right), \quad (5.12)$$

$$\text{alors} \quad \frac{\partial v_1^1}{\partial t} = \frac{1}{\rho^{(0)}} \frac{\partial T_{11}}{\partial x_1} - \omega_1 v_1^1. \quad (5.13)$$

Une fois cette transformation appliquée à l'ensemble des équations du système (5.4), on obtient les deux systèmes suivants :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial v_1^1}{\partial t} = \frac{1}{\rho^{(0)}} \frac{\partial T_{11}}{\partial x_1} - \omega_1 v_1^1 \\ \frac{\partial v_1^3}{\partial t} = \frac{1}{\rho^{(0)}} \frac{\partial T_{13}}{\partial x_1} - \omega_3 v_1^3 \\ \frac{\partial v_3^1}{\partial t} = \frac{1}{\rho^{(0)}} \frac{\partial T_{13}}{\partial x_1} - \omega_1 v_3^1 \\ \frac{\partial v_3^3}{\partial t} = \frac{1}{\rho^{(0)}} \frac{\partial T_{33}}{\partial x_3} - \omega_3 v_3^3 \end{array} \right. \quad (5.14)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial T_{11}^1}{\partial t} = (2\mu + \lambda) \frac{\partial v_1}{\partial x_1} - \omega_1 T_{11}^1 \\ \frac{\partial T_{11}^3}{\partial t} = \lambda \frac{\partial v_3}{\partial x_3} - \omega_3 T_{11}^3 \\ \frac{\partial T_{13}^1}{\partial t} = \mu \frac{\partial v_3}{\partial x_1} - \omega_3 T_{13}^1 \\ \frac{\partial T_{13}^3}{\partial t} = \mu \frac{\partial v_1}{\partial x_3} - \omega_3 T_{13}^3 \\ \frac{\partial T_{33}^1}{\partial t} = \lambda \frac{\partial v_1}{\partial x_1} - \omega_1 T_{33}^1 \\ \frac{\partial T_{33}^3}{\partial t} = (2\mu + \lambda) \frac{\partial v_3}{\partial x_3} - \omega_3 T_{33}^3 \end{array} \right. \quad (5.15)$$

5.1.1.4 Intégration temporelle par la méthode d'Adams-Bashforth

Une fois les dérivées spatiales calculées, il reste à intégrer les variables dans le temps. Le schéma utilisé est un schéma d'Adams-Bashforth d'ordre 4 (*i.e.* qui utilise 4 pas). Ce schéma implicite calcule la valeur d'une variable à t_{i+1} à l'aide de sa valeur à t_i et des valeurs de sa dérivée à quatre pas de temps antérieurs. Les coefficients utilisés sont ceux publiés par Ghrist *et al.* [181]. Les paramètres v_i et T_{ij} ne sont pas calculés simultanément et les grilles temporelles sont décalées de $\Delta t/2$, permettant d'acquérir une précision proche de celle obtenue avec un demi-pas de temps. Ainsi,

- les variables T_{ij} sont calculées aux pas de temps entiers : $t_n = n \Delta t$,
- tandis que les variables v_i sont évaluées à des pas de temps non entiers : $t_{n+\frac{1}{2}} = (n + \frac{1}{2}) \Delta t$.

Ainsi, la valeur prédite à $t + \Delta t$ est estimée par le schéma d'Adams-Bashforth d'ordre 4 de la façon suivante :

$$y(t + \Delta t) = y(t) + \frac{\Delta t}{24} \left(26f(t + \frac{\Delta t}{2}) - 5f(t - \frac{\Delta t}{2}) + 4f(t - \frac{3\Delta t}{2}) - f(t - \frac{5\Delta t}{2}) \right), \quad (5.16)$$

où la fonction $f(t, y(t))$ est la dérivée temporelle de $y(t)$ ($f(t, y(t)) = \frac{dy(t)}{dt}$).

5.1. SIMULATION DE LA PROPAGATION ULTRASONORE DANS L'OS TRABÉCULAIRE PAR UNE MÉTHODE PSEUDO-SPECTRALE

Par ailleurs, la stabilité de la méthode est garantie pour un modèle en deux-dimensions si la condition de stabilité de Courant est respectée :

$$c_{max} \Delta t \leq \frac{1}{\sqrt{\frac{1}{(\Delta x_1)^2} + \frac{1}{(\Delta x_3)^2}}}, \quad (5.17)$$

où c_{max} est la vitesse maximale de propagation des ondes mises en jeu. Le choix de l'incrément temporel Δt est donc effectué afin de respecter cette condition de stabilité.

5.1.2 Influence des fissures sur la propagation ultrasonore

5.1.2.1 Milieu de propagation

De façon à approcher au mieux nos conditions expérimentales, le milieu de propagation simulé se constitue d'une coupe d'échantillon osseux trabéculaire de $13 \times 15,3 \text{ mm}^2$ (photographie d'une des lamelles d'histologie étudiées pour le chapitre 4), immergée dans l'eau. Les points d'émission et d'écoute des signaux propagés sont placés de part et d'autre de l'échantillon osseux, comme indiqué sur la figure 5.3 et s'étendent sur 13 mm de hauteur (diamètre des transducteurs utilisés). La distance entre l'échantillon et chacun des transducteurs est de 15,9 mm. La couche PML est composée de 16 points tout autour de ce domaine.

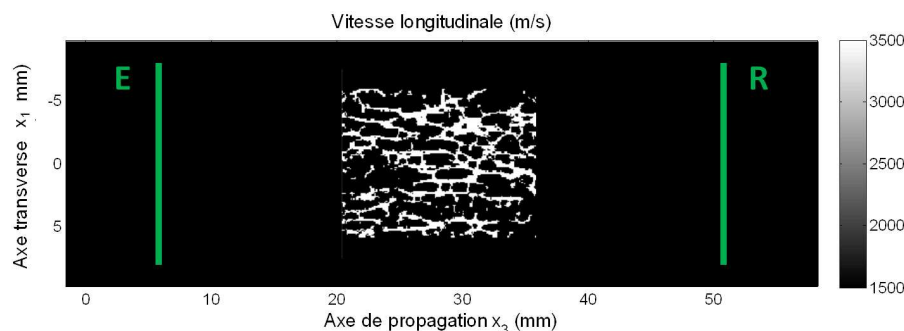


FIGURE 5.3 – Grille numérique des vitesses. Les lignes blanches E et R identifient les points d'émission et d'écoute des signaux propagés.

Les dimensions de la grille de calcul selon le repère (x_1, x_3) sont $196 \times 600 \text{ mm}^2$, les pas spatiaux ont été choisis égaux ($\Delta x_1 = \Delta x_3 = 0,1 \text{ mm}$), permettant à la fois une stabilité du code numérique, une discrétisation suffisante pour décrire le milieu (travées osseuses) et un temps de calcul acceptable. Quant au pas temporel Δt , il vaut 4 ns, de façon à respecter la condition de stabilité de Courant. D'autre part, les caractéristiques du tissu osseux trabéculaire et de l'eau prises en compte dans le modèle sont la densité volumique ρ , la vitesse de compression c_L et la vitesse de cisaillement c_T , avec :

- pour le tissu osseux : $\rho = 2000 \text{ kg.m}^{-3}$, $c_L = 3500 \text{ m.s}^{-1}$ et $c_T = 1800 \text{ m.s}^{-1}$,
- pour l'eau : $\rho = 1000 \text{ kg.m}^{-3}$, $c_L = 1500 \text{ m.s}^{-1}$ et $c_T = 0 \text{ m.s}^{-1}$.

La figure 5.4 illustre l'impulsion ultrasonore émise à une fréquence 1 MHz et constituée

5.1. SIMULATION DE LA PROPAGATION ULTRASONORE DANS L'OS TRABÉCULAIRE PAR UNE MÉTHODE PSEUDO-SPECTRALE

de deux périodes. Une apodisation est effectuée sur les six premiers et les six derniers points.

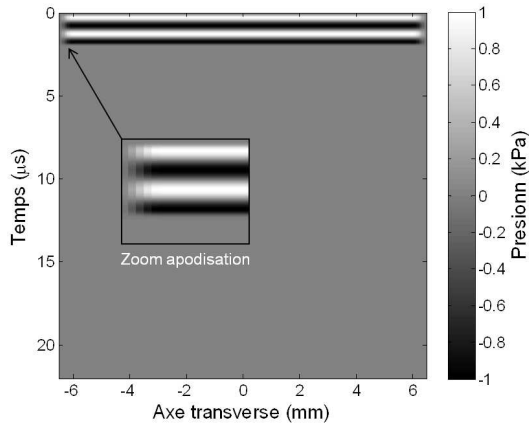


FIGURE 5.4 – Impulsion ultrasonore émise le long des points d'émission.

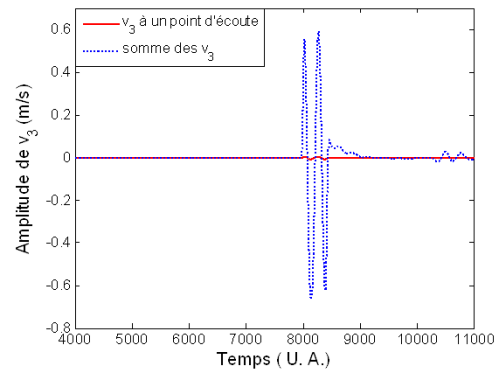


FIGURE 5.5 – Signal de la vitesse propagée selon x_3 dans l'eau seule recueilli en un point (courbe rouge) et moyenné sur l'ensemble des points d'écoute (pointillés bleus).

Après s'être propagée dans le milieu, l'impulsion ultrasonore est recueillie et moyennée sur l'ensemble des points d'écoute du récepteur (13 mm). L'exemple de la vitesse propagée selon x_3 dans l'eau sans échantillon osseux est présenté sur la figure 5.5. Les deux signaux de la composante T_{33} propagés dans l'eau et dans l'os immergé sont représentés sur la figure 5.6. Le signal propagé dans l'échantillon osseux est normalisé par rapport à la valeur maximum du signal dans l'eau seule. L'atténuation entre ces deux signaux est de l'ordre de 33 dB. On distingue nettement sur le signal propagé dans l'os une onde rapide de fréquence très basse par rapport au signal émis à 1 MHz (proche de 300 kHz), suivie d'une onde lente à la fréquence 1 MHz. Ce résultat est cohérent avec les résultats de la littérature et nos mesures expérimentales de propagation d'onde ultrasonore *in vitro* [182, 183].

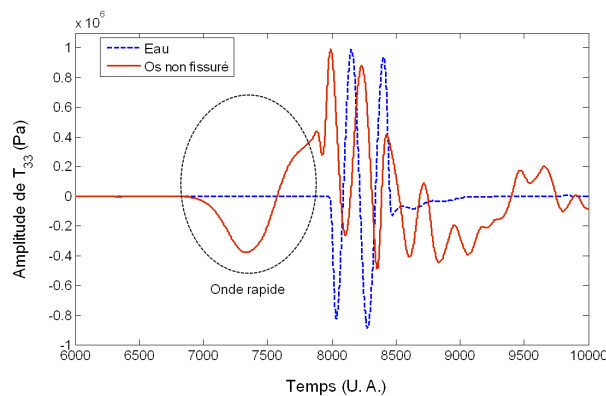


FIGURE 5.6 – Signaux temporels de la composante T_{33} reçus après propagation dans l'eau et dans un échantillon trabéculaire immergé et normalisés par rapport au maximum de T_{33} dans l'eau . Le signal dans l'os fait apparaître une onde rapide, très basse-fréquence par rapport au signal émis à 1 MHz.

5.1. SIMULATION DE LA PROPAGATION ULTRASONORE DANS L'OS TRABÉCULAIRE PAR UNE MÉTHODE PSEUDO-SPECTRALE

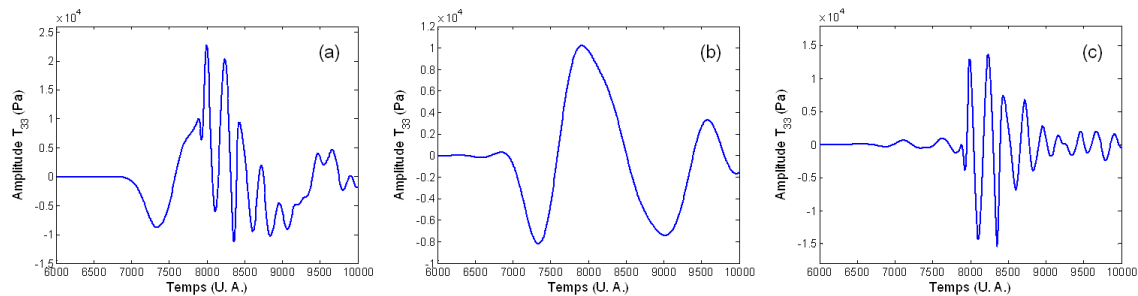


FIGURE 5.7 – (a) Signal reçu après propagation dans un échantillon trabéculaire immergé. (b) et (c) représentent respectivement l'onde rapide et l'onde lente sélectionnées après le processus de filtrage.

5.1.2.2 Calcul des variations de temps de vol ultrasonore

La variation de temps de vol (ΔTOF) de l'impulsion ultrasonore mesurée entre la propagation dans l'eau et celle dans l'échantillon immergé est calculée au moyen d'une méthode d'intercorrélation entre les deux signaux reçus. La précision sur la valeur de ΔTOF est améliorée en réalisant une interpolation parabolique du maximum de la fonction de corrélation [154]. Cependant, la présence sur les signaux propagés dans l'échantillon osseux d'une onde rapide dont la fin se confond avec le début de l'onde lente nécessite de procéder à un filtrage préalable des signaux. Le filtre utilisé est un filtre Butterworth d'ordre 4 et la fréquence de coupure est choisie à 400 kHz. Selon le filtre appliqué, passe-bas ou passe-haut, l'onde rapide ou l'onde lente, respectivement, sera privilégiée. Les résultats obtenus sont illustrés sur la figure 5.7.

5.1.2.3 Influence de la présence de fissures

Des fissures orientées parallèlement ou verticalement à l'axe de propagation ultrasonore ont été incluses dans la matrice osseuse. Chaque fissure mesurant $100 \times 400 \mu\text{m}$ (1×4 points) est saturée en eau. La figure 5.8 montre un agrandissement de trois fissures verticales insérées dans la structure trabéculaire.

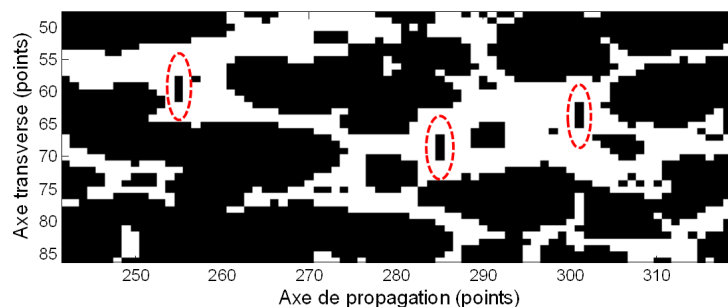


FIGURE 5.8 – Agrandissement de la structure trabéculaire découvrant l'inclusion de trois fissures verticales.

Une première simulation est effectuée dans le milieu de référence, c'est-à-dire dans l'échantillon trabéculaire sans fissure. Puis, six autres simulations sont lancées à travers ce même milieu modifié par l'ajout d'un nombre croissant de fissures : 4, 8 et 12 fissures

5.1. SIMULATION DE LA PROPAGATION ULTRASONORE DANS L'OS TRABÉCULAIRE PAR UNE MÉTHODE PSEUDO-SPECTRALE

orientées verticalement et horizontalement et placées aléatoirement dans la matrice osseuse. Ces fissures simulent l'état "moyen" de fissures ouvertes lorsque la pression basse-fréquence est maximale (en valeur absolue). La figure 5.9 compare les différents signaux obtenus. Un agrandissement effectué sur le début du signal met en évidence la variation de temps de vol entre les signaux, essentiellement observée sur l'onde rapide. Les différents ΔTOF sont reportés dans le tableau de la figure 5.10.

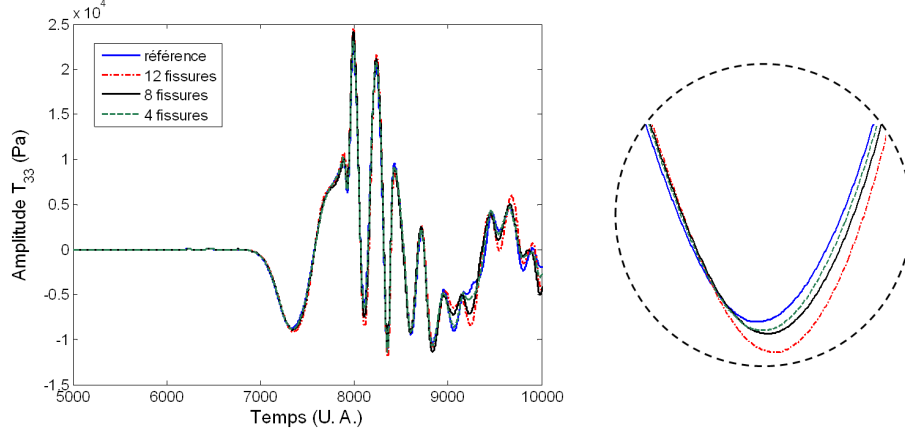


FIGURE 5.9 – Signaux ultrasonores après propagation à travers un échantillon sans et avec fissures. A droite, un agrandissement de la première demi-période illustre le ΔTOF entre les différents échos.

ΔTOF (ns)	4 fissures verticales	4 fissures horizontales	8 fissures verticales	8 fissures horizontales	12 fissures verticales	12 fissures horizontales
Onde rapide	29	19	31	26	34	39
Onde lente	4	3	4	6	11	10

FIGURE 5.10 – Variations des temps de vol de l'onde rapide et de l'onde lente (ΔTOF) mesurées entre les signaux propagés dans le milieu de référence (sans fissure) et dans l'échantillon trabéculaire contenant des fissures orientées verticalement ou horizontalement.

Il ressort de ces simulations que les plus grandes variations de temps de vol apparaissent sur l'onde rapide du signal transmis, ce qui s'explique aisément par la propension de ce type d'onde à se propager dans le tissu osseux, où se situent les fissures, plutôt que dans l'eau. Comme attendu, les temps de vol ultrasonores augmentent avec le nombre de fissures ajoutées. Les variations de temps de vol estimés sur l'onde lente sont bien plus faibles (près de sept fois plus petits que ceux estimés sur l'onde rapide). Cependant, la tendance est la même : ces variations augmentent avec la présence de fissures. D'autre part, l'orientation des fissures par rapport à la direction de propagation ultrasonore semble n'avoir qu'une faible influence sur le temps de propagation.

L'apparition d'une onde rapide basse-fréquence précédant l'onde lente, après propagation dans le tissu trabéculaire, est en accord avec nos résultats expérimentaux et les données de la littérature. Cependant, dans nos mesures expérimentales, l'onde rapide n'apparaît pas à chaque fois (l'échantillon doit avoir une densité volumique importante). De plus, l'atténuation du tissu osseux n'est pas prise en compte dans ce code. Mais, lorsque c'est le cas et que le rapport signal à bruit est correct, les valeurs de TOFM calculées sont

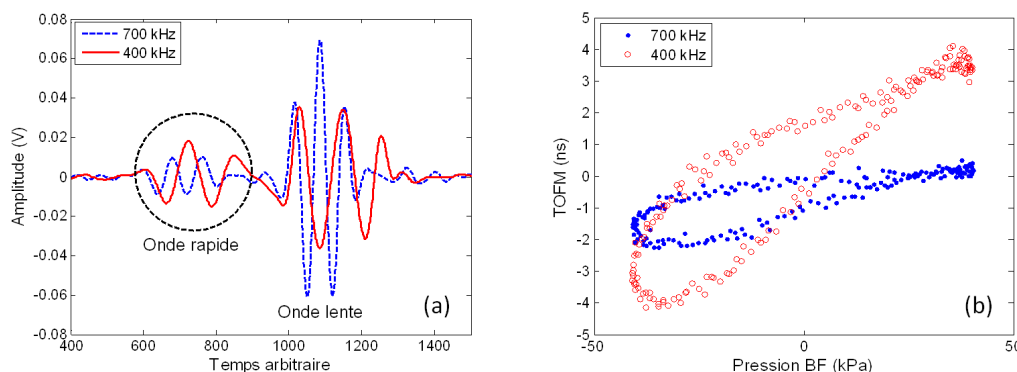


FIGURE 5.11 – (a) Signaux ultrasonores dont la fréquence centrale a été choisie pour améliorer le rapport signal à bruit de l’onde rapide (400 kHz) et de l’onde lente (700 kHz). (b) Diagrammes instantanés du TOFM calculés à partir des ondes lente et rapide présentées en (a).

plus importantes que celles mesurées par rapport à l’onde lente. La figure 5.11 illustre une de ces mesures.

5.2 Modèle viscoélastique

La présence, souvent constatée, de boucles d’hystérésis sur les diagrammes instantanés du paramètre TOFM ne peut être expliquée par le seul paramètre non linéaire quadratique β , ni par le paramètre non linéaire cubique δ du développement en série du module M (équation(2.30)), qui informent tous deux sur le comportement non linéaire élastique du matériau. De même, le signe négatif du paramètre β mesuré sur des échantillons trabéculaires nettoyés par le processus Supercritic[®] peut sembler contre-intuitif pour une analyse des paramètres TOFM ou RAM exclusivement en termes d’ouverture et de fermeture des microfissures. L’intégrité du collagène conduit assez naturellement à considérer, dans le développement du modèle élastique aux ordres supérieurs, les modules visqueux linéaires et non linéaires. Ainsi, la présence d’hystérésis, de valeurs de β négatives, ainsi que l’asymétrie observées sur de nombreux diagrammes instantanés (TOFM et RAM), pourraient être expliquées par un comportement viscoélastique non linéaire de l’os trabéculaire. En rhéologie, il existe de nombreux modèles permettant de décrire la viscoélasticité linéaire des matériaux. Parmi eux, le modèle de Kelvin-Voigt considère les comportements viscoélastiques linéaires les plus simples des gels et des solides.

Partant de cette approche rhéologique, un modèle analytique viscoélastique a été développé afin de procéder à l’identification de nouveaux paramètres exprimant les différents comportements non linéaires observés lors des mesures expérimentales sur le tissu osseux trabéculaire.

5.2.1 Approche analytique du comportement viscoélastique

L’expression du TOFM, développée dans le chapitre 2, est obtenue à partir des variations du module M :

5.2. MODÈLE VISCOÉLASTIQUE

$$TOFM = -\frac{L}{2\rho_0 c_0^3} \Delta M, \quad (5.18)$$

où l'on rappelle que $M = K + 4/3\mu$. Le module M prend en compte d'une part, les effets de volume (module de compression K) et d'autre part, les effets de cisaillements (module de cisaillement μ), mais n'exprime que le comportement élastique du matériau. En rhéologie, le modèle de Maxwell est utilisé pour modéliser le comportement viscoélastique linéaire des fluides (liquides). Il associe en série les contributions élastiques et visqueuses du liquide. Il est davantage appliqué à l'étude des liquides. Dans les solides, c'est le modèle de Kelvin-Voigt qui est plus couramment employé. Cette fois, les éléments élastique et visqueux sont placés en parallèle, exprimant une répartition des contraintes pour une même déformation globale, comme schématisé sur la figure 5.12 :

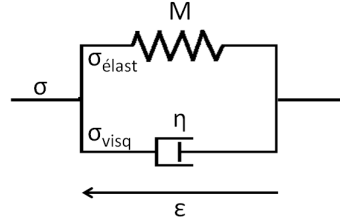


FIGURE 5.12 – Schématisation du modèle de Kelvin-Voigt. $\sigma_{élast}$ et σ_{visq} sont respectivement les contraintes élastique et visqueuse

η désigne la viscosité dynamique. Dans cette configuration, les déformations du ressort et de l'amortisseur sont équivalentes ($\epsilon_R = \epsilon_A$), tandis que la contrainte totale est égale à la somme des contraintes de l'amortisseur et du ressort. Dans le contexte d'une perturbation sinusoïdale, on peut écrire :

$$\begin{aligned} \sigma &= \sigma_{élastique} + \sigma_{visqueux} \\ &= M \epsilon + \eta \dot{\epsilon} \\ &= (M + j\omega\eta) \epsilon \end{aligned} \quad (5.19)$$

ou encore :

$$\sigma = M^* \epsilon, \quad (5.20)$$

avec M^* est le module viscoélastique.

Ici, une remarque importante doit être faite sur le développement en série du module M , considéré dans le cadre de la méthode DAET. En acoustique, une compression hydrostatique correspond à une suppression. Elle est donc associée à une pression positive, tandis qu'une dilation concerne une pression négative. Ainsi, au contraire de la convention établie en mécanique (où les tractions sont positives et les compressions négatives), la loi de Hooke s'écrit

5.2. MODÈLE VISCOÉLASTIQUE

$$\sigma = -M \epsilon. \quad (5.21)$$

En effet, dans le cas d'une compression, la déformation ϵ associée est négative ($V < V_0$), et inversement pour une dilatation. Et puisque le module M est défini de façon à être positif, ceci explique la nécessité du signe négatif dans l'équation (5.21).

D'autre part, dans la plupart des matériaux, l'application d'une compression hydrostatique provoque une rigidification du milieu (quand une dilatation hydrostatique l'assouplira). Pour que le module M augmente, sachant que la déformation ϵ est négative et que le paramètre β dans ces milieux est positif, la loi de Hooke non linéaire s'écrit :

$$\sigma = -M_0 (1 - \beta \epsilon + \delta \epsilon^2) \epsilon. \quad (5.22)$$

Le signe devant le paramètre non linéaire cubique δ est maintenu positif puisque le signe de la déformation n'a pas d'influence dans ce cas.

5.2.1.1 Développement au premier ordre des modules élastique et visqueux

Dans sa thèse, Guillaume Renaud [151] présente une approche de la viscoélasticité non linéaire basée sur le développement polynômial au premier ordre des modules d'élasticité et de viscosité. Le module élastique s'écrit alors :

$$M = M_0 (1 - \beta \epsilon). \quad (5.23)$$

Concernant le module de viscosité dynamique, deux développements peuvent être envisagés, selon que l'on considère η dépendant de l'amplitude de déformation ϵ (équation (5.24)) ou de l'amplitude de la vitesse de déformation $\dot{\epsilon}$ (équation (5.25)) :

$$\eta = \eta_0 (1 + \beta_\eta \epsilon) \quad (5.24)$$

$$\text{ou} \quad \eta = \eta_0 (1 + \beta_\eta \dot{\epsilon}) \quad (5.25)$$

En rhéologie, η_0 est appelé module visqueux de volume. Le paramètre β_η est le terme quadratique non linéaire de viscosité.

- Si $\eta = f(\epsilon)$, le module viscoélastique complexe M^* non linéaire s'écrit :

$$\begin{aligned} M + j\omega\eta &= M_0 (1 - \beta \epsilon) + j\omega\eta_0 (1 + \beta_\eta \epsilon) \\ &= M_0 + j\omega\eta_0 - \beta M_0 \epsilon + j\omega\eta_0 \beta_\eta \epsilon, \\ \text{d'où} \quad \Delta M^* &= M + j\omega\eta - (M_0 + j\omega\eta_0) \\ &= -M_0 \left(\beta - j\omega \frac{\eta_0 \beta_\eta}{M_0} \right) \epsilon, \end{aligned} \quad (5.26)$$

- Si $\eta = f(\dot{\epsilon})$, cette fois le module viscoélastique complexe M^* s'écrit :

$$\begin{aligned}
 M + j\omega\eta &= M_0 (1 - \beta \epsilon) + j\omega\eta_0 (1 + \beta_\eta \epsilon) \\
 &= M_0 + j\omega\eta_0 - \beta M_0 \epsilon + j\omega\eta_0 (j\omega\beta_\eta \epsilon) \\
 \Delta M^* &= -M_0 \left(\beta + \omega^2 \frac{\eta_0 \beta_\eta}{M_0} \right) \epsilon
 \end{aligned} \tag{5.27}$$

Dans les deux cas, la variation du module non linéaire M^* par rapport à sa valeur initiale est fonction des termes linéaire et non linéaire élastiques (respectivement M_0 et β) et des termes linéaire et non linéaire visqueux (respectivement η_0 et β_η), sans croiser les termes élastiques et visqueux. L'expression de la variation du module viscoélastique de l'équation (5.27) permet d'expliquer les valeurs positives de la pente du TOFM instantané (qui correspondent à des valeurs négatives du paramètre β dans nos mesures). En effet,

$$TOFM = -\frac{L}{2\rho c^3} \left(-M_0 \left(\beta + \omega^2 \frac{\eta_0 \beta_\eta}{M_0} \right) \epsilon \right). \tag{5.28}$$

Sachant que la déformation $\epsilon = -p_{BF}/M_0$, la pente du TOFM instantané s'écrit :

$$\frac{\partial TOFM}{\partial p_{BF}} = -\frac{L}{2\rho c^3} \left(\beta + \omega^2 \frac{\eta_0 \beta_\eta}{M_0} \right). \tag{5.29}$$

La valeur et le signe du paramètre non linéaire quadratique visqueux β_η , ainsi que la fréquence à laquelle est sollicité le matériau peuvent agir conjointement sur le signe de la pente du TOFM instantané. Cependant, ce développement ne permet pas de tenir compte d'un comportement hystérétique, au contraire de l'expression de ΔM^* de l'équation (5.26) comportant un terme imaginaire. Dans ce cas, la présence d'une partie imaginaire permet de modéliser un déphasage entre le paramètre TOFM et le signal d'excitation de l'onde basse-fréquence, se traduisant par une hystérésis sur les diagrammes instantanés. En revanche, le signe de la pente du TOFM instantané ne dépend que du signe du paramètre β .

5.2.1.2 Développement au premier ordre du module viscoélastique complexe

Une seconde approche consiste à développer aux ordres supérieurs (quadratique et cubique) un module viscoélastique complexe M_{visco}^* . En se limitant à l'ordre quadratique dans un premier temps, on a :

$$\begin{aligned}
 M_{visco}^* &= M_0^* (1 - \beta^* \epsilon) \\
 &= (M_0 + j\omega\eta_0)(1 - (\beta + j\omega\beta_\eta) \epsilon).
 \end{aligned} \tag{5.30}$$

Le développement de l'équation (5.30) conduit à une écriture des variations du module viscoélastique complexe de la forme :

$$\Delta M_{visco}^* = -M_0 \left(\beta - \omega^2 \frac{\eta_0 \beta_\eta}{M_0} + j\omega \left(\beta_\eta + \frac{\eta_0 \beta}{M_0} \right) \right) \epsilon. \tag{5.31}$$

5.2. MODÈLE VISCOÉLASTIQUE

Ce développement permet de modéliser à la fois un comportement hystérétique, ainsi que des valeurs négatives de la pente du TOFM instantané considérant la contribution visqueuse des modules viscoélastiques (linéaire et non linéaire). L'équilibre entre la partie réelle et la partie imaginaire de l'équation (5.31) traduit un déphasage de $\pi/4$ entre le TOFM et la pression basse-fréquence.

Le développement du module M_{visco}^* à l'ordre cubique (ϵ^2) fait intervenir les paramètres non-linéaires cubiques élastique et visqueux, respectivement δ et δ_η :

$$\begin{aligned} M_{visco}^* &= M_0^* (1 - \beta^* \epsilon + \delta^* \epsilon^2) \\ &= (M_0 + j\omega\eta_0) (1 - (\beta + j\omega\beta_\eta) \epsilon + (\delta + j\omega\delta_\eta) \epsilon^2). \end{aligned} \quad (5.32)$$

$$\begin{aligned} \Delta M_{visco}^* &= -M_0 \left(\beta - \omega^2 \frac{\eta_0 \beta_\eta}{M_0} + j\omega \left(\beta_\eta + \frac{\eta_0 \beta}{M_0} \right) \right) \epsilon \\ &\quad + M_0^2 \left(\delta - \omega^2 \frac{\eta_0 \delta_\eta}{M_0^2} + j\omega \left(\delta_\eta + \frac{\eta_0 \delta}{M_0^2} \right) \right) \epsilon^2 \end{aligned} \quad (5.33)$$

Le paramètre élastique cubique δ agit sur l'inflexion de la courbe du diagramme instantané.

5.2.2 Application du modèle pour les mesures DAET dans l'eau et l'os trabéculaire

L'application du modèle à des données expérimentales a été effectuée pour les cas de l'eau et du tissu osseux trabéculaire. L'exemple de l'eau utilisé correspond à une mesure pour laquelle une hystérésis était apparue. Le modèle analytique permet de retrouver les niveaux de non-linéarités mesurés et l'hystérésis est correctement approchée pour des valeurs de η_0 et de β_η respectivement de 10^{-3} Pa.s et -30^{-6} Pa.s².

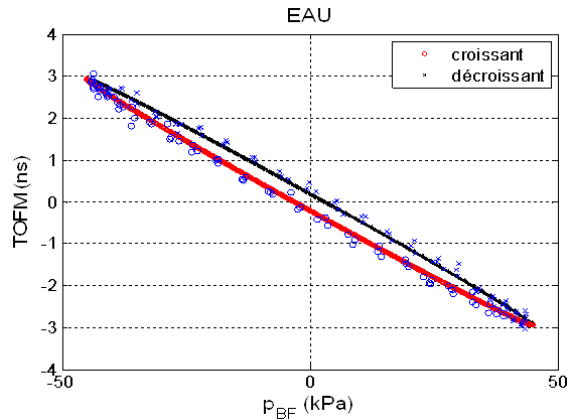


FIGURE 5.13 – Simulation du TOFM instantané dans l'eau et données mesurées expérimentalement (les croix et les ronds représentent les données expérimentales).

5.2. MODÈLE VISCOÉLASTIQUE

Ce léger hystérésis (inférieur à $5 \mu s$) observé entre le TOFM et la pression basse-fréquence dans l'eau peut s'expliquer dans le cas où la proportion d'air dissout n'est pas négligeable. Or, l'eau utilisée est déminéralisée par filtration, ce qui la rend fortement chargée en microbulles d'air.

Les valeurs expérimentales mesurées pour les échantillons 84D et 20G, lors de la première acquisition DAET avant essai mécanique ont été utilisées pour simuler les diagrammes instantanés du TOFM en fonction de la pression basse-fréquence (tableau de la figure 5.14). Les paramètres non linéaires β_η et $\delta\eta$ ont été ajustés de façon à simuler les courbes du TOFM instantané expérimentales.

Paramètres fixes	Eau	Os 20G	Os 84D
ρ (kg/m ³)	1000	1180	1200
c (m/s)	1484	1578	1573
$M_0 = \rho c^2$ (GPa)	2,20	2,94	2,97
η_0 (Pa.s)	10^{-3}	1	1
β	5,4	-6,0	-16,3
δ	0	10^5	10^5
β_η (Pa.s ²)	-30.10^{-6}	$-1,3.10^{-4}$	$-2,2.10^{-4}$
δ_η	0	11	30

FIGURE 5.14 – Valeurs des paramètres linéaires et non linéaires utilisés pour les simulations des variations instantanées du TOFM. Le paramètre β est issu des mesures expérimentales. Les valeurs de β_η et $\delta\eta$ sont ajustées.

Le paramètre TOFM est proportionnel aux variations du module M ($\Delta M = M - M_0$). Ainsi, les valeurs des paramètres linéaires M_0 et η_0 n'ont pas la même influence sur l'évolution du TOFM instantané que les paramètres non linéaires, davantage exprimés. Les figures 5.15 et 5.17 illustrent les simulations du TOFM instantané des échantillons 20G et 84D, ainsi que les mesures expérimentales correspondantes. Il apparaît que le modèle analytique permet d'approcher très correctement les comportements hystérétiques, ainsi que les inflexions des diagrammes du TOFM instantané mesuré. Seul l'offset des diagrammes n'est pas facilement simulé, notamment sur le TOFM instantané de l'échantillon 84D (figure 5.17). Les figures 5.16 et 5.18 présentent les signaux temporels du TOFM et de la pression basse-fréquence simulés correspondants respectivement aux mesures des échantillons 20G et 84D.

5.2.3 Perspectives

Le modèle analytique propose une réponse intéressante pour la modélisation des non-linéarités acoustiques viscoélastiques dans les matériaux non linéaires non classiques. La présence d'hystérésis et les valeurs négatives de la pente du TOFM instantané peuvent être simulées en faisant varier les paramètres non linéaires élastiques et visqueux. Cependant, en l'état actuel ce modèle ne permet pas de retrouver les offsets des diagrammes instantanés observés expérimentalement. En effet, le paramètre δ_η agit sur cet offset, mais apporte en même temps une contribution hystérétique trop importante qui nous éloigne de l'évolution des diagrammes instantanés souhaitée. Par ailleurs, une identification correcte de ces pa-

5.3. CONCLUSIONS

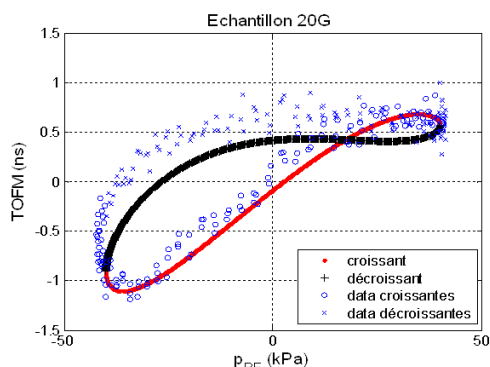


FIGURE 5.15 – Simulation analytique du TOFM instantané de l'échantillon 20G, d'après la mesure 1 avant essai mécanique, à la fréquence US HF de 800 kHz. En bleu, les données mesurées expérimentalement.

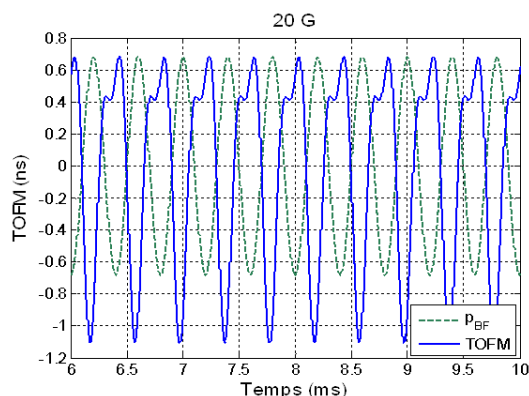


FIGURE 5.16 – Signaux temporels simulés correspondant à la figure 5.15.

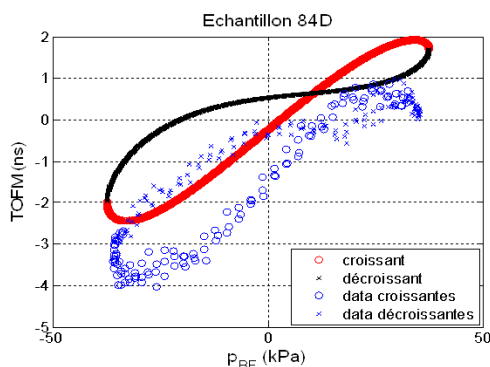


FIGURE 5.17 – Simulation analytique du TOFM instantané de l'échantillon 84D, d'après la mesure 1 avant essai mécanique, à la fréquence US HF de 700 kHz. En bleu, les données mesurées expérimentalement.

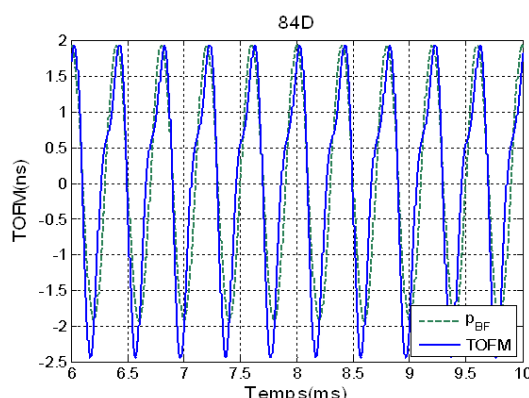


FIGURE 5.18 – Signaux temporels simulés correspondant à la figure 5.17.

ramètres nécessiterait une multiplication des expérimentations en faisant varier le couple pulsation ω - amplitude de pression basse-fréquence, permettant d'obtenir un ensemble d'essais "indépendants" pour optimiser cette simulation. Toutefois, l'approche rhéologique couplée à un développement non linéaire du module M apporte des éléments de réponse, pour le moment rudimentaires, mais qui semblent prometteurs.

5.3 Conclusions

Les deux modélisations proposées dans ce chapitre sont présentées à l'état de prémisses. Elles ont néanmoins apporté des éléments de réponse intéressants. Concernant le modèle pseudo-spectral, l'apparition d'une onde rapide, ainsi que l'influence des microfissures sur l'ordre de grandeur de la modulation du temps de vol ultrasonore corroborent nos résultats expérimentaux.

L'approche analytique basée sur le modèle viscoélastique de Kelvin-Voigt développé

5.3. CONCLUSIONS

aux ordres supérieurs a permis de retrouver deux des comportements du TOFM instantané régulièrement observés dans les échantillons d'os trabéculaire. Cette modélisation semble prometteuse et mérite d'être approfondie.

5.3. CONCLUSIONS

Conclusion

Une méthode d'acousto-élasticité dynamique mise en œuvre pour la détection du micro-endommagement dans le tissu osseux trabéculaire a été caractérisée et optimisée dans ce travail de thèse. Son application au tissu osseux trabéculaire humain et plus particulièrement au calcanéum a permis l'évaluation de la sensibilité et de la reproductibilité de cette méthode. Concernant l'endommagement natif, près d'un échantillon sur huit testés a présenté des non-linéarités fortes, caractérisées par la présence d'hystérésis et d'une asymétrie plus ou moins notable, selon les spécimens, entre les phases de dilatation et de compression basse-fréquence. Ces niveaux de non-linéarités ont été corrélés à une densité de micro-endommagement importante, mesurée lors d'une analyse histologique. Par ailleurs, des différences ont été constatées entre les réponses non linéaires des calcanéums cuits et des calcanéums dégraissés de manière à conserver les propriétés viscoélastiques du collagène. Notamment, les pentes du TOFM en fonction de la pression basse-fréquence sont inversées, signant une valeur négative du paramètre β dans le cas des échantillons dont le collagène a été préservé. D'autre part, les mesures effectuées sur deux zones de porosités différentes ont révélé des non-linéarités plus fortes, dans deux cas sur neuf, tandis que l'ensemble des mesures effectuées sur la zone de faible porosité a présenté des niveaux de non-linéarité acoustique quasi inexistantes.

Du point de vue de sa reproductibilité, la méthode souffre de la présence difficilement évitable dans une eau déminéralisée (la plus propre possible) de la présence de microbulles d'air au comportement fortement non linéaire. Par ailleurs, des phénomènes de conditionnement des échantillons à la sollicitation basse-fréquence ont été observés lors des mesures ultrasonores, conduisant à des évolutions des paramètres TOFM et RAM complexes et variables entre les mesures successives. Il n'est dans ce cas pas possible de mesurer les échantillons dans les mêmes conditions viscoélastiques. Concernant la reproductibilité de la mesure sur plusieurs jours, la mise en place de conditions de mesures identiques s'est révélée difficile, qu'il s'agisse du taux d'hydratation des échantillons ou du niveau de dégazage et de la température associée, pour lesquels la mesure DAET s'est révélée dépendante. Toutefois, lors de mesures sur des milieux très fortement non linéaires, comme les agents de contraste ultrasonores, la méthode s'est révélée particulièrement sensible aux forts niveaux de non-linéarité et a présenté une très bonne reproductibilité sur l'ensemble des mesures.

De nombreuses mesures ultrasonores ont mis en évidence l'existence d'une onde rapide qui se propage davantage dans le tissu osseux. Malheureusement, elle est la plupart du temps fortement atténuée, et de ce fait difficilement exploitable. Malgré tout, lorsque son rapport signal à bruit est bon, cette onde révèle des niveaux de non-linéarités acoustiques propres au tissu osseux supérieurs à ceux mesurés à partir de l'onde dite lente (qui se

5.3. CONCLUSIONS

propage dans l'eau et l'os). Néanmoins, cette information ne présente pas de réel intérêt dans la perspective d'une application *in vivo*, puisque l'onde rapide n'est pas facilement détectable dans ces conditions.

La quantification de la sensibilité de la méthode à un niveau de micro-endommagements induit (supérieur à celui observé à l'état natif) a présenté de meilleurs résultats. Quatre échantillons sur neuf ont présenté des différences significatives en termes de non-linéarités acoustiques, avant et après la réalisation d'essais de fatigue en compression. L'analyse histologique partielle de trois échantillons a corrélé la densité d'endommagements aux forts niveaux de non-linéarité mesurés. En outre, elle a également révélé la présence de macro-endommagements évoquant un flambage des travées en surface des échantillons, ainsi que des déchirures de travées, auxquels la mesure DAET s'est apparemment révélée sensible.

Enfin, des éléments d'analyse des non-linéarités acoustiques ont été apportés grâce à l'aide de deux modélisations. La simulation de la propagation ultrasonore a confirmé nos mesures expérimentales avec l'apparition d'une onde rapide après propagation dans le tissu osseux. De plus, l'ajout de microfissures orientées parallèlement et perpendiculairement à la direction de propagation ultrasonore dans le tissu trabéculaire, a montré une variation des temps de vol davantage significative sur l'onde rapide que sur l'onde lente.

D'autre part, la mise en oeuvre d'un modèle rhéologique analytique adapté à l'approche DAET (estimation des variations du module viscoélastique) a permis d'apporter une explication possible à la présence d'hystérésis sur l'évolution du TOFM en fonction de la pression basse-fréquence, ainsi qu'à la possibilité d'observer des valeurs de β négatives. De même, l'asymétrie du TOFM entre les phases de compression et de dilatation basse-fréquence s'est montrée en partie modélisable. Ces résultats encore préliminaires sont très prometteurs et illustrent une modélisation originale des non-linéarités acoustiques non classiques.

En conclusion, l'approche DAET a démontré une sensibilité au micro-endommagement du tissu osseux trabéculaire, malgré une reproductibilité moyenne, voire faible dans des milieux aussi atténuants. Néanmoins, les forts niveaux de non-linéarité acoustique mesurés ont été à chaque fois corrélés à une analyse histologique présentant des densités de microfissures importantes. Un seuil de non-linéarités significatives a été identifié pour une valeur absolue du paramètre β supérieur ou égal à 20. D'autre part, dans des milieux fortement non linéaires, comme les agents de contraste ultrasonores, la méthode a exhibé d'importantes non-linéarités acoustiques, particulièrement reproductibles. Dans tous les cas, les comportements non linéaires mesurés ont soulevé des difficultés d'interprétation, tant sur le signe du paramètre β que sur la présence de boucles hystérétiques. Plusieurs hypothèses ont été émises, parmi lesquelles ressortent essentiellement l'influence des propriétés viscoélastiques du collagène et la réponse particulière des microfissures aux sollicitations mécaniques de l'onde basse-fréquence. Les premiers résultats des deux modélisations développées ont apporté des éléments de réponse pour l'interprétation des non-linéarités acoustiques.

Dans la perspective d'une application *in vivo*, il est important de souligner que les difficultés de répétabilité liées à la présence de microbulles d'air ne seront pas rencontrées. De mêmes pour les conditions expérimentales de température ou d'hydratation qui ne varieront plus. En revanche, les phénomènes de conditionnement du tissu osseux ne seront probablement pas éliminés. Concernant la mise en oeuvre de la méthode, la question du choix de l'onde "pompe" se pose : doit-on conserver une sollicitation de type onde plane

5.3. CONCLUSIONS

ou privilégier la réponse d'un impact sur le pied. Ce dernier permettrait probablement d'atteindre des niveaux de déformation plus importants sans pour autant aggraver une éventuelle fragilité osseuse latente.

5.3. CONCLUSIONS

Annexes

Mesures DAET du chapitre 4

ECHANTILLON 84D

84D US HF = 700 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

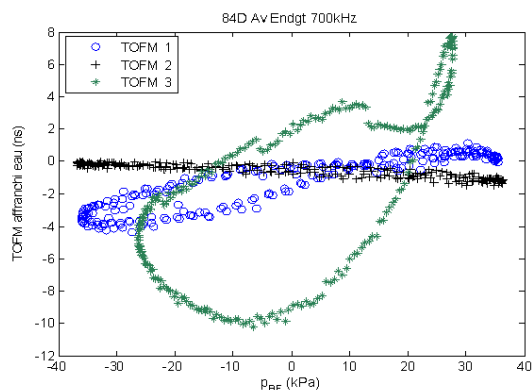


FIGURE 5.19 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 84D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

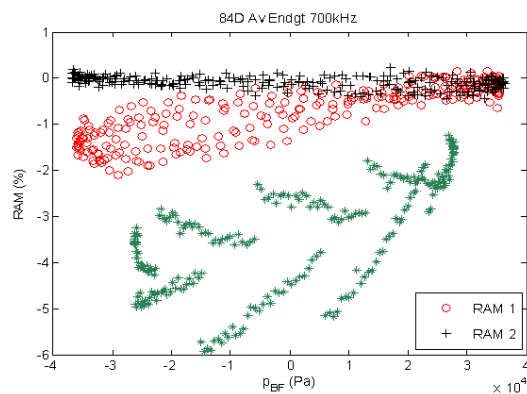


FIGURE 5.20 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 84D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

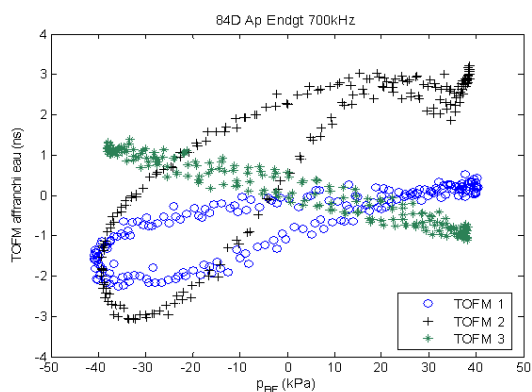


FIGURE 5.21 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 84D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

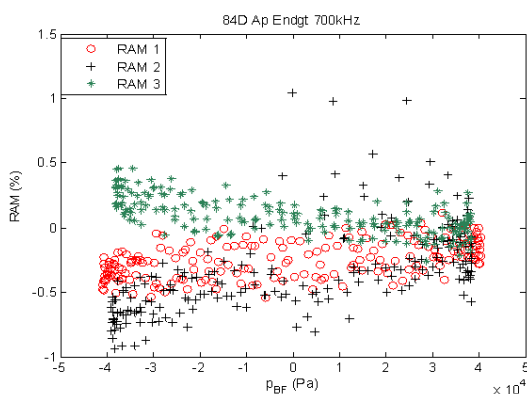


FIGURE 5.22 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 84D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

84D US BF = 400 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

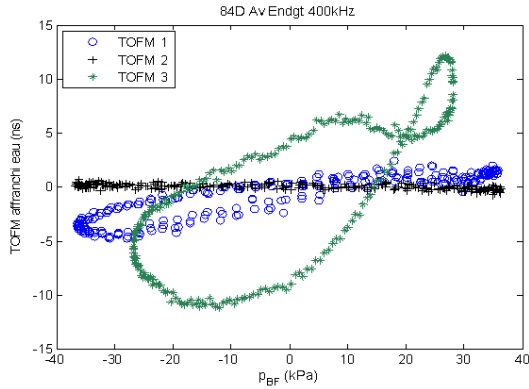


FIGURE 5.23 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 84D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 400 kHz.

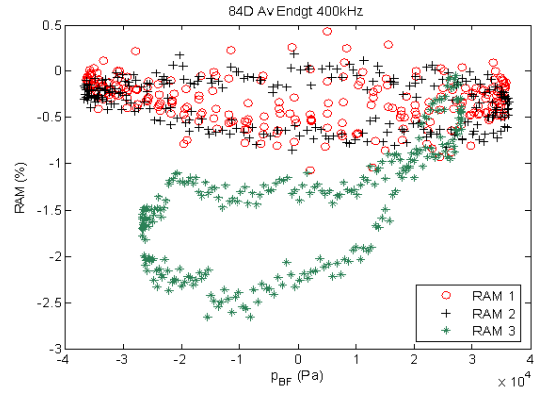


FIGURE 5.24 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 84D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 400 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

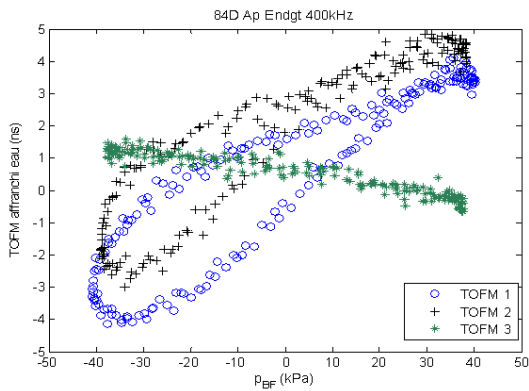


FIGURE 5.25 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 84D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 400 kHz.

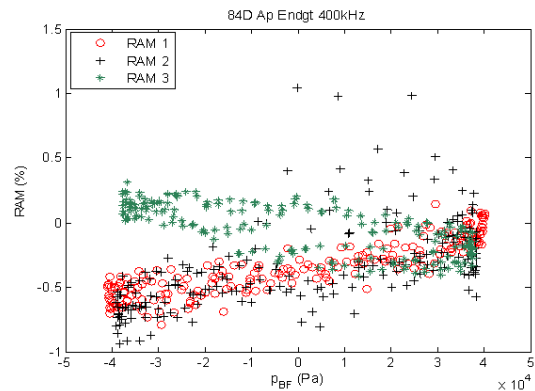


FIGURE 5.26 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 84D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 400 kHz.

ECHANTILLON 84G

84G US HF = 800 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

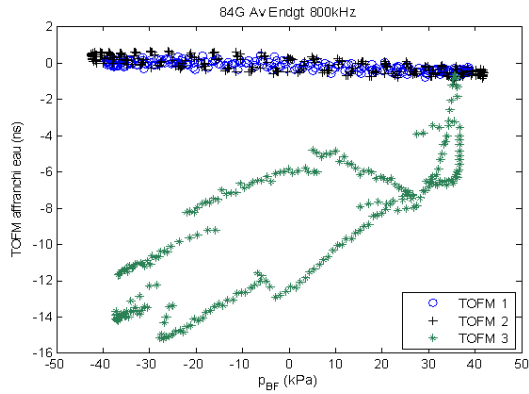


FIGURE 5.27 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 84G, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

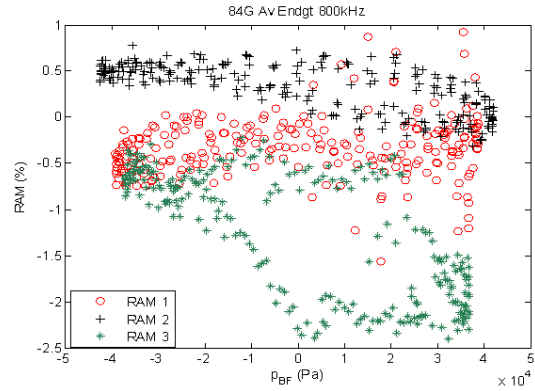


FIGURE 5.28 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 84G, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

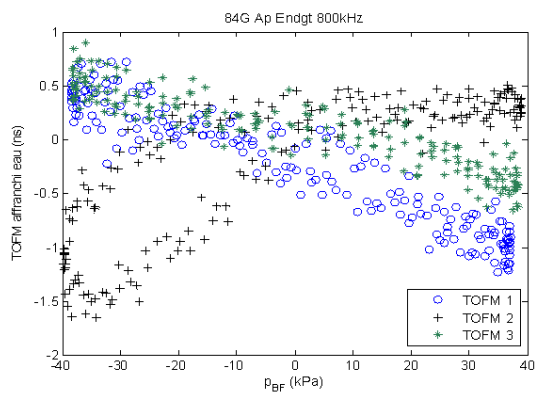


FIGURE 5.29 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 84G, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

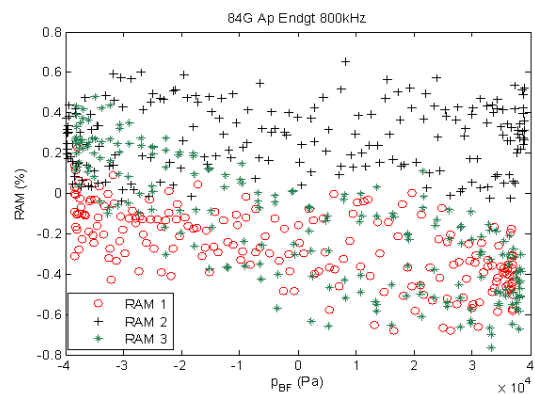


FIGURE 5.30 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 84G, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

84G US BF = 400 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

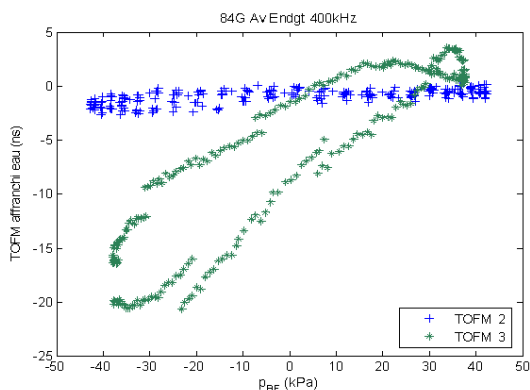


FIGURE 5.31 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 84G, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 400 kHz.

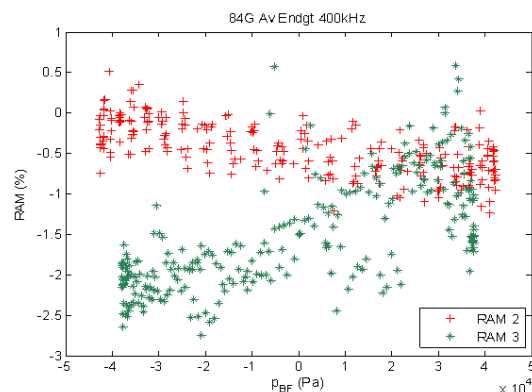


FIGURE 5.32 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 84G, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 400 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

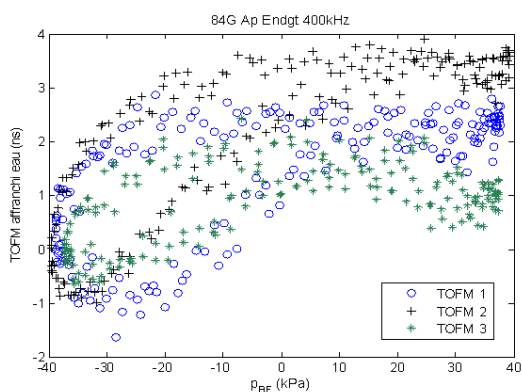


FIGURE 5.33 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 84G, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 400 kHz.

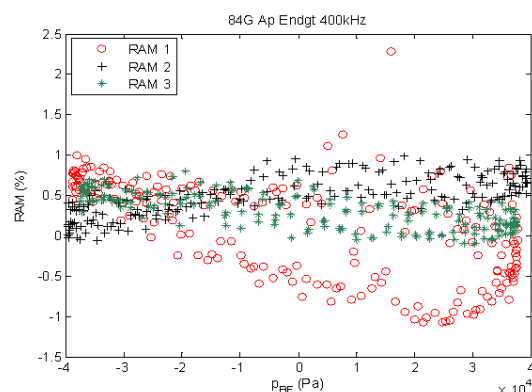


FIGURE 5.34 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 84G, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 400 kHz.

ECHANTILLON 20G

20G US HF = 800 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

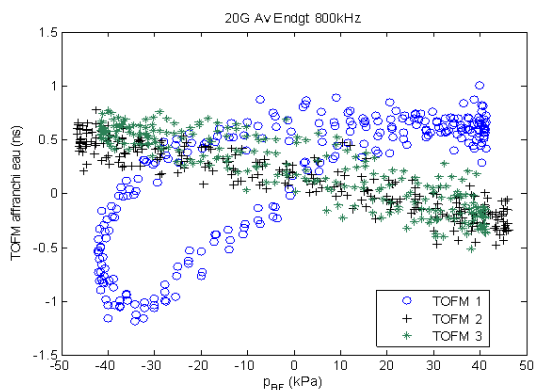


FIGURE 5.35 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 20G, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

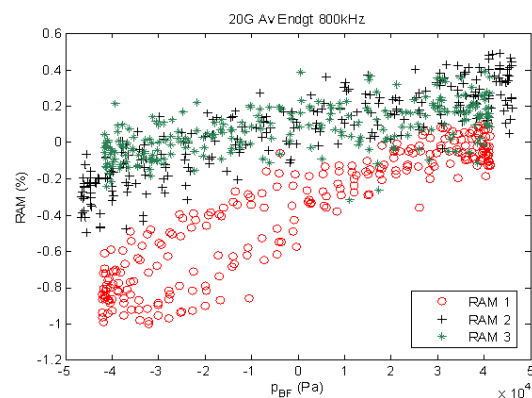


FIGURE 5.36 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 20G, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

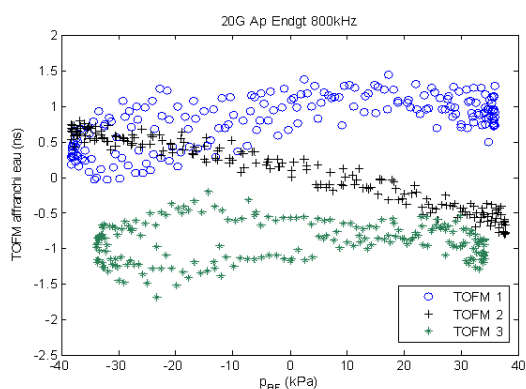


FIGURE 5.37 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 20G, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

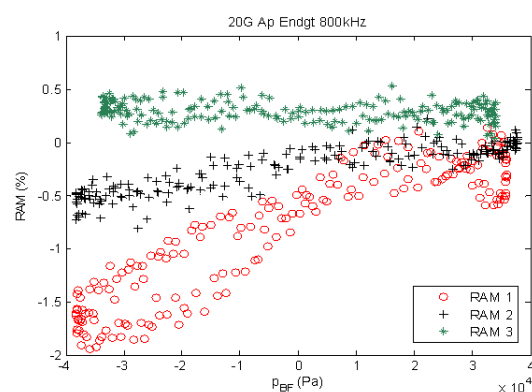


FIGURE 5.38 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 20G, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

20G US BF = 500 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

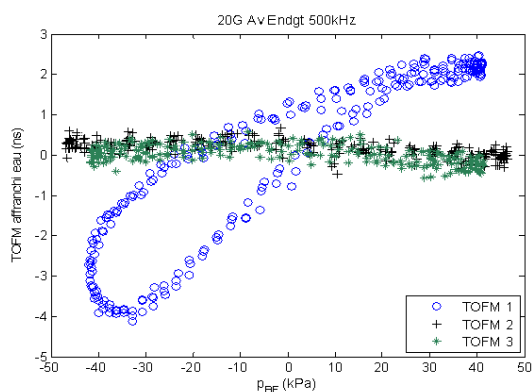


FIGURE 5.39 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 20G, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 500 kHz.

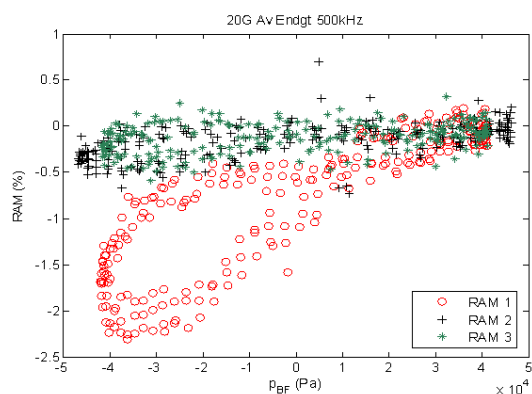


FIGURE 5.40 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 20G, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 500 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

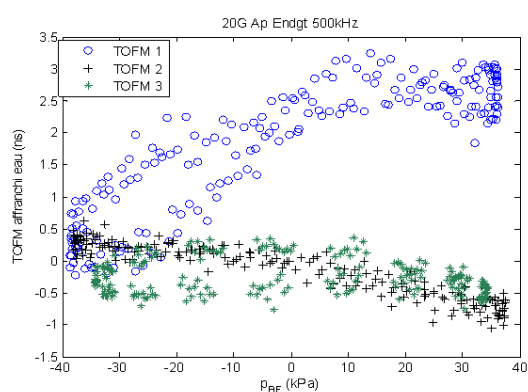


FIGURE 5.41 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 20G, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 500 kHz.

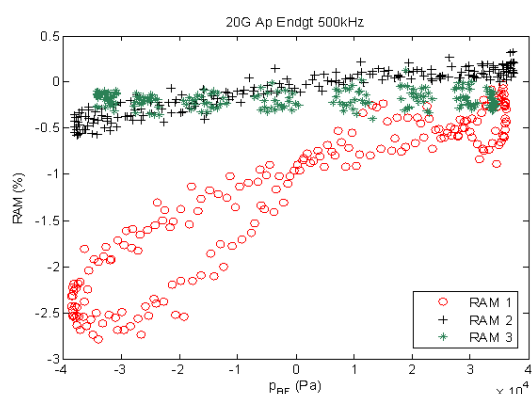


FIGURE 5.42 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 20G, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 500 kHz.

ECHANTILLON 61D

61D US HF = 600 et 500 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

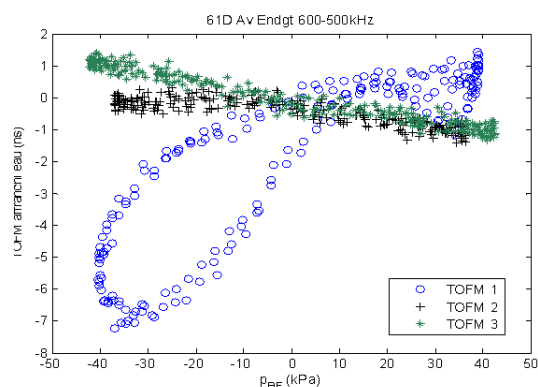


FIGURE 5.43 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 61D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 600 et 500 kHz.

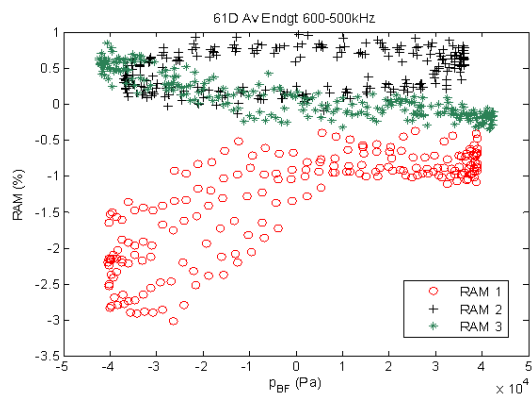


FIGURE 5.44 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 61D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 600 et 500 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

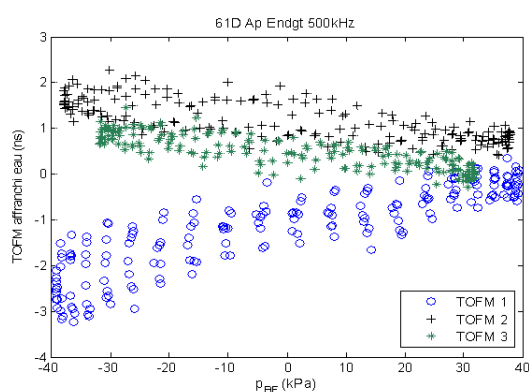


FIGURE 5.45 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 61D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 500 kHz.

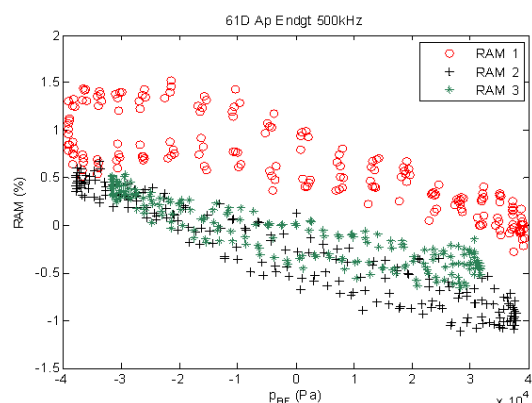


FIGURE 5.46 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 61D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 500 kHz.

61D US BF = 300 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

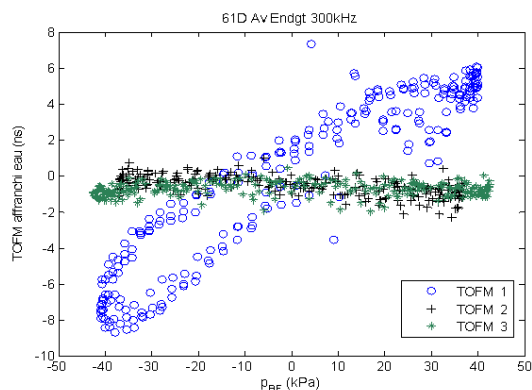


FIGURE 5.47 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 61D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 300 kHz.

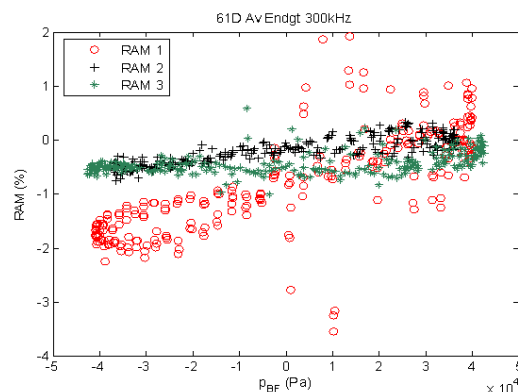


FIGURE 5.48 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 61D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 300 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

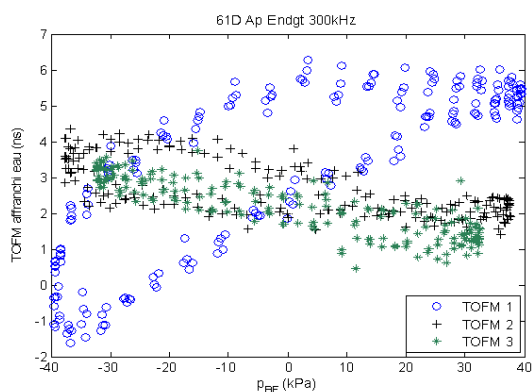


FIGURE 5.49 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 61D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 300 kHz.

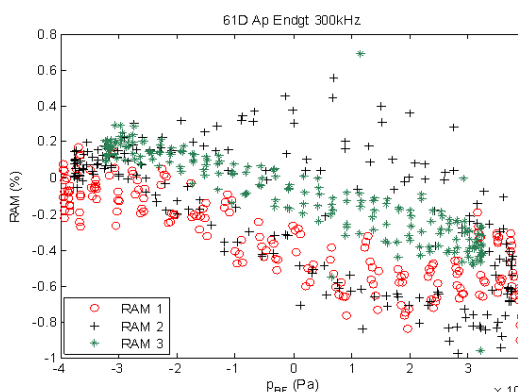


FIGURE 5.50 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 61D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 300 kHz.

ECHANTILLON 61G

61G US HF = 800 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

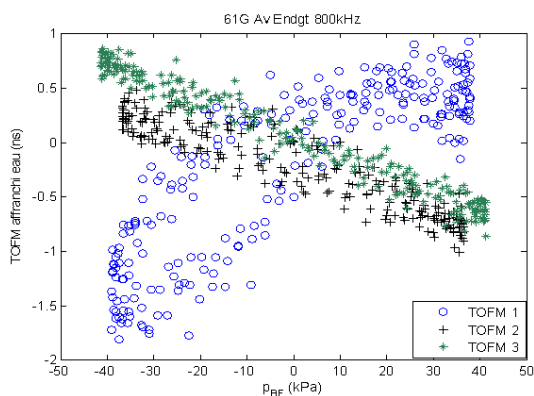


FIGURE 5.51 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 61G, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

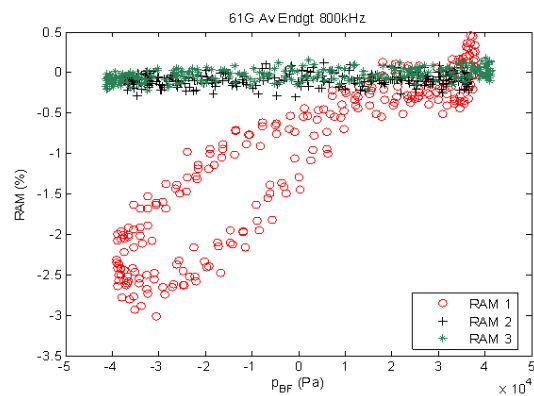


FIGURE 5.52 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 61G, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

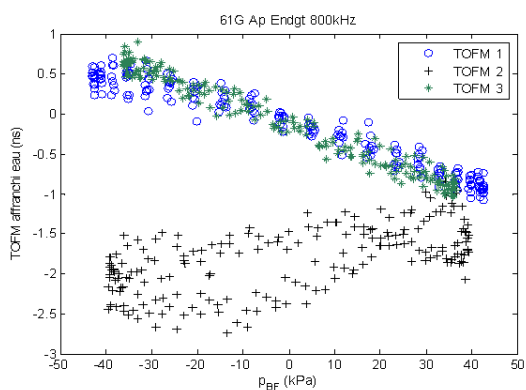


FIGURE 5.53 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 61G, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

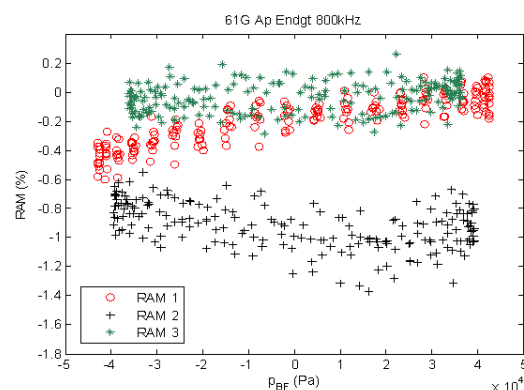


FIGURE 5.54 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 61G, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 800 kHz.

ECHANTILLON 60D

60D US HF = 700 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

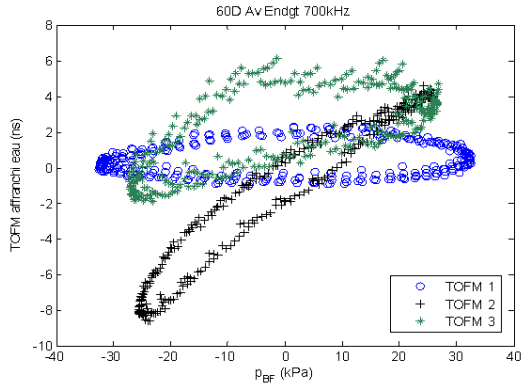


FIGURE 5.55 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 60D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

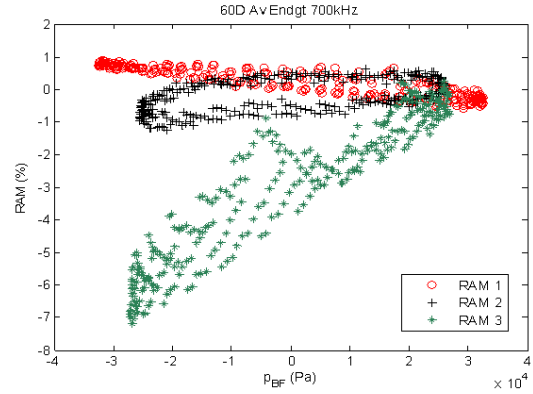


FIGURE 5.56 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 60D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

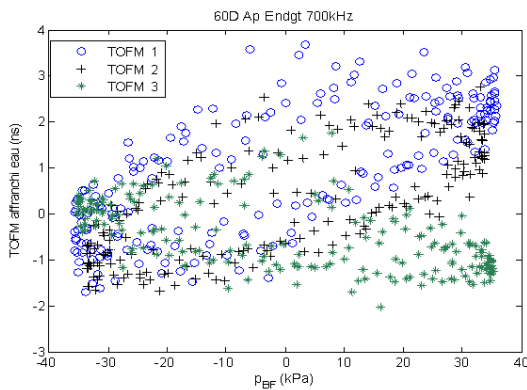


FIGURE 5.57 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 60D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

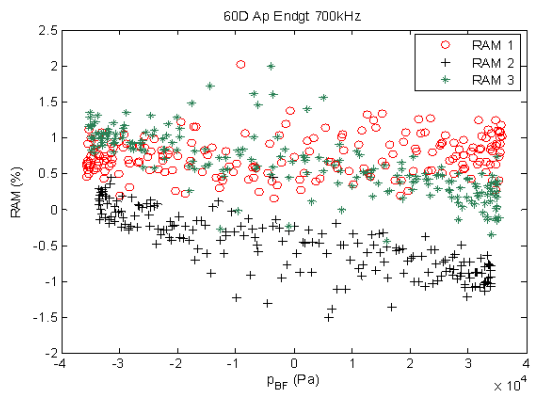


FIGURE 5.58 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 60D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

ECHANTILLON 91D

91D US HF = 600 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

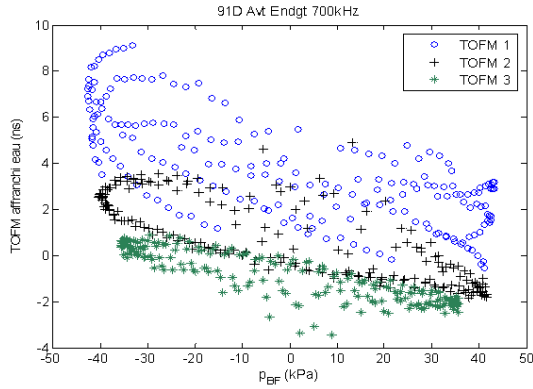


FIGURE 5.59 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 91D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 600 kHz.

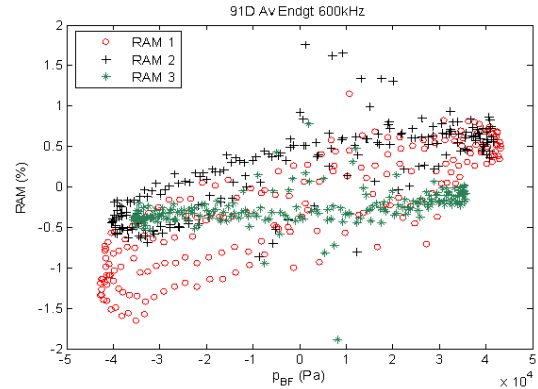


FIGURE 5.60 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 91D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 600 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

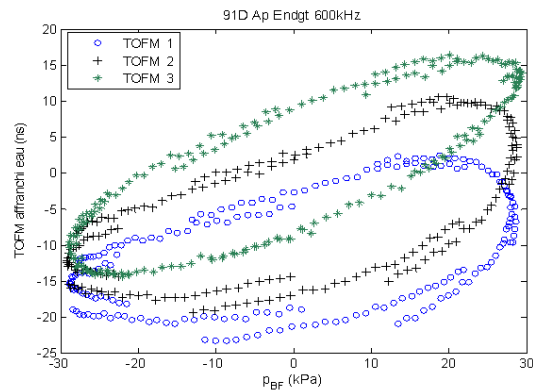


FIGURE 5.61 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 91D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 600 kHz.

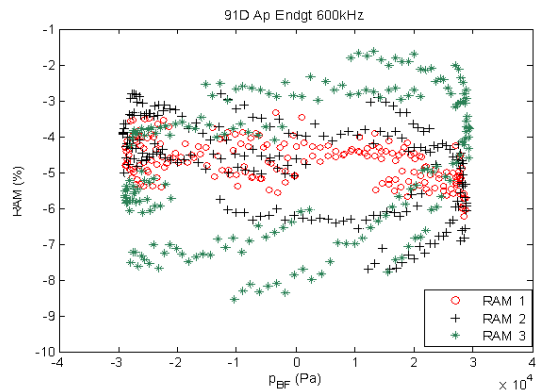


FIGURE 5.62 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 91D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 600 kHz.

91D US $B_F = 300$ kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

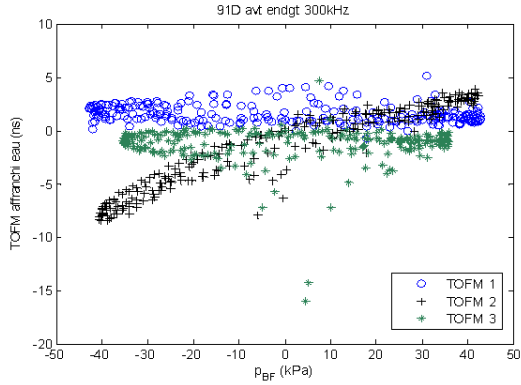


FIGURE 5.63 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 91D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 300 kHz.

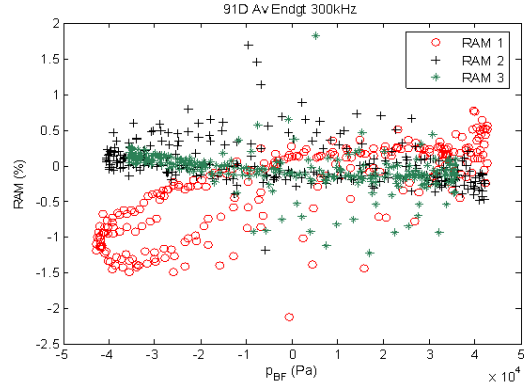


FIGURE 5.64 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 91D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 300 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

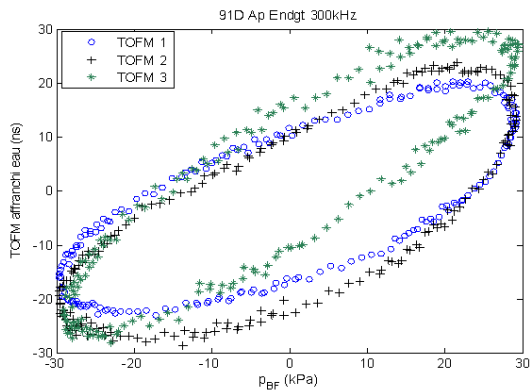


FIGURE 5.65 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 91D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 300 kHz.

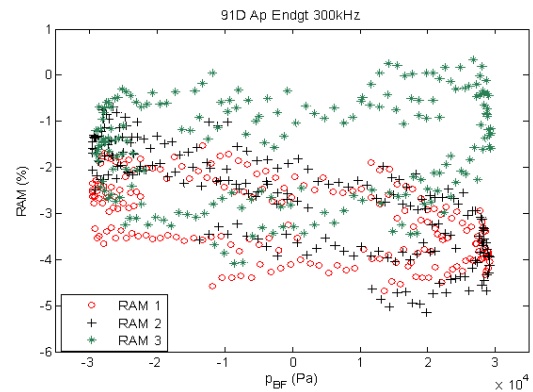


FIGURE 5.66 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 91D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 300 kHz.

ECHANTILLON 116D

116D US HF = 700 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

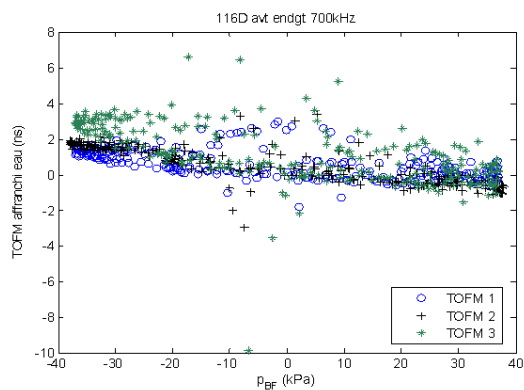


FIGURE 5.67 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 116D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

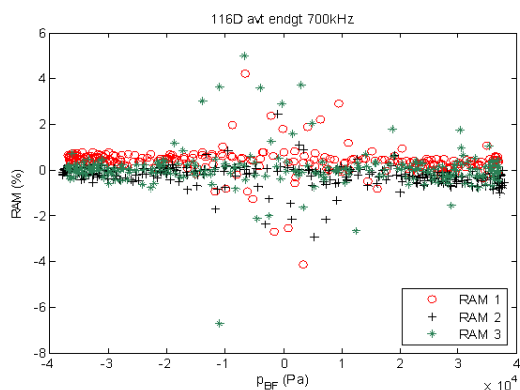


FIGURE 5.68 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 116D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

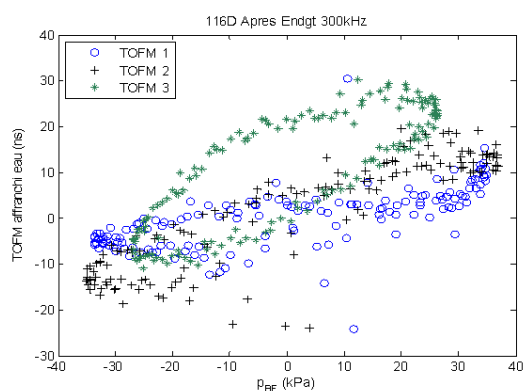


FIGURE 5.69 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 116D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

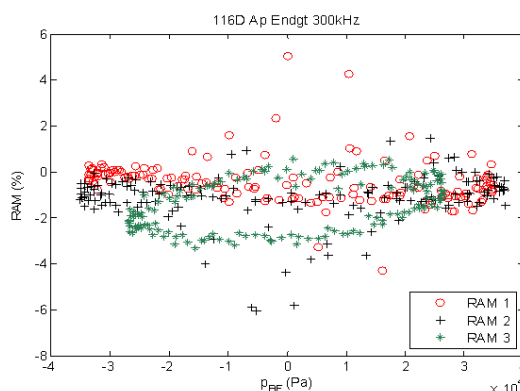


FIGURE 5.70 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 116D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

ECHANTILLON 36D

36D US HF = 700 kHz

AVANT ESSAI MECANIQUE

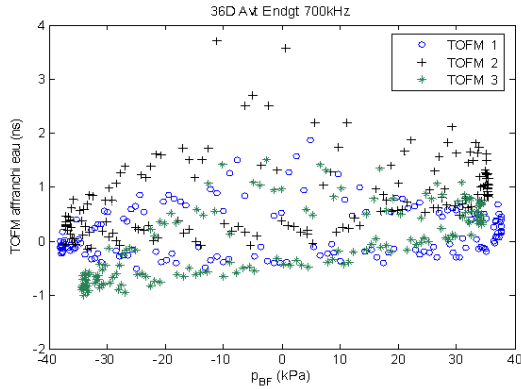


FIGURE 5.71 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 36D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

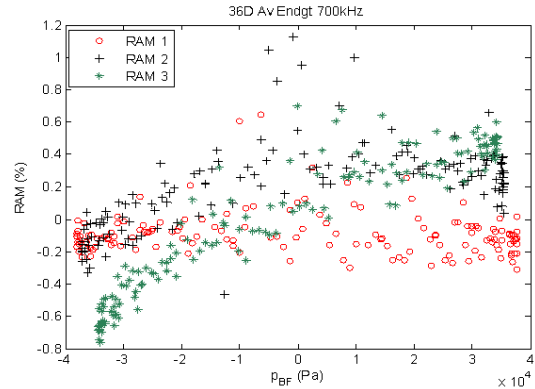


FIGURE 5.72 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 36D, avant l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

APRES ESSAI MECANIQUE

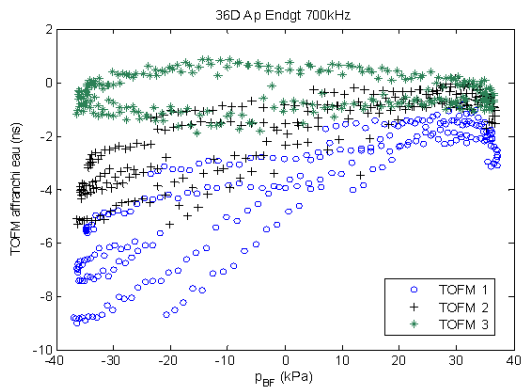


FIGURE 5.73 – Comparaison des TOFM instantanés mesurés sur l'échantillon 36D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

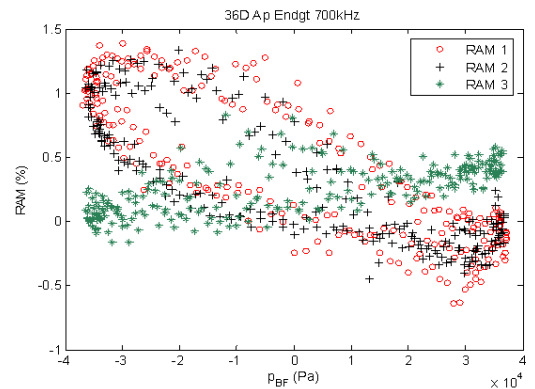


FIGURE 5.74 – Comparaison des RAM instantanées mesurées sur l'échantillon 36D, après l'essai de fatigue en compression, à une fréquence US de 700 kHz.

Essais de fatigue par compression du chapitre 4

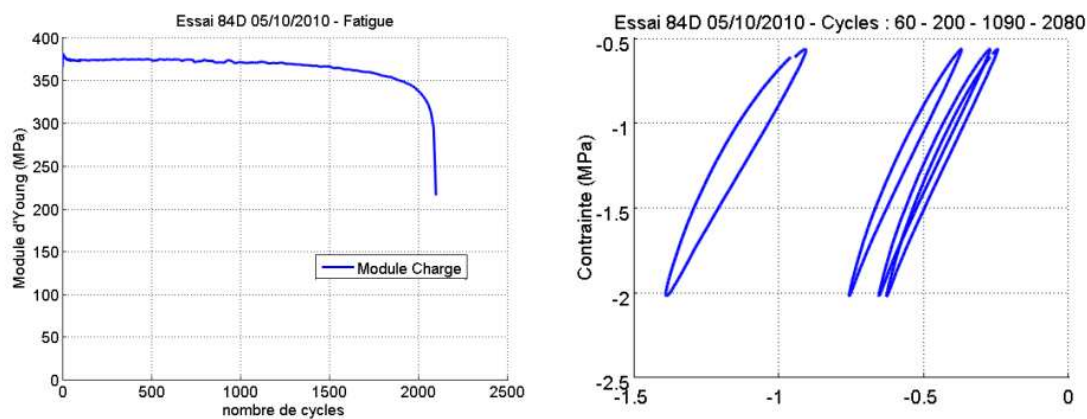


FIGURE 5.75 – Evolution du module d'Young de l'échantillon 84D au cours de l'essai de fatigue en compression et courbes de contrainte-déformation.

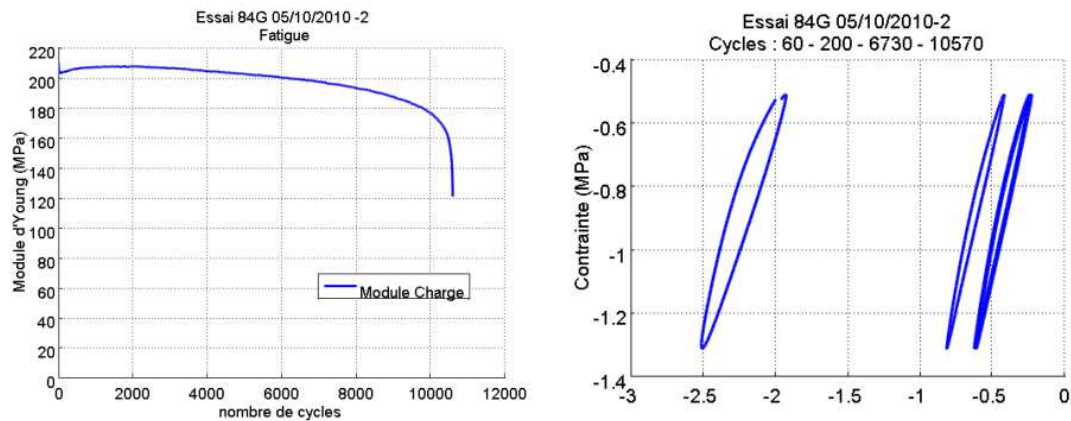


FIGURE 5.76 – Evolution du module d'Young de l'échantillon 84G au cours de l'essai de fatigue en compression et courbes de contrainte-déformation.

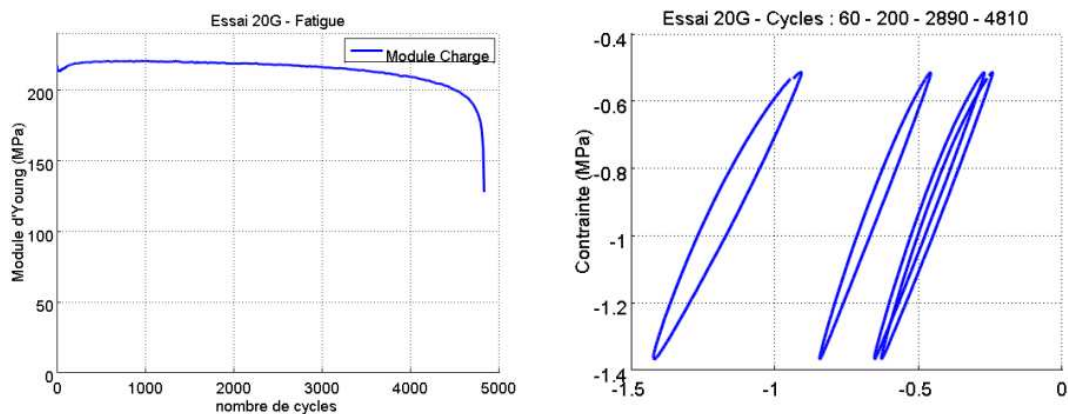


FIGURE 5.77 – Evolution du module d'Young de l'échantillon 20G au cours de l'essai de fatigue en compression et courbes de contrainte-déformation.

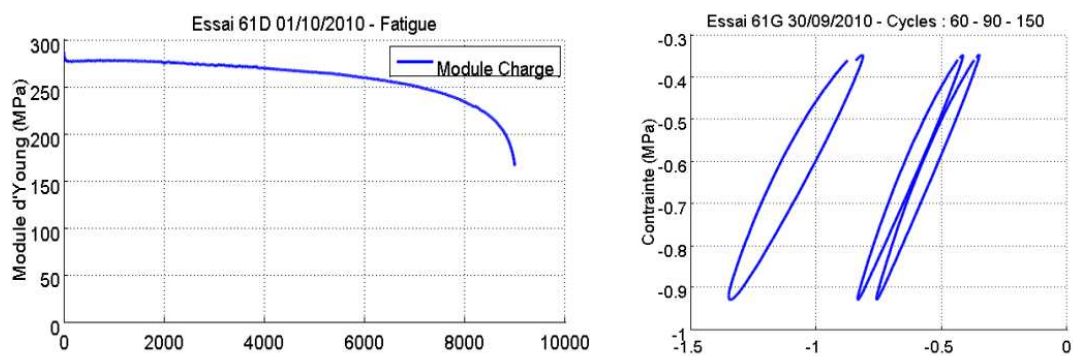


FIGURE 5.78 – Evolution du module d'Young de l'échantillon 61D au cours de l'essai de fatigue en compression et courbes de contrainte-déformation.

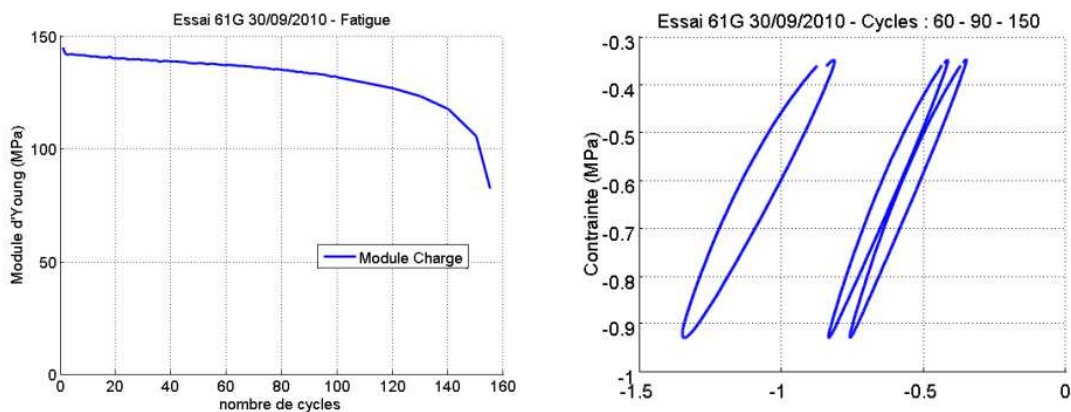


FIGURE 5.79 – Evolution du module d'Young de l'échantillon 61G au cours de l'essai de fatigue en compression et courbes de contrainte-déformation.

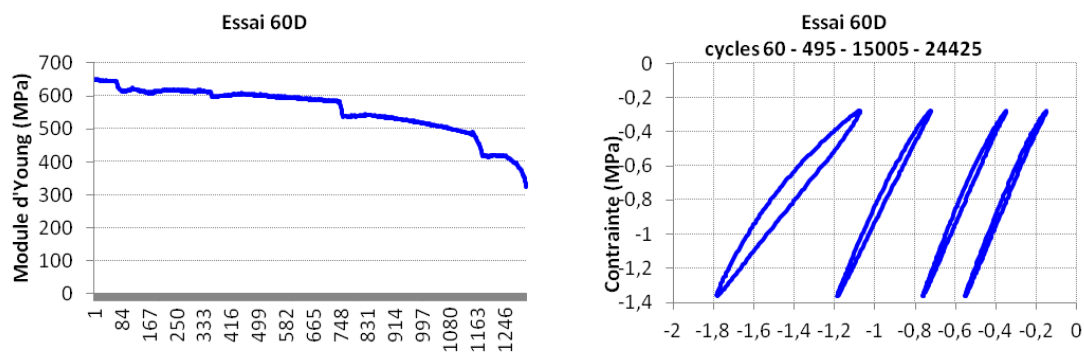


FIGURE 5.80 – Evolution du module d'Young de l'échantillon 60D au cours de l'essai de fatigue en compression et courbes de contrainte-déformation.

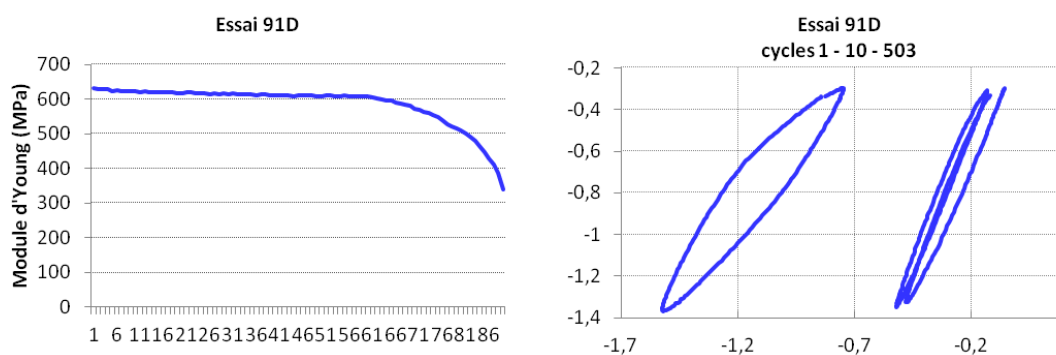


FIGURE 5.81 – Evolution du module d'Young de l'échantillon 91D au cours de l'essai de fatigue en compression et courbes de contrainte-déformation.

Publications

Monitoring trabecular bone microdamage using a dynamic acousto-elastic testing method

H Moreschi^{1*}, S Callé¹, S Guerard², D Mitton³, G Renaud¹, and M Defontaine¹

¹Université F. Rabelais, Unité 'Imagerie et Cerveau', UMRS/CNRS, Tours, France

²Arts et Metiers ParisTech, CNRS/LBM, Paris, France

³Université Lyon 1, INRETS/LBMC, Lyon, France

The manuscript was received on 17 April 2010 and was accepted after revision for publication on 4 August 2010.

DOI: 10.1243/09544119JEIM846

Abstract: Dynamic acousto-elastic testing (DAET) is based on the coupling of a low-frequency (LF) acoustic wave and high-frequency ultrasound (US) pulses (probing wave). It was developed to measure US viscoelastic and dissipative non-linearity in trabecular bone. It is well known that this complex biphasic medium contains microdamage, even when tissues are healthy. The purpose of the present study was to assess the sensitivity of DAET to monitor microdamage in human calcanei. Three protocols were therefore performed to investigate the regional heterogeneity of the calcaneus, the correlation between DAET measurements and microdamage revealed by histology, and DAET sensitivity to mechanically induced fatigue microdamage. The non-linear elastic parameter β was computed for all these protocols. The study demonstrated the presence of high viscoelastic and dissipative non-linearity only in the region of the calcaneus close to the anterior talocalcaneal articulation (region of high bone density). Protocols 1 and 2 also showed that most unsorted calcanei did not naturally exhibit high non-linearity, which is correlated with a low level of microcracks. Nevertheless, when microdamage was actually present, high levels of US non-linearity were always found, with characteristic non-linear signatures such as hysteresis and tension/compression asymmetry. Finally, protocol 3 demonstrated the high sensitivity of DAET measurement to fatigue-induced microdamage.

Keywords: trabecular bone, microdamage, acousto-elasticity, acoustic non-linearity, viscoelasticity

1 INTRODUCTION

Determination of bone strength is a wide and highly complex research domain. It is now clearly understood that bone mineral density (BMD) is not the only factor that may help to predict risk of fracture [1]; among other things, microdamage is suspected of being a significant determinant of bone strength. Microdamage may also have a significant role in the ability of the bone to repair damaged regions [2, 3]. However, a pathologic imbalance between remodelling and accumulation of microdamage may directly

impact on the mechanical properties of the bone [4]. In particular, it has not been clearly established whether accumulation of microdamage is a cause or a consequence of the bone remodelling process [5].

Non-invasive clinical characterization of bone strength is currently obtained by dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) measurements and peripheral quantitative computed tomography (pQCT). Both techniques provide essential information on BMD, although pQCT provides greater space resolution and thus preliminary display of bone micro-architecture. Another approach, namely quantitative ultrasound (QUS), is increasingly being used for the evaluation of bone diseases [6]. Linear QUS techniques have shown their ability to monitor bone changes (microgravity, bed rest) and to detect populations at risk of fracture [7]. However, the ultrasound (US)

*Corresponding author: Université F. Rabelais, Unité «Imagerie et Cerveau», équipe 5, UMRS INSERM U930/CNRS ERL 3106, 37032 Tours, France.
email: helene.moreschi@etu.univ-tours.fr

velocity and attenuation (BUA, broadband ultrasound attenuation) measured by these methods are not directly sensitive to the level of bone damage.

The dynamic acousto-elastic testing (DAET) method [8], based on the interaction of two acoustic waves, was recently developed to assess the level of microdamage in trabecular bone samples. In this method, a low-frequency (LF) wave acts as a tension/compression quasi-hydrostatic pressure, and high-frequency US pulses are used as a probe wave to measure the non-linear (NL) viscoelastic and dissipative properties in bone samples.

In the study reported herein, all measurements were made on human calcanei. Although this bone site is not a specific site for osteoporotic fracture, several studies involving QUS measurements have reported that it provides a good indication of fracture risk as well as spine and femur BMD [7, 9, 10].

DAET sensitivity for quantifying bone damage was assessed by three different experimental studies. In view of the heterogeneity of the calcaneus (complex three-dimensional network of trabeculae with several main orientations), DAET measurements were performed in two regions with significant differences in porosity. These two regions were analysed using confocal laser scanning microscopy to correlate the non-linearity measured with the level of microdamage. For the second study, a group of seven parallelepipedic samples were extracted from seven calcanei originating from human donors (principal direction of trabeculae aligned with the physiological loading axis). DAET measurements were performed on each sample before staining for observation by confocal laser scanning microscopy. The third protocol aimed to assess the level of microdamage induced by uniaxial compression fatigue testing. Each sample was measured with the DAET method before and after mechanical testing to follow possible extension of microdamage.

The aim of the present study was thus to assess DAET sensitivity for the measurement of levels of microdamage in trabecular bone tissue, by evaluating the relationship between the classical NL elastic parameter β and the level of microdamage.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Specimen preparation

Eighteen cancellous bone specimens (from human donors) were divided into three groups, corresponding to the three protocols. Eight whole calcanei were

studied in the first protocol. Ten others were cut into parallelepipedic samples: seven were used in the second protocol and three were used in compression fatigue testing.

All calcanei were cleaned of soft tissue and marrow, and defatted using the Supercrit® technique (BioBank, Paris, France) which eliminates fats while protecting the organo-mineral structure of bone tissue (supercritical CO₂ delipidation) and its mechanical properties [11]. This cleaning process enables specimens to be kept at room temperature. The Supercrit method of removing the fat from calcanei requires cutting of both lateral cortical faces into planes parallel to the sagittal plane.

One further calcaneus used in the first protocol was depleted of marrow by immersion in hot water and then in trichloroethylene. However, the latter cleaning process causes damage to the collagen of the bone tissue.

2.2 Dynamic acousto-elastic testing

An experimental technique, similar to the method proposed by Ichida et al. [12] and named DAET [8, 13, 14], was developed to measure viscoelastic and dissipative acoustic non-linearity both non-invasively and regionally.

The DAET experimental configuration (Fig. 1) was based on the interaction of two acoustic waves propagating in perpendicular directions: an LF sinusoidal acoustic wave (long burst of approximately 100 periods) and US pulses with a central frequency of 0.1–1 MHz. The trabecular bone sample was placed in the interaction region of the two acoustic beams. The LF acoustic wave selected was between 1 and 5 kHz (typically 2.8 kHz) so that the corresponding wavelength in water was approximately ten times greater than the US path, according to the assumption of a quasi-static pressure. Furthermore, the US pulses were emitted with a repetition rate approximately ten times higher than the LF wave frequency (typically 20 to 40 kHz). The US pulses therefore probed the medium at different states of the quasi-hydrostatic pressure: successive tension (expansion) and compression phases. Two long time-domain signals (80–100 ms) were recorded, i.e. the LF pressure (using an LF hydrophone) and the US pulses. Time-of-flight modulation (TOFM) and relative amplitude modulation (RAM) of US pulses induced by the LF acoustic wave were calculated. TOFM and RAM are associated with viscoelastic and dissipative non-linearity, respectively [13].

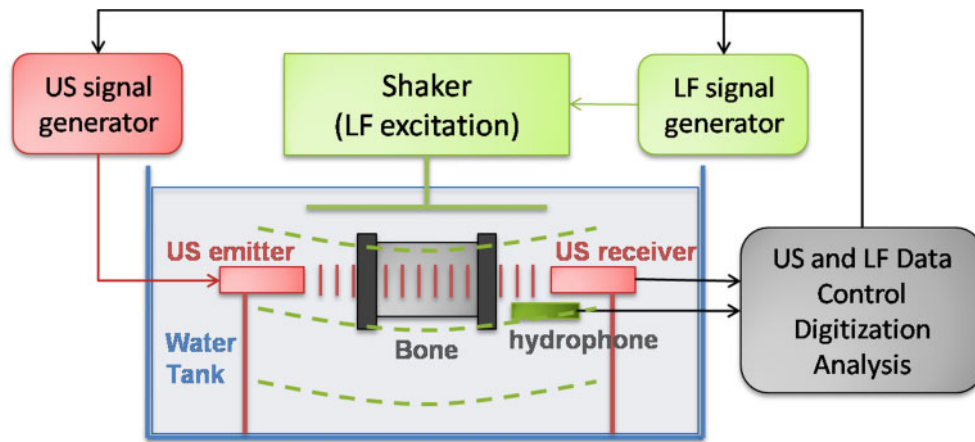


Fig. 1 DAET experimental configuration

The different steps of the data analysis process are illustrated in Fig. 2. Each US pulse–echo was compared in phase (ΔTOF) and in amplitude with the first referenced pulse (no LF stressed) as presented in Fig. 2(a), leading to the construction of the TOFM and RAM time-domain functions. As expected, in water, TOFM and LF pressure have opposite phases (Fig. 2(b)).

2.2.1 Viscoelastic non-linearity

TOFM was obtained from the time position of the maximum of the cross-correlation between the first US pulse signal propagated through the steady medium (no LF stress) and the following pulses (with LF stress). It can be easily established that TOFM (nanoseconds) is proportional to the variations in the viscoelastic modulus K [13, 14]

$$\begin{aligned} \text{TOFM}_{\text{sample}} &= \text{TOF}(i) - \text{TOF}(\text{ref}) \\ &= -\frac{L_{\text{sample}}}{2\rho_{\text{sample}}c_{\text{sample}}^3} \Delta K_{\text{sample}} \end{aligned} \quad (1)$$

where L_{sample} is the US propagation distance in the sample length, ρ_{sample} and c_{sample} are the medium density and US velocity in standard conditions (ambient pressure, 20°C), and ΔK represents the small variations in the elastic modulus.

In a first approximation, the second-order development of Hooke's law was considered

$$\sigma = K\varepsilon = K_0(1 + \beta\varepsilon)\varepsilon \quad (2)$$

This allowed defining the quadratic NL elastic parameter β , where σ and ε are the stress and strain, respectively. The parameter β provides a first quantification of the elastic non-linearity.

2.2.2 Dissipative non-linearity

RAM (%) is the normalized difference in amplitude (Ampli) between the current US pulse and the first reference pulse

$$\text{RAM} = \frac{\text{Ampli}(i) - \text{Ampli}(\text{ref})}{\text{Ampli}(\text{ref})} \times 100 \quad (3)$$

Instantaneous TOFM and RAM were plotted as a function of the instantaneous LF acoustic pressure (dynamic acousto-elastic diagrams). Figure 3 illustrates such diagrams obtained in water: TOFM was close to -2 ns at 50 kPa; there was no RAM (noise level).

The quadratic NL elastic parameter β was calculated from the linear regression of TOFM in relation to the LF pressure curve as

$$\beta = -\frac{2\rho_{\text{sample}}c_{\text{sample}}^3}{L_{\text{sample}}} \frac{\Delta\text{TOFM}}{\Delta p_{\text{LF}}} \quad (4)$$

A positive value of β corresponds to a negative slope of the TOFM curve (equation (4)). $\beta = 5.6 \pm 0.1$ was measured for water at 21°C (straight line in TOFM plot in Fig. 3(a)), close to the value reported in the literature ($\beta = 5$).

In the case of a DAET measurement performed in a bone sample, any non-linearity due to water was subtracted from the measurement of TOFM. However, trabecular bone samples are complex biphasic (water and solid bone tissue) media, whose porosity is not easily defined. In consequence, the calculated value of β corresponds to the β value of an overall or effective medium (waterlogged sample).

The linear parameters BUA and c_{sample} were also calculated for each measurement. These two parameters are partly related to the density of the medium:

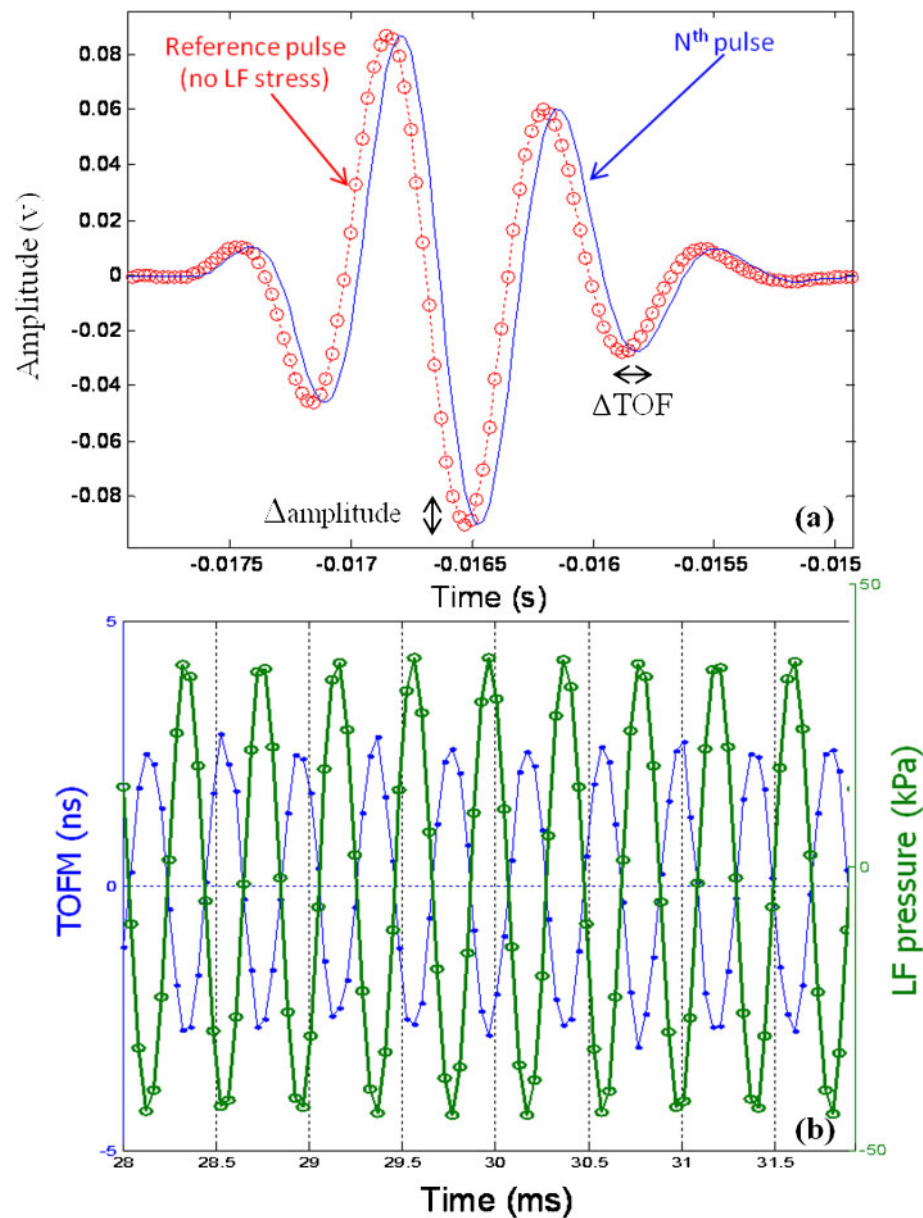


Fig. 2 (a) First (---○---) and Nth (—) US pulse-echoes; (b) TOFM (—●—) and LF pressure (—○—) time-domain functions obtained in water

the higher the medium density, the higher the BUA and c_{sample} values.

2.3 Mechanically induced damage

In the third protocol (section 3.3), specimens were subjected to compression fatigue testing to simulate microcracks created during physiological cyclic loading [15]. Three samples of calcanei from three human donors were machined into parallelepipeds. In the same way as before, the main axis of the specimen was approximately aligned with the physiological loading of the calcaneus bone. Sample ends were embedded

in Araldite[®] epoxy resin (end caps) to minimize the effects of end artefacts on mechanical testing.

Compression fatigue tests were carried out in an INSTRON Electropuls E1000 testing machine at ambient temperature. The three specimens, moisturized the day before, were preloaded at 30 N to ensure full contact. The frequency of loading was fixed at 2 Hz (near to gait frequency). Pre-cycling was performed between strains of 0.2 and 0.6 per cent for 60 cycles to measure the initial Young's modulus. Young's modulus was evaluated using the most linear part of the loading curve. Load-controlled fatigue was then applied with a load normalized

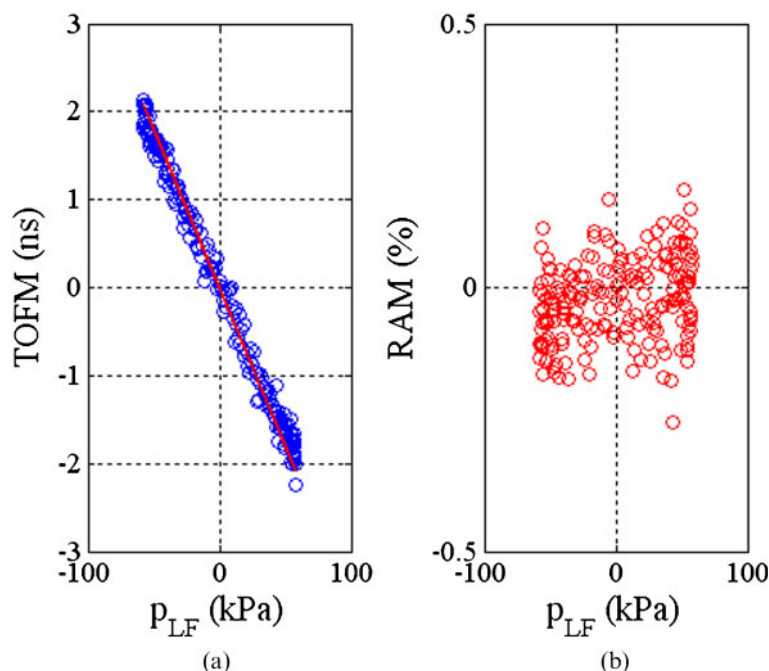


Fig. 3 (a) TOFM and (b) RAM in water compared to instantaneous LF pressure. The straight line in Fig. 3(a) was plotted using the β value reported in the literature (close to 5). There was no RAM in water (noise level)

between 0.2 and 0.6 percent of strain; Young's modulus was calculated throughout the test every 20 cycles and fatigue tests were stopped at 50 per cent reduction in Young's modulus.

2.4 Histological quantification of damage

For the first two protocols, a histology analysis was performed by confocal laser scanning microscopy [15], in order to compare US non-linearity levels and microdamage levels. Samples (in sections 3.1 and 3.2) were stained with either alizarin complexone (0.02 per cent) or green calcein (0.005 per cent) for 8 h after DAET measurements. They were then rinsed in deionized water to remove any unbound dye.

These specimens were embedded in Araldite epoxy resin. Two or three 'thin' sections (200–300 μ m) of each sample were cut along the US probe axis and mounted on glass slides. Microdamage was studied using a 10 $\times$ objective lens and quantified for each slice in a plane parallel to the US pulse propagation direction. A 1 mm wide region at each side of the section was not analysed to avoid damage induced by sample preparation. Binarization processing of the images from microscopy was used to estimate the relative bone area analysed. Microdamage was quantified for each specimen by measuring crack density, i.e. the number of cracks per relative bone area of the slides studied.

3 RESULTS

3.1 Regional DAET measurements in whole calcanei: influence of trabecular porosity

3.1.1 DAET and linear US characterization

The heterogeneous density distribution and the various trabecular orientations within a calcaneus led to the performance of DAET measurements on whole bones in order to detect levels of non-linearity particular to a given region. Eight trabecular bones were removed from four human donors (all female, 79 to 88 years of age). As shown in Fig. 4, two regions of interest (ROI) were investigated in particular:

- a low-porosity region with a mainly plate-like architecture, located in the upper part of the calcaneus;
- a higher-porosity homogeneous region, located in the posterior part of the calcaneus (as defined in reference [16]).

Linear BUA and c_{sample} US parameters were measured and found to be well correlated ($r^2 = 0.86$) (Table 1). There was no acoustic non-linearity in region 2. The mean BUA values for all samples were 95 ± 43 dB/MHz in region 1 and 83 ± 29 dB/MHz in region 2. The velocity was close to 1751 ± 198 m/s in region 1 and 1626 ± 65 m/s in regions 2. These results clearly indicate the higher inter-specimen



Fig. 4 Two regions measured on human calcanei with DAET. Regions 1 and 2 correspond to the upper (low porosity) and posterior (high porosity) ROI, respectively

variability in region 1 compared with region 2. Instantaneous TOFM and RAM were plotted and analysed as a function of instantaneous LF pressure (Fig. 5).

The instantaneous TOFM diagram in water was a linear function of LF pressure (Fig. 3(a)) without any hysteresis or strong asymmetry (tension/compression), as expected in a classical NL material. In this case no dissipative non-linearity was observed (noise level). In the presence of microdamage, higher levels of non-linearity were measured, mostly associated with asymmetry and hysteretic behaviour (non-classical NL behaviour). Moreover, dissipative non-linearity was always observed. In this case, it was necessary to calculate values of β separately in tension (β_t) and compression (β_c) phases (Table 1).

Weak viscoelastic non-linearity was measured in region 2: $\beta = 5 \pm 2$ (including calcaneus 7).

Sample 7 in region 1 exhibited very high viscoelastic and dissipative non-linearity (Fig. 5(a)), with a β value of -176 ± 37 (average over three measurements). The mean β value for the other seven calcanei was 8 ± 4 .

Except in calcaneus 7, the RAM measured was close to the noise level (± 0.2 per cent) in both regions 1 and 2. DAET induced opening and closing of the microcracks (LF pressure), leading to attenuation of

US pulses and velocity modulations. RAM was less attenuated in compression than in tension, probably because microcracks more easily open than close.

Since calcaneus 7 exhibited high levels of non-linearity in region 1, it was examined by microscopy (in both regions 1 and 2).

In addition to this protocol, DAET measurements were performed on a calcaneus defatted by immersion in a bath of trichloroethylene for a few days (more destructive process). Measurements were performed in region 1 (upper part of the calcaneus). Compared with Fig. 5, a positive β value can be seen in Fig. 6, and similar levels of viscoelastic and dissipative non-linearity. Moreover, asymmetry in the TOFM curve can be seen, which means that the sample had two distinct values of the NL β parameter: one in tension ($\beta_t = 162$) and the other in compression ($\beta_c = 15$).

Confocal laser scanning microscopy was also performed on this sample to evaluate the level of microdamage in the region measured.

3.1.2 Histology

Calcaneus 7 and the calcaneus defatted by trichloroethylene were analysed using a laser scanning confocal microscope to compare the DAET results with existing microdamage. Calcaneus 7 was divided into two blocks corresponding to regions 1 and 2, whereas the other calcaneus was analysed by microscopy only in region 1.

Two types of damage were detected in calcaneus 7:

- microdamage in the form of linear microcracks (Figs 7(a) and (b));
- macrodamage in the form of split trabeculae, which should not be confused with microfracture (Fig. 7(c)).

To the authors' knowledge, this latter kind of damage has not previously been reported in papers dealing with damage within bone. However, it could be identified with linear cracks described by Moore and Gibson [17].

Table 1 Linear and NL parameters of the specimens measured in region 1

Sample	c_{sample} (m/s)	BUA (dB/MHz)	β	β_t	β_c
1	1587	52	6	5	5
2	1590	66	8	8	7
3	1610	70	3	2	4
4	2084	149	14	20	21
5	1566	50	6	6	6
6	1901	128	8	9	8
7	1905	159	-176	-163	-195
8	2101	141	12	11	11

β_t , β calculated in tension phase; β_c , β calculated in compression phase.

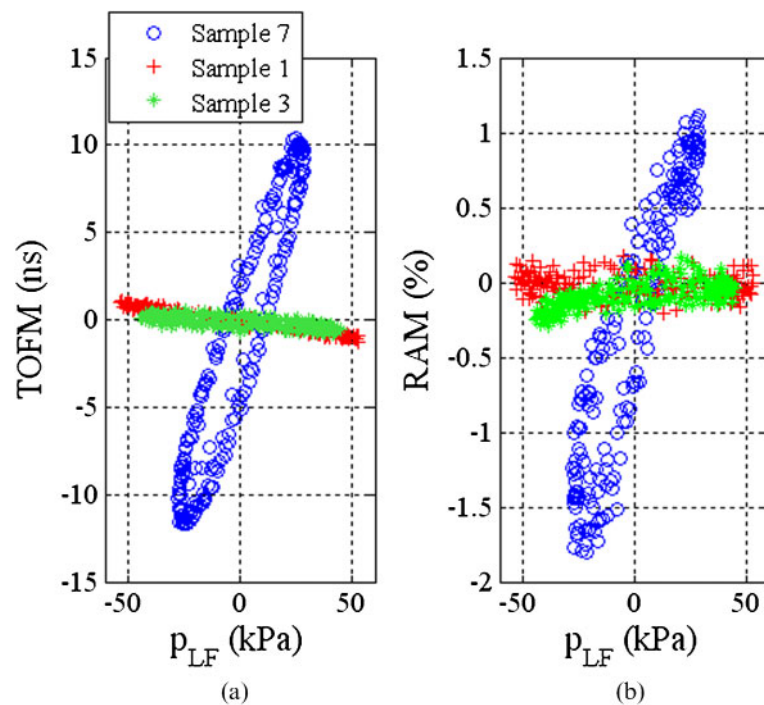


Fig. 5 Three TOFM (a) and RAM (b) curves measured in region 1 for calcanei 1, 3, and 7. Calcaneus 7 exhibits slight asymmetry between tension and compression phases

DAET may also be sensitive to such splits, and both types of damage were therefore counted separately.

As presented in Table 2, the amount of damage quantified in region 1 was twice as high as in region 2,

in agreement with DAET measurements: viscoelastic and dissipative non-linearity was higher in region 1. Moreover, the difference in bone density (41.6 and 29.0 per cent in regions 1 and 2, respectively) was not

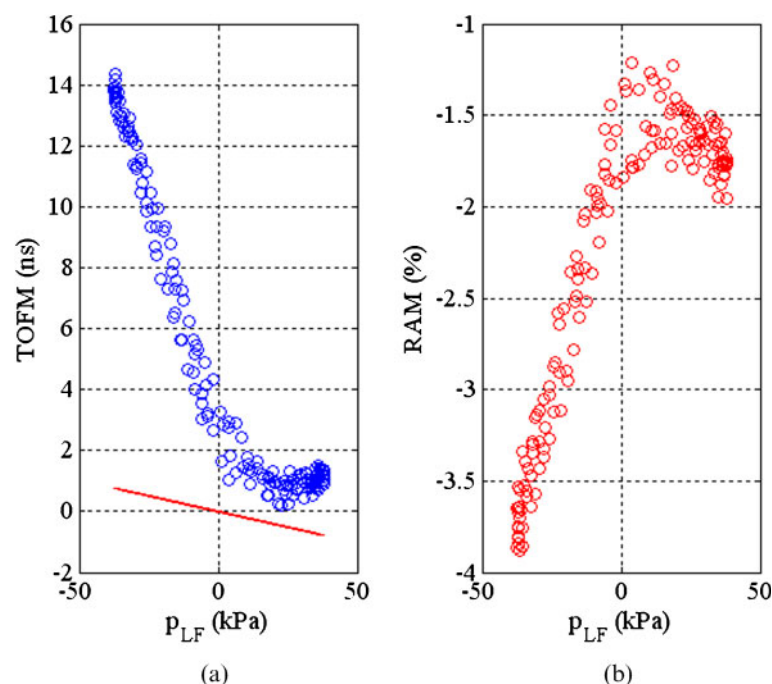


Fig. 6 (a) TOFM and (b) RAM in relation to LF pressure measured in a calcaneus defatted by trichloroethylene. Asymmetry in tension and compression characterizes NL behaviour that is different in tension and in compression

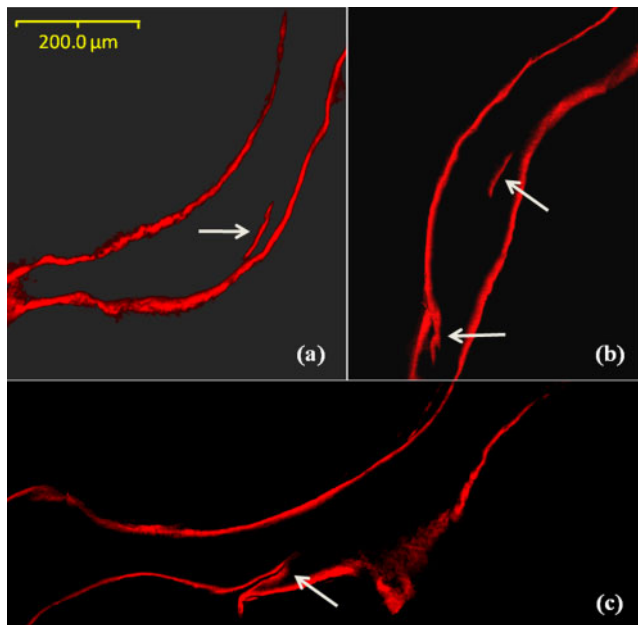


Fig. 7 Examples of damage observed in region 1 by confocal laser scanning microscopy: (a) and (b) two single linear microcracks; (c) split trabeculae

the only explanation for the difference in crack density. Being close to the talus, more stress is concentrated in region 1 during physiological loading than in region 2, which may explain this difference.

The microdamage level observed in confocal images in the trichloroethylene-defatted calcaneus was much higher than had been seen before. There were at least ten times more cracks than in region 1 of sample 7. Several microscopy images of this sample are presented in Fig. 8.

3.2 DAET in parallelepipedic calcaneal samples extracted along the principal trabecular orientation

The aim of the second protocol was to establish a relationship between measurements of US non-

Table 2 Mean damage quantification in calcaneus 7 using confocal laser scanning microscopy of three slices for each region

	Region 1	Region 2
CrDn (/mm ²)	0.201	0.105
SD	0.015	0.013
SpTDn (/mm ²)	0.263	0.109
SD	0.047	0.039
RBAr (%)	41.6	29.0

CrDn, crack density; SD, standard deviation; SpTDn, surface density of split trabeculae; RBAr, relative bone area.

linearity and quantification of microdamage (histology). Seven samples of trabecular bone were taken from seven calcanei from human donors and machined into parallelepipedic specimens. The main sample direction was approximately aligned with the physiological loading axis, which was perpendicular to the direction of observation reported in section 3.1. In order to obtain an acceptable signal-to-noise ratio (SNR) for the US pulses received (≥ 30 dB), specimen length ranged from 20 to 25 mm.

3.2.1 DAET

At least three DAET lengthwise measurements were performed in bone samples, with sample repositioning between each measurement. Only one sample (sample Z) differed from the others, providing very high TOFM levels (Fig. 9). The other six samples did not display any asymmetry in the TOFM curve, and only mean values of β are listed in Table 3.

3.2.2 Histology

To relate the acoustic non-linearity and the actual microdamage objectively, samples were stained according to the labelling protocol described in section 2 and embedded in Araldite epoxy resin. Two thin sections were cut from each sample along the US probe axis. Microdamage was observed under confocal epifluorescence microscopy as described in section 2. Only sample Z exhibited a high level of microdamage (1.175 ± 0.090 per mm², all damage taken together, whereas quantified damage in the other samples did not exceed 0.563 ± 0.010 per mm², see Table 3). The same specimen Z also differed from the others in DAET measurements (hysteresis).

After sample Z, two samples (M and X) provided the highest values of parameter β , which were quite low values in relation to crack density. However, the microcracks observed were very different from the damage previously described and identified. Most of the quantified damage was due to stained cement lines which were clearly different from microcracks.

3.3 Sensitivity of DAET to mechanically induced damage

The goal of this pre-study was to investigate the sensitivity of the DAET technique to microdamage induced by uniaxial compression fatigue testing.

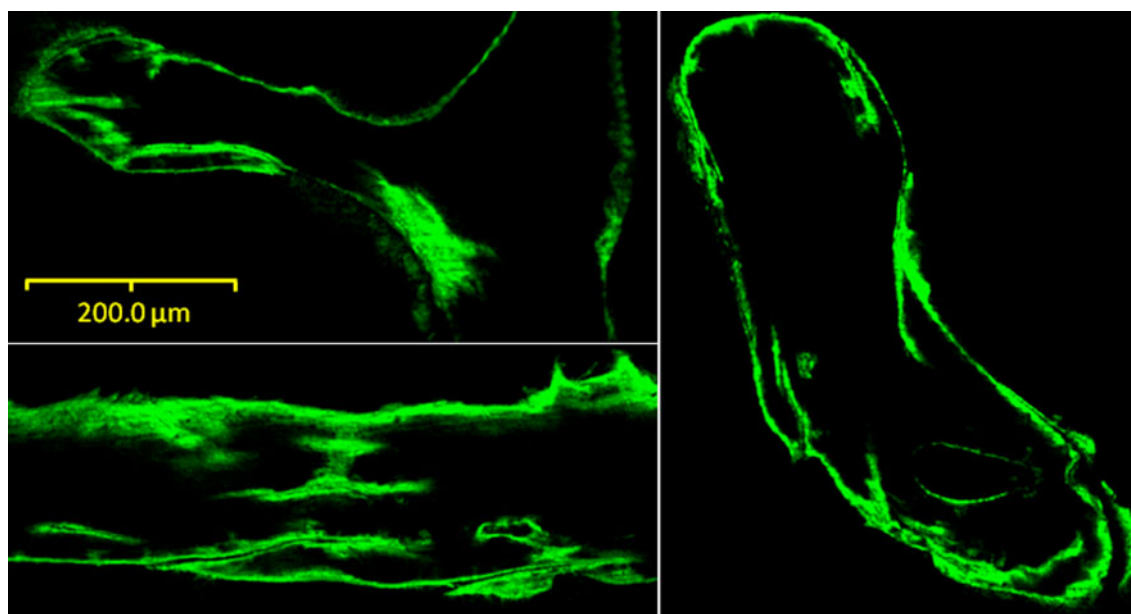


Fig. 8 Examples of images of damage in the calcaneus defatted by trichloroethylene performed by confocal laser scanning microscopy

3.3.1 Fatigue testing

Three specimens (A, B, and C) were damaged mechanically, and their results are presented in Table 4. As reported in Fig. 10, the mechanical experiments induced damage that could be assessed by the ratio of the initial Young's modulus to the current Young's modulus.

Table 4 summarizes the different fatigue test characteristics, including initial Young's modulus, fatigue loading range, and number of cycles to failure. The measured value of the β parameter is also included. The observed high difference in the number of loading cycles between samples, particularly for sample A, can be first explained by the high inter-specimen variability. In addition, the samples

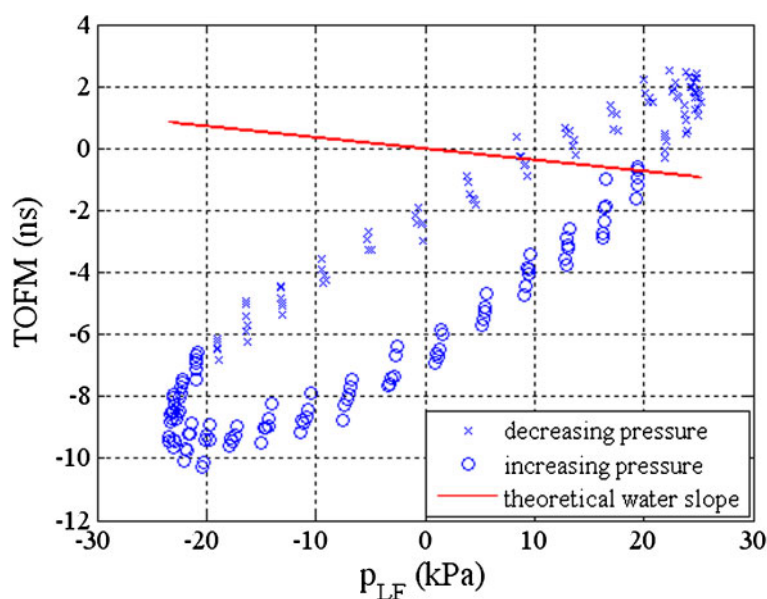


Fig. 9 TOFM in relation to LF pressure for the one parallelepipedic calcaneal sample that exhibited strong non-linear behaviour. The positive slope reveals a negative value of β

Table 3 Quantification of damage averaged over two slices and the mean β value over three DAET measurements for seven samples of calcaneal trabecular bone

Sample	CrDn (/mm ²)	SD	$\langle\beta\rangle$
Q	0.123	0.030	4
R	0.080	0.060	6
T	0.155	0.080	4
P	0.115	0.080	0
M	0.381	0.120	31
X	0.563	0.010	14
Z	1.175	0.090	-152

CrDn, crack density; SD, standard deviation; $\langle\beta\rangle$, mean of β .

size is also big enough to include heterogeneous porosity regions.

3.3.2 DAET

DAET measurements were performed three times on samples before and after mechanical testing. All specimens exhibited strong NL behaviours that were very different from those of water. TOFM amplitudes for sample A were slightly higher after compression fatigue testing and RAM was identical before and after fatigue testing, whereas TOFM amplitudes for

samples B and C were much higher after mechanical testing (Fig. 11). Sample B also exhibited significant hysteresis after fatigue testing, possibly characterizing significant non-classical hysteretic non-linearity such as microcracks.

4 DISCUSSION

The current study focused on the ability of the DAET method to detect microdamage in the human calcaneus. US viscoelastic and dissipative non-linearity was therefore measured in several trabecular bone samples in three different protocols.

4.1 Little intrinsic acoustic non-linearity in calcaneus

The heterogeneity of the calcaneus was first investigated with regard to NL US measurements (protocol 1). In particular, the impact of trabecular bone porosity on DAET measurements was assessed in two different porosity regions. Two calcanei out of nine exhibited very high US non-linearity in the low-porosity region, being one order of magnitude higher than the other calcanei for TOFM (15 to 20 ns,

Table 4 Mechanical fatigue testing parameters and DAET β measurements for three calcaneal samples

Sample	E_0 (MPa)	Load range (N)	N_f	β_{before}	β_{after}
A	274	52–257	24 470	-1	-31
B	268	61–283	504	-132	-1066
C	510	44–475	713	26	-524

E_0 , initial Young's modulus; N_f , number of cycles to failure; β_{before} , β value measured before mechanical fatigue testing; β_{after} , β value measured after mechanical fatigue testing.

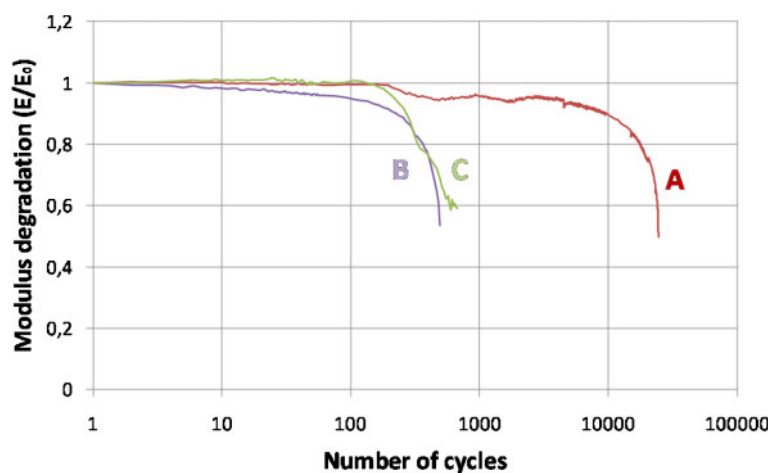


Fig. 10 Evolution of Young's modulus for the three samples

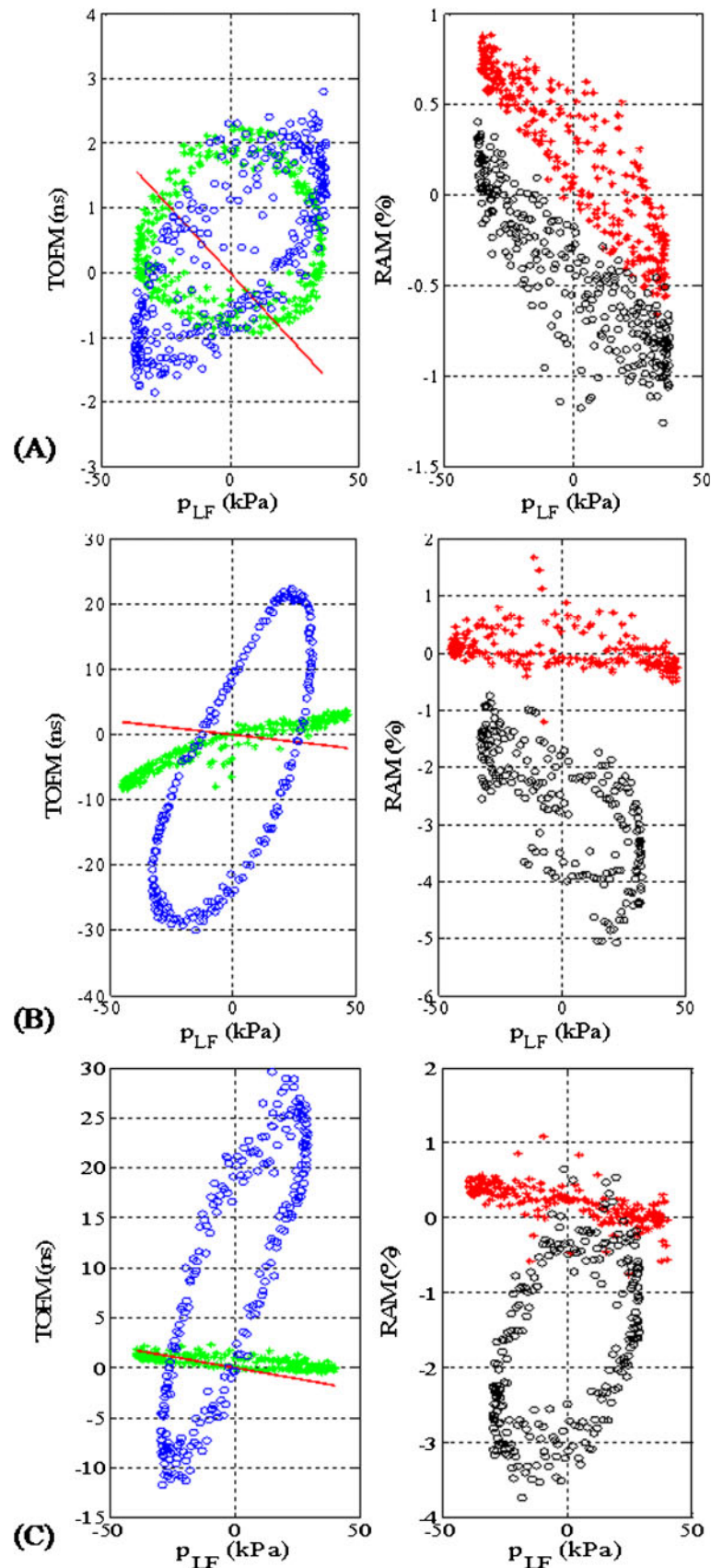


Fig. 11 TOFM and RAM compared to LF pressure before (*) and after (O) uniaxial compression fatigue testing for the three samples (A, B, and C). Straight line = theoretical TOFM in water

$|\beta| \gg 50$) and more than 2 per cent for RAM. In both cases, the corresponding bone measurement region was close to the anterior talocalcaneal articulation. This is a dense region of the calcaneus, accumulating significant physiological stress and thus a possibly higher level of microdamage. The other seven calcanei tested exhibited low levels of acoustic non-linearity in this upper dense region, explained either by a low level of microdamage and/or by the sensitivity of the DAET to detect low levels of microdamage. The sensitivity of the DAET method relies on a very good US pulse SNR. The accuracy of the cross-correlation technique used to assess the TOFM is in fact highly dependent on the SNR value. High bone density regions obviously lead to poorer SNR. If the level of microdamage is not high enough the TOFM is close to the noise level.

In the higher-porosity region in the lower posterior part of the calcaneus the DAET measurements exhibited very low non-linearity for TOFM (1 to 2 ns, $|\beta| \ll 10$) and for RAM (lower than 0.5 per cent). This lower US non-linearity, close to that of water, may be explained by either a smaller amount of bone tissue probed by the US pulses and/or to a lower density of microcracks.

Confocal laser scanning microscopy histology performed on calcaneus 7 defatted using the Supercrit method (low- and high-porosity regions) and on the trichloroethylene-defatted calcaneus supports these observations. In particular, it was shown that a high level of microdamage is well correlated with high and complex (asymmetry, hysteresis) NL responses.

In addition to these results, different NL behaviours were observed in the low-porosity region of calcaneus 7 and in the trichloroethylene-defatted calcaneus. The former exhibited high negative β values and the latter positive values. This was probably due to the defatting process, which in the first case ensured minimal denaturation of the organo-mineral structure compared with the latter. Clarification of this is being addressed in a further study.

4.2 Acoustic non-linearity correlated well with microdamage in calcaneal trabecular bone

The second protocol was performed to confirm the relationship between DAET measurements and damage using confocal laser scanning microscopy analysis on eight parallelepipedic trabecular bone samples (22 mm length) extracted from Supercrit-defatted calcanei. This study showed a good correlation between high levels of viscoelastic and dissipative non-linearity and high levels of damage.

Although only one sample out of eight exhibited high and complex NL behaviour, the crack density of this sample was twice as high as the others. It should be noted that sections were cut according to the main physiological loading axis. The density of the trabecular network was therefore fairly heterogeneous and differed slightly from one specimen to another. Here again, amplitudes of acoustic non-linearity are extremely dependent on factors such as the SNR of US pulses, the amount of bone material probed by the US pulses, and the level of damage.

Solid non-damaged materials exhibit classical NL β values of up to 15. When such media include microdamage, β values are very high and mostly associated with non-classical hysteretic NL behaviours in rocks [18–20] and cortical bone tissue [21, 22]; as for example in good agreement with our results in protocols 1 and 2. In all the samples probed with the DAET method, very few (three to five out of 17) exhibited high levels of non-linearity. The native microdamage in trabecular bone does not seem that high. The question to be answered in the study was to identify the threshold of microdamage to which DAET is sensitive and whether it corresponds to a risk of fracture. To attempt to provide answers to this question a third DAET protocol was performed on three trabecular bone samples before and after a mechanical fatigue test aiming to induce damage.

4.3 DAET sensitivity to mechanically induced microdamage

Despite the variations between the specimens in terms of number of cycles to failure (even for similar initial Young's moduli) and the limited number of specimens, the results from this preliminary fatigue protocol suggest that DAET is sensitive to mechanically induced damage. Viscoelastic and dissipative non-linearity increased with accumulation of damage. Damage accumulation was quantified by the evolution of the Young's modulus throughout loading cycles. As mentioned before, viscoelastic non-linearity was associated with hysteretic loops, asymmetric curves in tension/compression phases, and high TOFM magnitudes ($\Delta\text{TOFM} = 5, 40, \text{ and } 50 \text{ ns}$ for bone samples A, B, and C, respectively). High levels of dissipative non-linearity were also observed, which confirmed the presence of microdamage. There is in fact no dissipative non-linearity in non-damaged materials.

The quadratic NL elastic parameter β is obtained from a linear regression of the TOFM diagram

(TOFM as function of instantaneous LF pressure). However, the calculation of β also requires sample density and US pulse velocity measurements. These two parameters have a significant impact on β amplitude (equation (4)). Since it is difficult to assess sample density, this parameter was fixed at 1180 kg/m^3 . In contrast, the US pulse velocities were carefully measured, with values ranging from 1500 to 2200 m/s. However, due to the weight of the cubic velocity in the β expression, the $|\beta|$ values measured were spread over a wide range of values (5–20 to more than 50). It was decided therefore to conclude that there was a strong NL behaviour (i.e. related to an actual microdamage) when the $|\beta|$ value was higher than 50. Results could have been presented as $(-L/L_{\text{sample}}) \times (\Delta\text{TOFM}/\Delta p_{\text{LF}})$ only, but these would then be difficult to compare with data found in the literature. Thus, $|\beta|$ values less than 50 characterize classical NL behaviour (microdamage might be too weak to be detected with DAET). In contrast, the $|\beta|$ value higher than 50 cannot be explained only by a high material velocity value but is related to non-classical non-linearity and is very probably due to microdamage. The NL behaviour was mostly associated with hysteresis, asymmetry, and significant dissipative non-linearity, characterizing non-classical non-linearity due to microcracks. These findings were always correlated with histology (sample 7, sample defatted by trichloroethylene, and sample Z).

All measurements were performed at least twice for each sample. DAET reproducibility was good for samples with low levels of non-linearity ($|\beta| < 50$, $|\text{TOFM}| < 3 \text{ ns}$). In samples exhibiting high levels of non-linearity ($|\beta| > 50$), DAET reproducibility was sample dependent. Some samples showed fairly constant behaviour from one test to the other, and others presented increased or decreased NL behaviour from one test to another. This can be partly explained by the well-known conditioning effect in damaged materials (viscoelastic memory effects). The NL response due to LF stress depends on the whole stress history of the sample. In future experiments particular care will be taken with DAET measurements, to take into account these possible conditioning effects.

A particular kind of damage was observed in the histology study, i.e. split trabeculae. To the authors' knowledge, no previous publication in the bone literature has reported such damage (or perhaps in Moore and Gibson [17]). Several aspects of slice preparation for confocal laser scanning microscopy analysis could be called into question. In fact, bone section size used in the present study was much

thicker than those usually reported ($300 \mu\text{m}$). However, in general, the confocal laser scanning microscopy results were in agreement with the DAET results. A surface density of microcracks greater than 0.5 per mm^2 was associated with complex and high NL behaviour ($|\beta|$ values > 50).

5 CONCLUSIONS

Taken together, the results of the present study demonstrate that DAET is a sensitive method to detect microdamage in trabecular bone, although it is currently limited by the amount of bone crossed by the US pulses. However, these results could be improved by paying particular attention to the measurement chain, especially by optimizing a low-noise reception amplifier.

A fatigue protocol, combining DAET measurements before and after fatigue and sequential fluorochrome labelling, is currently being investigated. This will provide validation of DAET sensitivity to mechanically induced damage.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to thank Jean-Yves Tartu for his valuable contribution to the mechanical setup.

© Authors 2011

REFERENCES

- 1 **Ammann, P. and Rizzoli, R.** Bone strength and its determinants. *Osteoporos. Int.*, 2003, **14**, 13–18.
- 2 **Colopy, S. A., Benz-Dean, J., Barrett, J. G., Sample, S. J., Lu, Y., Danova, N. A., Kalscheur, V. L., Vanderby, R., Markel, M. D., and Muir, P.** Response of the osteocyte syncytium adjacent to and distant from linear microcracks during adaptation to cyclic fatigue loading. *Bone*, 2004, **35**, 881–891.
- 3 **Hazenberg, J. G., Taylor, D., and Lee, T. C.** The role of osteocytes and bone microstructure in preventing osteoporotic fractures. *Osteoporos. Int.*, 2007, **18**, 1–8.
- 4 **Burr, D. B., Turner, C. H., Naick, P., Forwood, M. R., Ambrosius, W., Hasan, M. S., and Pidaparti, R.** Does microdamage accumulation affect the mechanical properties of bone? *J. Biomech.*, 1998, **31**, 337–345.
- 5 **Zioupou, P.** Accumulation of *in-vivo* fatigue microdamage and its relation to biomechanical properties in ageing human cortical bone. *J. Microsc.*, 2001, **201**, 270–278.

- 6 Njeh, C. F., Boivin, C. M., and Langton, C. M. The role of ultrasound in the assessment of osteoporosis: a review. *Osteoporos. Int.*, 1997, **7**, 7–22.
- 7 Hans, D., Dargent-Molina, P., Schott, A. M., Sebert, J. L., Cormier, C., Kotzki, P. O., Delmas, P. D., Pouilles, J. M., Breart, G., and Meunier, P. J. Ultrasonographic heel measurements to predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. *Lancet*, 1996, **348**, 511–514.
- 8 Renaud, G., Callé, S., Remenieras, J. P., and Defontaine, M. Exploration of trabecular bone nonlinear elasticity using time-of-flight modulation. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectrics Freq. Contr.*, 2008, **55**, 1497–1507.
- 9 Sone, T., Imai, Y., Tomomitsu, T., and Fukunaga, M. Calcaneus as a site for the assessment of bone mass. *Bone*, 1998, **22**, 155S–157S.
- 10 Vico, L., Lafage-Proust, M. H., and Alexandre, C. Effects of gravitational changes on the bone system *in vitro* and *in vivo*. *Bone*, 1998, **22**, 95S–100S.
- 11 Mitton, D., Rappeneau, J., and Bardonnet, R. Effect of a supercritical CO₂ based treatment on mechanical properties of human cancellous bone. *Eur. J. Orthop. Surg. Traumatol.*, 2005, **15**, 264–269.
- 12 Ichida, N., Sato, T., and Linzer, M. Imaging the nonlinear ultrasonic parameter of a medium. *Ultrason. Imag.*, 1983, **5**, 295–299.
- 13 Renaud, G., Callé, S., and Defontaine, M. Remote dynamic acoustoelastic testing: elastic and dissipative acoustic nonlinearities measured under hydrostatic tension and compression. *Appl. Phys. Lett.*, 2009, **94**, 011905.
- 14 Renaud, G., Callé, S., Remenieras, J. P., and Defontaine, M. Non-linear acoustic measurements to assess crack density in trabecular bone. In 11th International Workshop on Nonlinear Elasticity in Materials. *Int. J. Non-Linear Mech.*, 2008, **43**, 194–200.
- 15 Nagaraja, S., Couse, T. L., and Guldberg, R. E. Trabecular bone microdamage and microstructural stresses under uniaxial compression. *J. Biomech.*, 2005, **38**, 707–716.
- 16 Rupprecht, M., Pogoda, P., Mumme, M., Rueger, J. M., Püschel, K., and Amling, M. Bone microarchitecture of the calcaneus and its changes in aging: a histomorphometric analysis of 60 human specimens. *J. Orthop. Res.*, 2006, **24**, 664–674.
- 17 Moore, T. L. and Gibson, L. J. Fatigue microdamage in bovine trabecular bone. *J. Biomech. Engng*, 2003, **125**, 769–776.
- 18 Ostrovsky, L. A. and Johnson, P. A. Dynamic nonlinear elasticity in geomaterials. *Nuovo Cimento Rivista Serie*, 2001, **24**, 70000–46.
- 19 Guyer, R. A. and Johnson, P. A. Nonlinear mesoscopic elasticity: evidence for a new class of materials. *Phys. Today*, 1999, **52**, 30–35.
- 20 Van Den Abeele, K. and Visscher, J. D. Damage assessment in reinforced concrete using spectral and temporal nonlinear vibration techniques. *Cement Concrete Res.*, 2000, **30**, 1453–1464.
- 21 Muller, M., Sutin, A., Guyer, R. V., Talmant, M., Laugier, P., and Johnson, P. A. Nonlinear resonant ultrasound spectroscopy (NRUS) applied to damage assessment in bone. *J. Acoust. Soc. Am.*, 2005, **118**, 3946–3952.
- 22 Muller, M., Mitton, D., Moilanen, P., Bousson, V., Talmant, M., and Laugier, P. Prediction of bone mechanical properties using QUS and pQCT: study of the human distal radius. *Med. Engng Phys.*, 2008, **30**, 761–767.



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur
SciVerse ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com

IRBM

IRBM 32 (2011) 269–273

Article original

Détection du micro-endommagement dans le tissu osseux trabéculaire par une méthode d'acousto-élasticité dynamique

Detection of micro-damage in the trabecular bone by a method of acousto-elasticity dynamics

H. Moreschi^{a,*}, S. Callé^a, S. Guerard^b, D. Mitton^c, M. Defontaine^a

^a UMRS Inserm U 930, CNRS ERL 3106, université F. Rabelais, 10, boulevard Tonnellé, 37032 Tours, France

^b Arts et métiers ParisTech, CNRS, LBM, 151, boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France

^c IFSTTAR, UMR-T9406, LBMC, université Lyon-1, 69622 Lyon, France

Reçu le 30 juin 2011 ; reçu sous la forme révisée le 18 septembre 2011 ; accepté le 20 septembre 2011

Disponible sur Internet le 4 novembre 2011

Résumé

L'ostéoporose, pathologie liée à une fragilité du squelette pouvant entraîner des fractures ou tassements de certains sites osseux (vertèbres, col du fémur, poignet) est un vrai problème de santé publique. Depuis plus de 30 ans, des méthodes d'investigation (rayons X, ultrasons) ont été développées pour son diagnostic. Elles renseignent essentiellement sur la masse osseuse, alors que de multiples facteurs caractérisent cette pathologie ; parmi eux, le micro-endommagement. Les techniques d'acoustique non-linéaire ont déjà prouvé leur efficacité à quantifier la présence de fissures dans des matériaux. Nous présentons dans ce papier une méthode d'acousto-élasticité dynamique (interaction d'un train d'ondes très basse-fréquence et d'impulsions haute-fréquence), permettant de quantifier les non-linéarités viscoélastiques et dissipatives d'un matériau. Appliquée à des calcaneums humains dégraissés, elle a mis en évidence la présence de microfissures dans des régions de forte densité osseuse. Cependant, cette méthode est souvent en limite de détection de l'endommagement natif dans le calcaneum. Pour mieux évaluer la sensibilité de la méthode d'acousto-élasticité à l'endommagement présent, nous avons effectué des mesures avant et après avoir induit un endommagement par fatigue (cycles en compression). Les non-linéarités mesurées se sont révélées plus importantes après l'endommagement. En outre, les niveaux de non-linéarités observés ont été correctement corrélés à un endommagement effectif observé en microscopie confocale. Ces résultats sont nuancés par leur reproductibilité qui n'est pas satisfaisante lorsque le niveau des non-linéarités est élevé.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Osteoporosis affects the whole skeleton strength leading to an actual fracture risk. Associated to a high level of morbidity, it is a critical public health issue. During the last decades, several X-rays and ultrasound devices have been developed to help the clinicians in their diagnosis. They are essentially related to bone mass while several factors are responsible for this pathology. Among them, microdamage has an interesting place. Nonlinear acoustic methods have already shown their ability to detect microcracks in different geophysical and industrial materials. We present a dynamic acousto-elastic testing (interaction of a very low frequency tone burst and high frequency pulses) to measure viscoelastic and dissipative nonlinearities. Applied to trabecular bone samples (human defatted calcanei), this method has shown a high level of nonlinearity in very dense regions of the calcanei. However, native microdamage is often at the limit of the method sensibility. To better evaluate this parameter, we have performed acousto-elastic measurements before and after inducing microdamage thanks to a compression fatigue test. We observed higher nonlinearity after induced damage. Moreover, the level of acoustic nonlinearity has been correlated to actual damage accumulation thanks to confocal microscopy analysis. However, acousto-elasticity measurements repeatability is weak. Correct reproducibility is observed for low level of nonlinearity (low level of microcracks). For high level of nonlinearity, quite different nonlinear behaviors are usually observed from one measurement to the next one.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : helene.moreschi@etu.univ-tours.fr (H. Moreschi).

1. Introduction

L'ostéoporose est une maladie qui touche près de 40 % de la population féminine et plus de 12 % des hommes. Asymptomatique, elle se caractérise par une détérioration générale du tissu osseux entraînant un risque de fracture. La fragilité osseuse est diagnostiquée en grande partie par la densité minérale osseuse (DMO). Mais, la DMO seule n'est pas un paramètre suffisant de discrimination des sujets à risque de fracture ostéoporotique [1].

Le micro-endommagement compte parmi les facteurs affectant la résistance mécanique de l'os. En effet, s'il joue un rôle reconnu essentiel dans le processus de remodelage osseux [2,3], le micro-endommagement peut, dans le cas de pathologies osseuses comme l'ostéoporose, s'accumuler et provoquer une diminution de la résistance osseuse [4].

Actuellement, des techniques d'imagerie basées sur l'absorption de photons X (DEXA) ou la tomographie quantitative par rayons X périphérique (pQCT) sont les techniques de référence pour le diagnostic de l'ostéoporose. Ces deux techniques fournissent essentiellement une information sur la DMO, même si le pQCT renseigne également sur la microarchitecture osseuse.

D'autres approches non ionisantes, dites ultrasonores quantitatives (QUS) reposent sur la mesure de la vitesse et de l'atténuation des ondes ultrasonores dans l'os [5]. Elles sont par nature liées aux paramètres mécaniques du milieu (densité, rigidité, viscosité), mais ne sont pas directement sensibles au niveau d'endommagement de l'os [6–9].

À partir d'études en acoustique non linéaire (NL) sur les géomatériaux et matériaux industriels [10,11] identifiant les fissures dans les solides comme des sources de non-linéarités importantes, une méthode d'acousto-élasticité dynamique (Dynamic Acousto-Elastic Testing [DAET]) [12] a été développée pour permettre la quantification du niveau de micro-endommagement présent dans le tissu osseux trabéculaire. Cette méthode utilise la sollicitation quasi-hydrostatique en dilatation/compression d'une onde acoustique sinusoïdale basse fréquence (BF), tandis que des impulsions ultrasonores (US) jouent le rôle d'ondes sondes et mesurent les variations NL des propriétés viscoélastiques et dissipatives des échantillons osseux ainsi testés.

L'ensemble des mesures présentées dans cette étude a été effectué sur des calcanéums humains. Ce site squelettique périphérique, facile d'accès, n'est pas le siège privilégié de fractures ostéoporotiques, mais plusieurs études utilisant les méthodes QUS ont montré qu'il permettait une bonne discrimination du risque de fracture, comparable à la DMO du fémur ou des vertèbres [13–15].

Après une brève description de la technique DAET, les résultats observés sur un lot de calcanéums entiers sont résumés dans une première partie. Une seconde partie est dédiée à la sensibilité de la méthode DAET à un endommagement mécanique induit par un test de compression par fatigue sur des échantillons issus de calcanéums.

2. Dynamic Acousto-Elastic Testing appliquée à la détection du micro-endommagement osseux

La méthode d'acousto-élasticité dynamique, dite DAET [12,16,17] a été développée pour mesurer les non-linéarités acoustiques viscoélastiques et dissipatives d'un milieu, localement et sans contact. Elle est basée sur l'interaction de deux ondes acoustiques se propageant perpendiculairement : une onde sinusoïdale BF (train d'ondes d'une centaine de périodes, centré sur une fréquence comprise entre 1 et 5 kHz) et des impulsions US de fréquence centrale comprise entre 0,3 et 1 MHz. L'échantillon testé est placé dans la zone d'interaction des deux faisceaux acoustiques. Les impulsions US sondent ainsi le milieu dans les différents états de pression hydrostatique BF. L'acquisition des signaux acoustiques (onde BF et impulsions US) permet le calcul de la modulation du temps de propagation (Time Of Flight Modulation [TOFM]) et de l'amplitude relative (Relative Amplitude Modulation [RAM]) des impulsions US induites par la perturbation acoustique BF. Les diagrammes représentant TOFM et RAM en fonction de la pression BF instantanée renseignent respectivement sur les comportements viscoélastiques et dissipatifs NL du milieu étudié [12,16]. La pente de la régression linéaire faite sur la représentation du TOFM en fonction de la pression BF permet de calculer le paramètre NL quadratique β (1).

$$\beta = - \frac{2\rho_{\text{éch}} c_{\text{éch}}^3}{L} \frac{\Delta \text{TOFM}}{\Delta p_{\text{BF}}} \quad (1)$$

$\rho_{\text{éch}}$, $c_{\text{éch}}$ et L sont respectivement la densité, la célérité et la longueur de l'échantillon testé et p_{BF} , la pression BF instantanée.

Le calcanéum, constitué à 90 % de tissu osseux trabéculaire, présente une forte hétérogénéité de densité et de microarchitecture. Les mesures DAET effectuées pour sept calcanéums entiers [17] sur deux régions de porosités très différentes, sous l'insertion de l'astragale (porosité faible) et près de la tubérosité postérieure (porosité plus grande), ont révélé dans 25 % des cas des niveaux de non-linéarités significatifs dans les régions de faible porosité. Les régions de forte porosité ont systématiquement présenté des mesures bruitées signant un comportement NL à la limite de ce que nous pouvons mesurer. La mesure DAET est en effet dépendante de la longueur du matériau traversé : une faible densité osseuse ne favorise pas le passage des US dans l'os (TOFM du tissu osseux très faible), mais une densité trop importante atténue les US et dégrade le rapport signal sur bruit des impulsions US. Par ailleurs, les non-linéarités mesurées en régions denses ont montré une asymétrie entre les phases de dilatation et de compression, ainsi qu'un comportement hystérétique caractéristique (Fig. 1). Ce type de non-linéarités (non-classiques) signe plutôt une évolution des paramètres TOFM et RAM selon le double de la fréquence de la pression BF. Ce comportement traduit la présence d'inhomogénéités « souples », les microfissures et macrofissures à l'intérieur du matériau, qui sont sources de non-linéarités non classiques à distinguer de la non-linéarité classique des milieux fluides et solides homogènes apparaissant pour des niveaux de pression beaucoup plus importants. L'observation en microscopie confocale à

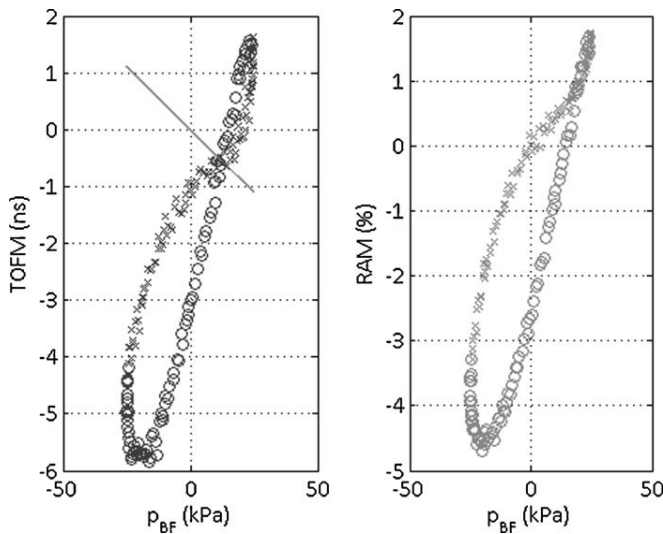


Fig. 1. Time Of Flight Modulation (TOFM) et Relative Amplitude Modulation (RAM) en fonction de la pression basse fréquence (BF) instantanée (o) croissante et (*) décroissante, mesurés dans la région dense d'un calcanéum (correspondant à une valeur de β égale à -90). La droite représente le TOFM mesuré dans l'eau ($\beta = 5$ et absence de RAM dans l'eau).

balayage laser (MCBL) des calcanéums ayant présenté de fortes non-linéarités a permis de corréler les résultats des mesures DAET à une densité de micro-endommagement : les zones de forte densité ont révélé une densité de micro-endommagement deux fois supérieure ($0,45 \pm 0,06$ cracks/mm², tous micro-endommagements confondus) à celle des zones de faible densité ($0,21 \pm 0,05$ cracks/mm²).

Ce constat pourrait permettre d'expliquer cette asymétrie dilatation/compression des TOFM et RAM, partant de l'hypothèse qu'une fissure s'ouvre plus facilement sous l'effet d'un changement de pression, qu'elle ne se ferme.

Par ailleurs, les valeurs de β obtenues dans des calcanéums dégraissés au moyen d'un procédé Supercrit® (BIOBank, Paris, France [18]) sont négatives, contrairement à celles mesurées sur un calcanéum dégraissé par cuisson dans un bain de trichloroéthylène (β de l'ordre de 120) [12]. Ce dernier procédé participe probablement à un changement de la nature organominérale du tissu osseux et donc, à une modification de ses propriétés mécaniques viscoélastiques à laquelle la DAET serait sensible.

Les non-linéarités mesurées par DAET peuvent donc provenir d'une double contribution : la présence d'inhomogénéités de types micro-endommagement à l'intérieur de l'échantillon testé et/ou des propriétés viscoélastiques de cet échantillon (renseignées par le signe du paramètre β).

À l'instar des tests d'analyse mécanique dynamique (DMA et rhéomètres), qui fournissent des rhéogrammes sur l'évolution des propriétés élastiques et visqueuses de cisaillement, l'analyse des paramètres TOFM et RAM en fonction de la pression BF instantanée propose également une analyse du comportement viscoélastique de « volume » en dynamique à basse fréquence.

Tableau 1

Paramètres mécaniques du test de fatigue en compression et valeurs du paramètre β pour les trois échantillons effectivement fatigués [17].

Échantillon	E_0 (MPa)	N_f	β_{avant}	$\beta_{\text{après}}$
A	274	24 470	-1	-31
B	268	504	-132	-1066
C	510	713	26	-524

E_0 : module d'Young initial ; N_f : nombre de cycles de fatigue ; β_{avant} et $\beta_{\text{après}}$: valeurs mesurées respectivement avant et après le test de fatigue.

3. Dynamic Acousto-Elastic Testing et micro-endommagement induit mécaniquement

Comme présenté précédemment, la sensibilité de la DAET au micro-endommagement natif s'est révélée relativement faible (seulement 25 % des échantillons testés ont montré des non-linéarités significatives), mais prometteuse.

L'endommagement physiologique du tissu osseux provient d'efforts répétitifs de faible intensité (efforts de fatigue). À partir de ce constat, des techniques biomécaniques de suivi de l'accumulation et de la propagation du micro-endommagement dans le tissu osseux ont été développées (tests de fatigue par compression [19,20]) pour induire du micro-endommagement dans l'os.

Des mesures DAET ont donc été menées sur des échantillons parallélépipédiques, extraits de calcanéums humains, avant et après un test de fatigue par compression uniaxiale.

Afin de favoriser la quantité de fissures initialement présentes dans les calcanéums, les échantillons (20–25 mm) ont été découpés selon leur axe physiologique de chargement et fatigués dans cette même direction. L'endommagement mécanique a été induit en appliquant aux échantillons des cycles de compression dans le domaine élastique (0,2 à 0,6 % de déformation), à une fréquence de 2 Hz, jusqu'à obtenir une réduction de la valeur du module d'Young de 50 % de sa valeur initiale [17].

Les échantillons effectivement fatigués (Tableau 1) ont globalement présenté des niveaux de non-linéarités plus importants après le test mécanique de fatigue qu'avant celui-ci (Fig. 2). Cependant, il est important de souligner ici la reproductibilité moyenne de la mesure DAET, malgré le soin particulier apporté au repositionnement des échantillons pour chaque mesure (supports des échantillons et des transducteurs fixes) et au contrôle de la température. Des niveaux de non-linéarités très élevés peuvent être mesurés sur un échantillon lors d'une première mesure et ne plus être observés la mesure suivante. Cette constatation est souvent faite en acoustique NL. Certains auteurs avancent un conditionnement du milieu qui placerait l'échantillon dans un état « mécanique » différent pour chaque mesure.

Une étude histologique des échantillons en MCBL, utilisant une technique de double coloration a été effectuée : les échantillons ont été colorés, avant et après le test de fatigue, à l'aide de deux fluorochromes différents (alizarine complexone et calcéine verte) se fixant sur les ions Ca^{2+} libérés en surface d'une fissure. Le premier fluorochrome fixe l'endommagement initialement présent dans l'échantillon (micro-endommagement et artefact de découpe), tandis que le second révèle le micro-endommagement

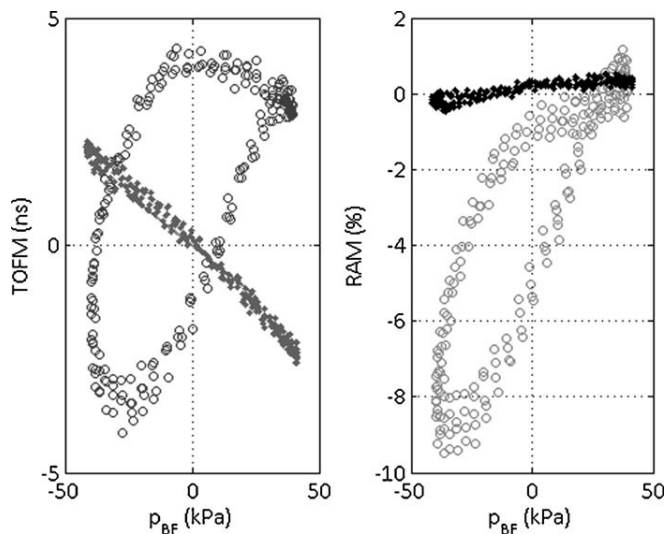


Fig. 2. Time Of Flight Modulation (TOFM) et Relative Amplitude Modulation (RAM) mesurés sur un échantillon avant (*) et après (o) un test d'endommagement mécanique de compression par fatigue.

généralisé par le test de fatigue. L'analyse histologique a montré la création de microfissures, l'agrandissement de microfissures existantes et surtout, a révélé un type d'endommagement laissant supposer un flambage du réseau trabéculaire sur le bord des échantillons (Fig. 3). Ce dernier conduit souvent à des travées « déchirées », voire cassées.

Ce type d'endommagement ne peut pas être classé dans les micro-endommagements qui regroupent fissures linéiques, fissures linéiques croisées et endommagement diffus, mais plutôt dans les macro-endommagements. Présent dans plusieurs des échantillons ayant révélé de forts niveaux de non-linéarités, il met en évidence la difficulté de la mise en œuvre d'un test de fatigue sur des échantillons présentant une forte hétérogénéité

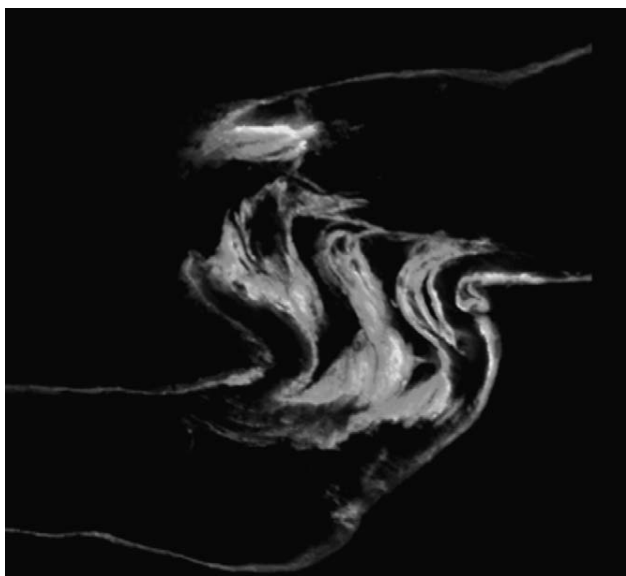


Fig. 3. Travée déchirée observée en microscopie confocale à balayage laser (MCBL) sur un échantillon ayant subi un test de compression par fatigue.

architecturale (les dimensions des échantillons sont conditionnées par la mesure DAET).

4. Conclusion

La méthode DAET s'est montrée sensible à la présence d'endommagement (micro et macrofissures) dans le tissu osseux. Les mesures ont présenté de fortes non-linéarités dans le cas de niveaux importants d'endommagement, que celui-ci soit natif ou mécaniquement induit. Cependant, ces résultats sont modérés par une reproductibilité moyenne de la mesure DAET.

Par ailleurs, les variations de la vitesse ultrasonore et de l'atténuation (TOFM et RAM) traduisent avant tout les variations des modules élastique et visqueux lorsque le milieu est soumis à une contrainte externe dynamique. C'est pourquoi les diagrammes instantanés de TOFM et RAM en fonction de la pression BF apportent une information à la fois sur la présence d'endommagement au sein du matériau et sur la viscoélasticité de ce dernier.

Afin d'extraire des paramètres caractéristiques de ces diagrammes instantanés, un modèle analytique, basé sur le développement du module viscoélastique complexe aux ordres supérieurs, est en cours de d'élaboration.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Ammann P, Rizzoli R. Bone strength and its determinants. *Osteoporos Int* 2003;14:13–8.
- [2] Colopy SA, Benz-Dean J, Barrett JG, Sample SJ, Lu Y, Danova NA, et al. Response of the osteocyte syncytium adjacent to and distant from linear microcracks during adaptation to cyclic fatigue loading. *Bone* 2004;35:881–9.
- [3] Hazenberg JG, Taylor D, Lee TC. The role of osteocytes and bone microstructure in preventing osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2007;18:1–8.
- [4] Burr DB, Turner Ch, Naick P, Forwood MR, Ambrosius W, Hasan MS, et al. Does microdamage accumulation affect the mechanical properties of bone? *J Biomech* 1998;31:337–45.
- [5] Njeh CF, Boivin CM, Langton CM. The role of ultrasound in the assessment of osteoporosis: a review. *Osteoporos Int* 1997;7:7–22.
- [6] Nicholson PH, Buxsein ML. Quantitative ultrasound does not reflect mechanically induced damage in human cancellous bone. *J Bone Miner Res* 2000;15:2467–72.
- [7] Fournier B, Chappard C, Roux C, Berger G, Laugier P. Quantitative ultrasound imaging at the calcaneus using an automatic region of interest. *Osteoporos Int* 1997;7:363–9.
- [8] Gomez MA, Defontaine M, Giraudeau B, Camus E, Colin L, Laugier P, et al. In vivo performance of a matrix-based quantitative ultrasound imaging device dedicated to calcaneus investigation. *Ultrasound Med Biol* 2002;28:1285–93.
- [9] Camus E, Talmant M, Berger G, Laugier P. Analysis of axial transmission technique for the assessment of skeletal status. *J Acoust Soc Am* 2000;108:3058–65.
- [10] Guyer RA, Johnson PA. Nonlinear mesoscopic elasticity: evidence for a new class of materials. *Physics Today* 1999;52:30–5.
- [11] Nazarov VE, Ostrovsky LE, Soustova IA, Sutin A. Nonlinear acoustics of micro-inhomogeneous media. *Phys Earth Planetary Inter* 1999;50:65–73.

- [12] Renaud G, Callé S, Remeniéras JP, Defontaine M. Exploration of trabecular bone nonlinear elasticity using time-of-flight modulation. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectrics Freq Contr* 2008;55:1497–507.
- [13] Hans D, Dargent-Molina P, Schott AM, Sebert JL, Cormier C, Kotzki PO, et al. Ultrasonographic heel measurements to predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. *Lancet* 1996;348: 511–4.
- [14] Sone T, Imai Y, Tomomitsu T, Fukunaga M. Calcaneus as a site for the assessment of bone mass. *Bone* 1998;22:155S–7S.
- [15] Vico L, Lafage-Proust MH, Alexandre C. Effects of gravitational changes on the bone system in vitro and in vivo. *Bone* 1998;22:95S–100S.
- [16] Renaud G, Callé S, Defontaine M. Remonte dynamic acousto-elastic testing: elastic and dissipative acoustic nonlinearities measured under hydrostatic tension and compression. *Appl Phys Lett* 2009;94: 011905.
- [17] Moreschi H, Callé S, Guerard S, Mitton D, Renaud G, Defontaine M. Monitoring trabecular bone microdamage using a dynamic acousto-elastic testing method. *Proc Inst Mech Eng H* 2011;225:282–95.
- [18] Mitton D, Rappeneau J, Bardonnet R. Effect of supercritical CO₂ based treatment on mechanical properties of human cancellous bone. *Eur J Orthop Surg* 2005;15:264–9.
- [19] O'Brien FJ, Taylor D, Lee TC. Microcrack accumulation at different intervals during fatigue testing of compact bone. *J Biomech* 2003;36:973–80.
- [20] Nagaraja S, Couse TL, Guldborg RE. Trabecular bone microdamage and microstructural stresses under uniaxial compression. *J Biomech* 2005;38:707–16.

Bibliographie

- [1] M. J. Glimcher. The nature of the mineral component of bone and the mechanism of calcification. *Instr Course Lect*, 36 :49–69, 1987.
- [2] Richard Weinkamer and Peter Fratzl. Mechanical adaptation of biological materials—the examples of bone and wood. *Materials Science and Engineering : C*, 31(6) :1164 – 1173, 2011. `<ce :title>Principles and Development of Bio-Inspired Materials</ce :title>`.
- [3] K.S. Jensen, Lis Mosekilde, and Leif Mosekilde. A model of vertebral trabecular bone architecture and its mechanical properties. *Bone*, 11(6) :417 – 423, 1990.
- [4] H.S. Kim and S.T.S. Al-Hassani. A morphological model of vertebral trabecular bone. *Journal of Biomechanics*, 35(8) :1101 – 1114, 2002.
- [5] Lorna J. Gibson. Biomechanics of cellular solids. *Journal of Biomechanics*, 38(3) :377 – 399, 2005.
- [6] I. Singh. The architecture of cancellous bone. *J Anat*, 127(Pt 2) :305–310, Oct 1978.
- [7] W. J. Whitehouse and E. D. Dyson. Scanning electron microscope studies of trabecular bone in the proximal end of the human femur. *J Anat*, 118(Pt 3) :417–444, Dec 1974.
- [8] T. M. Link, A. Lotter, F. Beyer, S. Christiansen, D. Newitt, Y. Lu, C. Schmid, and S. Majumdar. Changes in calcaneal trabecular bone structure after heart transplantation : an mr imaging study. *Radiology*, 217(3) :855–862, Dec 2000.
- [9] Julius Wolff. The classic : on the inner architecture of bones and its importance for bone growth. 1870. *Clin Orthop Relat Res*, 468(4) :1056–1065, Apr 2010.
- [10] W. Roux. *Gesammelte Abhandlungen fiber Entwicklungsmechanik der Organismen*. Bd. 1. Leipzig : Engelmann, 1895.
- [11] Stefan Kirschner. Wilhelm roux’s concept of ‘developmental mechanics’. *Wurzburg Medizinhist Mitt*, 22 :67–80, 2003.
- [12] Meghan E. McGee-Lawrence and Jennifer J. Westendorf. Histone deacetylases in skeletal development and bone mass maintenance. *Gene*, 474(1-2) :1 – 11, 2011.
- [13] J. G. Hazenberg, M. Freeley, E. Foran, T. C. Lee, and D. Taylor. Microdamage : A cell transducing mechanism based on ruptured osteocyte processes. *Journal of Biomechanics*, 39(11) :2096 – 2103, 2006.
- [14] J. G. Hazenberg, D. Taylor, and T. C. Lee. The role of osteocytes and bone microstructure in preventing osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*, 18(1) :1–8, Jan 2007.

- [15] S. Mori and D.B. Burr. Increased intracortical remodeling following fatigue damage. *Bone*, 14(2) :103 – 109, 1993.
- [16] K.-I. Tsubota, Y. Suzuki, T. Yamada, M. Hojo, A. Makinouchi, and T. Adachi. Computer simulation of trabecular remodeling in human proximal femur using large-scale voxel fe models : Approach to understanding wolff’s law. *Journal of Biomechanics*, 42(8) :1088 – 1094, 2009.
- [17] H. Gierse. The cancellous structure in the calcaneus and its relation to mechanical stressing. *Anatomy and Embryology*, 150 :63–83, 1976. 10.1007/BF00346287.
- [18] T. E. Ciarelli, D. P. Fyhrie, M. B. Schaffler, and S. A. Goldstein. Variations in three-dimensional cancellous bone architecture of the proximal femur in female hip fractures and in controls. *J Bone Miner Res*, 15(1) :32–40, Jan 2000.
- [19] P. Zioupos, J. D. Currey, and A. J. Hamer. The role of collagen in the declining mechanical properties of aging human cortical bone. *J Biomed Mater Res*, 45(2) :108–116, May 1999.
- [20] J. K. Weaver and J. Chalmers. Cancellous bone : its strength and changes with aging and an evaluation of some methods for measuring its mineral content.ii. an evaluation of some methods for measuring osteoporosis. *J Bone Joint Surg Am*, 48(2) :299–308, Mar 1966.
- [21] M. Rupperecht, P. Pogoda, M. Mumme, J.M. Rueger, Klaus Püschel, and Michael Amling. Bone microarchitecture of the calcaneus and its changes in aging : a histomorphometric analysis of 60 human specimens. *J Orthop Res*, 24(4) :664–674, Apr 2006.
- [22] M. Ding. Age variations in the properties of human tibial trabecular bone and cartilage. *Acta Orthop Scand Suppl*, 292 :1–45, Jun 2000.
- [23] C. E. Hoffer, K. E. Moore, K. Kozloff, P. K. Zysset, and S. A. Goldstein. Age, gender, and bone lamellae elastic moduli. *J Orthop Res*, 18(3) :432–437, May 2000.
- [24] P. Zioupos. Ageing human bone : factors affecting its biomechanical properties and the role of collagen. *J. Biomater. Appl.*, 15(3) :187–229, 2001.
- [25] Lettre de l’observatoire du mouvement : Ostéoporoses, facteurs de risque et fractures, Mai 2002. Lettre d’information.
- [26] M. H. Lafage-Proust. Ostéomalacies. *Encycl Méd Chir*, 14-024-B-10, 2000.
- [27] D. O. Sillence and D. L. Rimoin. Classification of osteogenesis imperfecta. *The Lancet*, 311(8072) :1041 – 1042, 1978. Originally published as Volume 1, Issue 8072.
- [28] J.-P. Devogelaer. Les complications neurologiques de la maladie de paget. *Revue du Rhumatisme*, 70(8) :650 – 653, 2003.
- [29] J.C Souberbielle. Exploration biologique des pathologies osseuses et en particulier des ostéoporoses. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 18(2) :92 – 97, 2003.
- [30] J. C. Fritton and M. B. Schaffler. Bone quality. In Robert Marcus, David Feldman, Dorothy A. Nelson, and Clifford J. Rosen, editors, *Osteoporosis (Third Edition)*, pages 625 – 641. Academic Press, San Diego, third edition edition, 2008.
- [31] B. L. Riggs and L. J. Melton. Involutional osteoporosis. *N Engl J Med*, 314(26) :1676–1686, Jun 1986.

- [32] N. Harvey, E. Dennison, C. Cooper, and ASBMR. *Chapter 38. Epidemiology of Osteoporotic Fractures*, pages 197–203. John Wiley & Sons, Inc., 2009.
- [33] P. Guggenbuhl. Ostéoporose de l’homme et de la femme : est-ce vraiment différent ? *Revue du Rhumatisme*, 76(10-11) :952 – 958, 2009. 22e Congrès français de rhumatologie CNIT, Paris - La Défense, 29 et 30 novembre - 1er et 2 décembre 2009.
- [34] C.F. Njeh, D. Hans, T. Fuerst, C.C. Glüer, and H.K. Genant. *Quantitative Ultrasound : Assessment of Osteoporosis and Bone Status*. Martin Duntz Ltd, London, U.K., 1999.
- [35] S. L. Hui, C. W. Slemenda, and C. C. Johnston. Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. *J Clin Invest*, 81(6) :1804–1809, Jun 1988.
- [36] D. B. Burr, M. R. Forwood, D. P. Fyhrie, R. B. Martin, M. B. Schaffler, and C. H. Turner. Bone microdamage and skeletal fragility in osteoporotic and stress fractures. *J Bone Miner Res*, 12(1) :6–15, Jan 1997.
- [37] P. Ammann and R. Rizzoli. Bone strength and its determinants. *Osteoporosis International*, 14(0) :13–18, March 2003.
- [38] D. B. Burr, C. H. Turner, P. Naick, M. R. Forwood, W. Ambrosius, M. Sayeed Hasan, and R. Pidaparti. Does microdamage accumulation affect the mechanical properties of bone ? *Journal of Biomechanics*, 31(4) :337 – 345, 1998.
- [39] H.M. Frost. Presence of microscopic cracks in vivo in bone. *Henry Ford Hosp Med Bull*, 8 :25–35, 1960.
- [40] P. Muir and C. P. Ruaux-Mason. Microcrack density and length in the proximal and distal metaphyses of the humerus and radius in dogs. *Am J Vet Res*, 61(1) :6–8, Jan 2000.
- [41] N. L. Fazzalari, M. R. Forwood, B. A. Manthey, K. Smith, and P. Kolesik. Three-dimensional confocal images of microdamage in cancellous bone. *Bone*, 23(4) :373–378, Oct 1998.
- [42] T. L. Arthur Moore and L. J. Gibson. Microdamage accumulation in bovine trabecular bone in uniaxial compression. *J Biomech Eng*, 124(1) :63–71, Feb 2002.
- [43] D. B. Burr. The importance of subchondral bone in the progression of osteoarthritis. *J Rheumatol Suppl*, 70 :77–80, Apr 2004.
- [44] X. Banse, J.P. Devogelaer, D. Holmyard, and M. Gryn timer. Vertebral cancellous bone turn-over : Microcallus and bridges in backscatter electron microscopy. *Micron*, 36(7-8) :710 – 714, 2005. Bone structure in health and disease.
- [45] D. Vashishth. Hierarchy of bone microdamage at multiple length scales. *Int J Fatigue*, 29(6) :1024–1033, Jun 2007.
- [46] T. Diab and D. Vashishth. Morphology, localization and accumulation of in vivo microdamage in human cortical bone. *Bone*, 40(3) :612 – 618, 2007.
- [47] V. Bentolila, T. M. Boyce, D. P. Fyhrie, R. Drumb, T. M. Skerry, and M. B. Schaffler. Intracortical remodeling in adult rat long bones after fatigue loading. *Bone*, 23(3) :275 – 281, 1998.

- [48] Brendon S Noble, Nicky Peet, Hazel Y Stevens, Alex Brabbs, John R Mosley, Gwen-dolen C Reilly, Jonathan Reeve, Timothy M Skerry, and Lance E Lanyon. Mechanical loading : biphasic osteocyte survival and targeting of osteoclasts for bone destruction in rat cortical bone. *Am J Physiol Cell Physiol*, 284(4) :C934–C943, Apr 2003.
- [49] L. Cardoso, B. C. Herman, O. Verborgt, D. Laudier, R. J. Majeska, and M. B. Schaffler. Osteocyte apoptosis controls activation of intracortical resorption in response to bone fatigue. *J Bone Miner Res*, 24(4) :597–605, Apr 2009.
- [50] O. Verborgt, G. J. Gibson, and M. B. Schaffler. Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo. *J Bone Miner Res*, 15(1) :60–67, Jan 2000.
- [51] Olivier Verborgt, Nadine A Tatton, Robert J Majeska, and Mitchell B Schaffler. Spatial distribution of bax and bcl-2 in osteocytes after bone fatigue : complementary roles in bone remodeling regulation? *J Bone Miner Res*, 17(5) :907–914, May 2002.
- [52] B.C. Herman, L. Cardoso, R.J. Majeska, K.J. Jepsen, and M.B Schaffler. Activation of bone remodeling after fatigue : Differential response to linear microcracks and diffuse damage. *Bone*, 47(4) :766 – 772, 2010.
- [53] K. C. L. Lee, A. Maxwell, and L. E. Lanyon. Validation of a technique for studying functional adaptation of the mouse ulna in response to mechanical loading. *Bone*, 31(3) :407 – 412, 2002.
- [54] P. Tschantz and E. Rutishauser. The mechanical overloading of living bone : initial plastic deformations and adaptation hypertrophy. *Ann Anat Pathol (Paris)*, 12(3) :223–248, 1967.
- [55] T. Mashiba, T. Hirano, C. H. Turner, M. R. Forwood, C. C. Johnston, and D. B. Burr. Suppressed bone turnover by bisphosphonates increases microdamage accumulation and reduces some biomechanical properties in dog rib. *J Bone Miner Res*, 15(4) :613–620, Apr 2000.
- [56] T. Mashiba, C. H. Turner, T. Hirano, M. R. Forwood, C. C. Johnston, and D. B. Burr. Effects of suppressed bone turnover by bisphosphonates on microdamage accumulation and biomechanical properties in clinically relevant skeletal sites in beagles. *Bone*, 28(5) :524 – 531, 2001.
- [57] T. Hirano, C. H. Turner, M. R. Forwood, C. C. Johnston, and D. B. Burr. Does suppression of bone turnover impair mechanical properties by allowing microdamage accumulation? *Bone*, 27(1) :13 – 20, 2000.
- [58] M. B. Schaffler, K. Choi, and C. Milgrom. Aging and matrix microdamage accumulation in human compact bone. *Bone*, 17(6) :521 – 525, 1995.
- [59] S. Mori, R. Harruff, W. Ambrosius, and D. B. Burr. Trabecular bone volume and microdamage accumulation in the femoral heads of women with and without femoral neck fractures. *Bone*, 21(6) :521 – 526, 1997.
- [60] N. L. Fazzalari, J. S. Kuliwaba, and M. R. Forwood. Cancellous bone microdamage in the proximal femur : influence of age and osteoarthritis on damage morphology and regional distribution. *Bone*, 31(6) :697–702, Dec 2002.
- [61] T. L. Norman, Y. N. Yeni, C. U. Brown, and Z. Wang. Influence of microdamage on fracture toughness of the human femur and tibia. *Bone*, 23(3) :303 – 306, 1998.

- [62] J. D. Currey, K. Brear, and P. Zioupos. The effects of ageing and changes in mineral content in degrading the toughness of human femora. *Journal of Biomechanics*, 29(2) :257 – 260, 1996.
- [63] D. B. Burr. Microdamage and bone strength. *Osteoporosis International*, 14(0) :67–72, September 2003.
- [64] D. B. Burr and T. Stafford. Validity of the bulk-staining technique to separate artifactual from in vivo bone microdamage. *Clin Orthop Relat Res*, 260 :305–308, Nov 1990.
- [65] T. C. Lee, T. L. Arthur, L. J. Gibson, and W. C. Hayes. Sequential labelling of microdamage in bone using chelating agents. *J Orthop Res*, 18(2) :322–325, Mar 2000.
- [66] T. C. Lee, S. Mohsin, D. Taylor, R. Parkesh, T. Gunnlaugsson, F. J. O’Brien, M. Giehl, and W. Gowin. Detecting microdamage in bone. *J Anat*, 203(2) :161–172, Aug 2003.
- [67] T.C. Lee, E.R. Myers, and W.C. Hayes. Fluorescence-aided detection of microdamage in compact bone. *J Anat.*, 193 :179–184, 1998.
- [68] Nadder D Sahar, Sun-Ig Hong, and David H Kohn. Micro- and nano-structural analyses of damage in bone. *Micron*, 36(7-8) :617–629, 2005.
- [69] M.B. Schaffler, W.C. Pitchford, K. Choi, and J.M. Riddle. Examination of compact bone microdamage using back-scattered electron microscopy. *Bone*, 15(5) :483 – 488, 1994.
- [70] T. E. Wenzel, M. B. Schaffler, and D. P. Fyhrie. In vivo trabecular microcracks in human vertebral bone. *Bone*, 19(2) :89 – 95, 1996.
- [71] S. Mohsin, F.J. O’Brien, and T.C. Lee. Microcracks in compact bone : a three-dimensional view. *J Anat.*, 209 :119–124, 2006.
- [72] F. J. O’Brien, D. Taylor, G. R. Dickson, and T. C. Lee. Visualisation of three-dimensional microcracks in compact bone. *J Anat*, 197 Pt 3 :413–420, Oct 2000.
- [73] T.L. Norman and Z. Wang. Microdamage of human cortical bone : Incidence and morphology in long bones. *Bone*, 20 :375–379, 1997.
- [74] D. Vashishth, J. Koontz, S. J. Qiu, D. Lundin-Cannon, Y. N. Yeni, M. B. Schaffler, and D. P. Fyhrie. In vivo diffuse damage in human vertebral trabecular bone. *Bone*, 26(2) :147 – 152, 2000.
- [75] G.K. Parsamian and T.L. Norman. Diffuse damage accumulation in the fracture process zone of human cortical bone specimens and its influence on fracture toughness. *J Mater Sci. : Mater Med.*, 12 :779–783, 2001.
- [76] E. F. Wachtel and T. M. Keaveny. Dependence of trabecular damage on mechanical strain. *J Orthop Res*, 15(5) :781–787, Sep 1997.
- [77] Tara L Moore and Lorna J Gibson. Fatigue microdamage in bovine trabecular bone. *J Biomech Eng*, 125(6) :769–776, Dec 2003.
- [78] Mats Stenström, Birger Olander, Carl A. Carlsson, Gudrun Alm Carlsson, and Rolf Håkanson. Methodologic aspects of computed microtomography to monitor the development of osteoporosis in gastrectomized rats. *Academic Radiology*, 2(9) :785 – 791, 1995.

- [79] R. Müller, M. Hahn, M. Vogel, G. Delling, and P. Rüegsegger. Morphometric analysis of noninvasively assessed bone biopsies : Comparison of high-resolution computed tomography and histologic sections. *Bone*, 18(3) :215 – 220, 1996.
- [80] A. Odgaard. Three-dimensional methods for quantification of cancellous bone architecture. *Bone*, 20(4) :315 – 328, 1997.
- [81] E. Martín-Badosa, A. Elmoutaouakkil, S. Nuzzo, D. Amblard, L. Vico, and F. Peyrin. A method for the automatic characterization of bone architecture in 3d mice microtomographic images. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 27(6) :447 – 458, 2003.
- [82] Mats Stenström, Birger Olander, Daisy Lehto-Axtelius, Jan Erik Madsen, Lars Nord-sletten, and Gudrun Alm Carlsson. Bone mineral density and bone structure parameters as predictors of bone strength : an analysis using computerized microtomography and gastrectomy-induced osteopenia in the rat. *Journal of Biomechanics*, 33(3) :289 – 297, 2000.
- [83] I. Lima, M.J. Anjos, M.L.F. Farias, N. Parcegoni, D. Rosenthal, M.E.L. Duarte, and R.T. Lopes. Bone diagnosis by x-ray techniques. *European Journal of Radiology*, 68(3, Supplement 1) :S100 – S103, 2008. Proceedings of the 5th Medical Application of Synchrotron Radiation 2007.
- [84] S.Y. Tang and D. Vashishth. A non-invasive in vitro technique for the three-dimensional quantification of microdamage in trabecular bone. *Bone*, 40(5) :1259 – 1264, 2007.
- [85] Xiang Wang, Daniel B. Masse, Huijie Leng, Kevin P. Hess, Ryan D. Ross, Ryan K. Roeder, and Glen L. Niebur. Detection of trabecular bone microdamage by micro-computed tomography. *Journal of Biomechanics*, 40(15) :3397 – 3403, 2007.
- [86] Matthew D. Landrigan, Jiliang Li, Travis L. Turnbull, David B. Burr, Glen L. Niebur, and Ryan K. Roeder. Contrast-enhanced micro-computed tomography of fatigue microdamage accumulation in human cortical bone. *Bone*, 48(3) :443 – 450, 2011.
- [87] P.J. Thurner, P. Wyss, R. Voide, M. Stauber, M. Stampanoni, U. Sennhauser, and R. Müller. Time-lapsed investigation of three-dimensional failure and damage accumulation in trabecular bone using synchrotron light. *Bone*, 39(2) :289 – 299, 2006.
- [88] Raman Parkesh, Wolfgang Gowin, T. Clive Lee, and Thorfinnur Gunnlaugsson. Synthesis and evaluation of potential ct (computer tomography) contrast agents for bone structure and microdamage analysis. *Org Biomol Chem*, 4(19) :3611–3617, Oct 2006.
- [89] R. Voide, P. Schneider, M. Stauber, P. Wyss, M. Stampanoni, U. Sennhauser, G. H. van Lenthe, and R. Müller. Time-lapsed assessment of microcrack initiation and propagation in murine cortical bone at submicrometer resolution. *Bone*, 45(2) :164–173, Aug 2009.
- [90] J. D. Currey and K. Brear. Fractal analysis of compact bone and antler fractures surfaces. *Biomimetics*, 1 :103–118, 1992.
- [91] T. Clive Lee, Fergal J. O’Brien, and David Taylor. The nature of fatigue damage in bone. *International Journal of Fatigue*, 22(10) :847 – 853, 2000.

- [92] Aymeric Larrue. *Observation et quantification tridimensionnelle de microfissures de l'os trabéculaire par microtomographie Synchrotron*. PhD thesis, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 2010.
- [93] T. M. Keaveny, T. P. Pinilla, R. P. Crawford, D. L. Kopperdahl, and A. Lou. Systematic and random errors in compression testing of trabecular bone. *J Orthop Res*, 15(1) :101–110, Jan 1997.
- [94] P.K. Zysset and A. Curnier. A 3d damage model for trabecular bone based on fabric tensors. *Journal of Biomechanics*, 29(12) :1549 – 1558, 1996.
- [95] M. Fondrk, E. Bahniuk, D. T. Davy, and C. Michaels. Some viscoplastic characteristics of bovine and human cortical bone. *J Biomech*, 21(8) :623–630, 1988.
- [96] Tony M. Keaveny, Edward F. Wachtel, X.Edward Guo, and Wilson C. Hayes. Mechanical behavior of damaged trabecular bone. *Journal of Biomechanics*, 27(11) :1309 – 1318, 1994.
- [97] D. R. Carter and W. C. Hayes. Compact bone fatigue damage-i. residual strength and stiffness. *J Biomech*, 10(5-6) :325–337, 1977.
- [98] T. M. Boyce, D. P. Fyhrie, M. C. Glotkowski, E. L. Radin, and M. B. Schaffler. Damage type and strain mode associations in human compact bone bending fatigue. *J Orthop Res*, 16(3) :322–329, May 1998.
- [99] Gwendolen C. Reilly and John D. Currey. The effects of damage and microcracking on the impact strength of bone. *Journal of Biomechanics*, 33(3) :337 – 343, 2000.
- [100] D. W. Dempster. The contribution of trabecular architecture to cancellous bone quality. *J Bone Miner Res*, 15(1) :20–23, Jan 2000.
- [101] Karl J. Jepsen, Dwight T. Davy, and David J. Krzyrow. The role of the lamellar interface during torsional yielding of human cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 32(3) :303 – 310, 1999.
- [102] E. C. Mirsky and T. A. Einhorn. Bone densitometry in orthopaedic practice. *J Bone Joint Surg Am*, 80(11) :1687–1698, Nov 1998.
- [103] K. G. Faulkner. Bone matters : are density increases necessary to reduce fracture risk? *J Bone Miner Res*, 15(2) :183–187, Feb 2000.
- [104] B. R. McCreadie and S. A. Goldstein. Biomechanics of fracture : is bone mineral density sufficient to assess risk? *J Bone Miner Res*, 15(12) :2305–2308, Dec 2000.
- [105] S Herlidou, R Grebe, F Grados, N Leuyer, P Fardellone, and M.-E Meyer. Influence of age and osteoporosis on calcaneus trabecular bone structure : a preliminary in vivo mri study by quantitative texture analysis. *Magnetic Resonance Imaging*, 22(2) :237 – 243, 2004.
- [106] Éric Lespessailles, Christine Chappard, Nicolas Bonnet, and Claude Laurent Benhamou. Imagerie de la microarchitecture osseuse. *Revue du Rhumatisme*, 73(5) :435 – 443, 2006. JOURNEES NATIONALES DE RHUMATOLOGIE - SAINT-ETIENNE,5-6 MAI 2006.
- [107] James F. Griffith and Harry K. Genant. Bone mass and architecture determination : state of the art. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 22(5) :737 – 764, 2008. Osteoporosis.

- [108] C.L Benhamou, L Pothuau, and E Lespessailles. Caractérisation de la microarchitecture trabéculaire osseuse par analyse de texture. *ITBM-RBM*, 21(6) :351 – 358, 2000.
- [109] Bernard Cortet. Diagnostic de l’ostéoporose : quels examens biologiques faut-il faire ? *La Presse Médicale*, 35(10, Part 2) :1540 – 1542, 2006. <ce :title>Dossier thématique : Ostéoporose</ce :title>.
- [110] P. Garnero. Nouveaux marqueurs biologiques du remodelage osseux dans l’ostéoporose. *Médecine Nucléaire*, 33(1) :17 – 27, 2009.
- [111] E. W. Gregg, A. M. Kriska, L. M. Salamone, M. M. Roberts, S. J. Aderson, R. E. Ferrell, L. H. Kuller, and J. A. Cauley. The epidemiology of quantitative ultrasound : A review of the relationships with bone mass, osteoporosis and fracture risk. *Osteoporosis International*, 7 :89–99, 1997. 10.1007/BF01623682.
- [112] P. Laugier. Ostéoporose et mesure de la résistance osseuse par ultrasons. *ITBM-RBM*, 21(6) :341 – 350, 2000.
- [113] Christiano Bittencourt Machado, Wagner Coelho de A. Pereira, Mathilde Granke, Maryline Talmant, Frédéric Padilla, and Pascal Laugier. Experimental and simulation results on the effect of cortical bone mineralization in ultrasound axial transmission measurements : A model for fracture healing ultrasound monitoring. *Bone*, 48(5) :1202 – 1209, 2011.
- [114] L.A. Ostrovsky and P.A. Johnson. Dynamic nonlinear elasticity in geomaterials. *Nuovo Cimento Rivista Serie*, 24(7) :070000–46, July 2001.
- [115] Pawel A. Nawrocki, Maurice B. Dusseault, and Rolf K. Bratli. Use of uniaxial compression test results in stress modelling around openings in nonlinear geomaterials. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 21(1-2) :79 – 94, 1998.
- [116] K. R. McCall and R. A. Guyer. Equation of state and wave propagation in hysteretic nonlinear elastic materials. *J. Geophys. Res.*, 99(B12) :23887–23897, 1994.
- [117] R. A. Guyer, K. R. McCall, and G. N. Boitnott. Hysteresis, discrete memory, and nonlinear wave propagation in rock : A new paradigm. *Phys. Rev. Lett.*, 74(17) :3491–3494, Apr 1995.
- [118] R.A. Guyer and P.A. Johnson. Nonlinear mesoscopic elasticity : evidence for a new class of materials. *Physics Today*, 52 :30–35, 1999.
- [119] Vitalyi Gusev and Vladislav Aleshin. Strain wave evolution equation for nonlinear propagation in materials with mesoscopic mechanical elements. *J Acoust Soc Am*, 112(6) :2666–2679, Dec 2002.
- [120] R. A. Toupin and B. Bernstein. Sound waves in deformed perfectly elastic materials. acoustoelastic effect. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 33(2) :216–225, 1961.
- [121] Yih-Hsing Pao and Udo Gamer. Acoustoelastic waves in orthotropic media. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 77(3) :806–812, 1985.
- [122] Peter B. Nagy. Fatigue damage assessment by nonlinear ultrasonic materials characterization. *Ultrasonics*, 36(1-5) :375 – 381, 1998. <ce :title>Ultrasonics International 1997</ce :title>.

- [123] David Linton Johnson, Hernán A Makse, Nicolas Gland, and Lawrence Schwartz. Nonlinear elasticity of granular media. *Physica B : Condensed Matter*, 279 :134 – 138, 2000.
- [124] H.E. Engan, K.A. Ingebrigtsen, K.G. Oygarden, E.K. Hagen, and L. Hoff. Nonlinear ultrasound detection of osteoporosis. *Ultrasonics Symposium, 2006. IEEE*, 2006.
- [125] G. Renaud, S. Callé, J.P. Remenieras, and M. Defontaine. Non-linear acoustic measurements to assess crack density in trabecular bone. *International Journal of Non-Linear Mechanics*, 43(3) :194 – 200, 2008. 11th International Workshop on Nonlinear Elasticity in Materials.
- [126] K. Van Den Abeele and J. De Visscher. Damage assessment in reinforced concrete using spectral and temporal nonlinear vibration techniques. *Cement and Concrete Research*, 30 :1453–1464, 2000.
- [127] K. Van Den Abeele, P. Y. Le Bas, B. Van Damme, and T. Katkowski. Quantification of material nonlinearity in relation to microdamage density using nonlinear reverberation spectroscopy : Experimental and theoretical study. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 126(3) :963–972, 2009.
- [128] K. E.-A. Van Den Abeele, , P. A. Johnson, and A. Sutin. Nonlinear elastic wave spectroscopy (news) techniques to discern material damage, part i : Nonlinear wave modulation spectroscopy (nwms). *Research in Nondestructive Evaluation*, 12(1) :17–30, 2000.
- [129] Marie Muller, Alexander Sutin, Robert Guyer, Maryline Talmant, Pascal Laugier, and Paul A Johnson. Nonlinear resonant ultrasound spectroscopy (nrus) applied to damage assessment in bone. *J Acoust Soc Am*, 118(6) :3946–3952, Dec 2005.
- [130] M. Muller, A. D’Hanens, D. Mitton, M. Talmant, P. Johnson, and P. Laugier. Fatigue damage in cortical bone detected using nonlinear ultrasound. *Journal of Biomechanics*, 39(Supplement 1) :S8 – S8, 2006. Abstracts of the 5th World Congress of Biomechanics.
- [131] M. Muller, D. Mitton, M. Talmant, P. Johnson, and P. Laugier. Nonlinear ultrasound can detect accumulated damage in human bone. *Journal of Biomechanics*, 41(5) :1062 – 1068, 2008.
- [132] G. Renaud, S. Callé, J.P. Remenieras, and M. Defontaine. Exploration of trabecular bone nonlinear elasticity using time-of-flight modulation. *Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, IEEE Transactions on*, 55(7) :1497 –1507, July 2008.
- [133] G. Renaud, S. Callé, and M. Defontaine. Remote dynamic acoustoelastic testing : Elastic and dissipative acoustic nonlinearities measured under hydrostatic tension and compression. *Applied Physics Letters*, 94(1) :011905, 2009.
- [134] C. Truesdell. *The Mechanical Foundations of Elasticity and Fluid Dynamics*. Gordon and Breach, New York, 1966.
- [135] Roberto Paroni and Chi-Sing Man. Two mechanical models in acoustoelasticity : a comparative study, 1991.
- [136] D. S. Hughes and J. L. Kelly. Second-order elastic deformation of solids. *Phys. Rev.*, 92(5) :1145–1149, December 1953.

- [137] F. D. Murnaghan. Finite deformations of an elastic solid. *American Journal of Mathematics*, 59(2) :pp. 235–260, 1937.
- [138] Yamina Aimene. *Approche hyperélastique pour la simulation des renforts fibreux en grandes transformations*. PhD thesis, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, Novembre 2007.
- [139] R. T. Beyer. Parameter of nonlinearity in fluids. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 32(6) :719–721, 1960.
- [140] C. M. Sehgal, R. C. Bahn, and J. F. Greenleaf. Measurement of the acoustic nonlinearity parameter b/a in human tissues by a thermodynamic method. *J Acoust Soc Am*, 76(4) :1023–1029, Oct 1984.
- [141] A. P. Sarvazyan, T. V. Chalikian, and F. Dunn. Acoustic nonlinearity parameter b/a of aqueous solutions of some amino acids and proteins. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 88(3) :1555–1561, 1990.
- [142] Dugué S. Emery J., Gasse S. Coefficient de non-linéarité acoustique dans les mélanges eau-méthanol et eau-éthanol. *J. Phys. Colloques*, 40(C8) :C8–231 – C8–234, Novembre 1979.
- [143] Beyer. *Nonlinear acoustics*. Navy Sea Systems Command, Washington, D.C., 1974.
- [144] Andrew N. Norris, Bikash K. Sinha, and Sergio Kostek. Acoustoelasticity of solid/fluid composite systems. *Geophysical Journal International*, 118(2) :439–446, 1994.
- [145] Michael A. Grinfeld and Andrew N. Norris. Acoustoelasticity theory and applications for fluid-saturated porous media. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 100(3) :1368–1374, 1996.
- [146] P. A. Johnson and P. N. J. Rasolofosaon. Nonlinear elasticity and stress-induced anisotropy in rock. *J. Geophys. Res.*, 101(B2) :3113–3124, 1996.
- [147] Maria Zamarova. *Etude expérimentale de l’effet de la géométrie de la porosité des roches sur la vitesse des ondes élastiques*. PhD thesis, université Paris VII, 1990.
- [148] NI Geza, GV Egorov, YV Mkrtumyan, and VI Yushin. Experimental study of instant variations in velocity and attenuation of seismic waves in a friable medium in situ under a pulse dynamic load. *GEOLOGIYA I GEOFIZIKA*, 42(7) :1137–1146, 2001.
- [149] L. D. Landau and E. M. Lifshitz. *Theory of elasticity*. Pergamon, Oxford, 1959.
- [150] Nobuyuki Ichida, Takuso Sato, and Melvin Linzer. Imaging the nonlinear ultrasonic parameter of a medium. *Ultrasonic Imaging*, 5(4) :295 – 299, 1983.
- [151] G. Renaud. *Mesure de non-linéarités élastiques et dissipatives par interaction d’ondes acoustiques : application à la quantification du micro-endommagement de l’os trabéculaire*. PhD thesis, Université François Rabelais, Octobre 2008.
- [152] P. A. Jonhson and T. J. Shankland. Nonlinear generation of elastic waves in granite and sandstone : continuous wave and travel time observations. *Journal of Geophysycal Research*, 94(B12) :17729–17733, 1989.
- [153] David Stobbe. *Acoustoelasticity in 7075-T651 Aluminium and Dependence of Third Order Elastic Constants on Fatigue Damage*. PhD thesis, School of Mechanical Engineering Georgia Institute of Technology, August 2005.

- [154] I. Céspedes, Y. Huang, J. Ophir, and S. Spratt. Methods for estimation of subsample time delays of digitized echo signals. *Ultrason Imaging*, 17(2) :142–171, Apr 1995.
- [155] M. F. Hamilton and D. T. Blackstok. *Nonlinear acoustics*. 1998.
- [156] D. Mitton, J. Rappeneau, and R. Bardonnet. Effect of a supercritical co2 based treatment on mechanical properties of human cancellous bone. *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology*, 15(4) :264–269, December 2005.
- [157] <http://www.biobank.fr/index.php>.
- [158] P. Zioupos, J. D. Currey, and A. J. Sedman. An examination of the micromechanics of failure of bone and antler by acoustic emission tests and laser scanning confocal microscopy. *Medical Engineering & Physics*, 16(3) :203 – 212, 1994.
- [159] P. Zioupos. Accumulation of in-vivo fatigue microdamage and its relation to biomechanical properties in ageing human cortical bone. *J Microsc*, 201(Pt 2) :270–278, Feb 2001.
- [160] Fergal J. O'Brien, David Taylor, and T. Clive Lee. An improved labelling technique for monitoring microcrack growth in compact bone. *Journal of Biomechanics*, 35(4) :523 – 526, 2002.
- [161] Srinidhi Nagaraja, Mario D. Ball, and Robert E. Guldborg. Time-dependent damage accumulation under stress relaxation testing of bovine trabecular bone. *International Journal of Fatigue*, 29(6) :1034 – 1038, 2007.
- [162] F. Tranquart, J.-M. Correas, and A. Bouakaz. *Echographie de Contraste : Methodologie Et Applications Cliniques*. Springer, 2007.
- [163] Anthony Novell. *Imagerie de contraste ultrasonore avec transducteurs capacitifs micro-usinés*. PhD thesis, Université François Rabelais, Juillet 2011.
- [164] Nico de Jong, Marcia Emmer, Chien Ting Chin, Ayache Bouakaz, Frits Mastik, Detlef Lohse, and Michel Versluis. "compression-only" behavior of phospholipid-coated contrast bubbles. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 33(4) :653 – 656, 2007.
- [165] Alexis J. L. Dumortier. *Investigation of a medium with a large, negative parameter of nonlinearity and its application to the enhancement of a compact, omnidirectional, parametric source*. PhD thesis, School of Mechanical Engineering Georgia Institute of Technology, 2004.
- [166] Laurent Rapillard, Mathieu Charlebois, and Philippe K. Zysset. Compressive fatigue behavior of human vertebral trabecular bone. *Journal of Biomechanics*, 39(11) :2133 – 2139, 2006.
- [167] S. Dendorfer, H.J. Maier, D. Taylor, and J. Hammer. Anisotropy of the fatigue behaviour of cancellous bone. *Journal of Biomechanics*, 41(3) :636 – 641, 2008.
- [168] S. Dendorfer, H. J. Maier, and J. Hammer. Fatigue damage in cancellous bone : An experimental approach from continuum to micro scale. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2(1) :113 – 119, 2009.
- [169] S. Callé. *Application de la force de radiation ultrasonore à l'imagerie d'élasticité des tissus biologiques*. PhD thesis, Université François Rabelais, Décembre 2003.
- [170] T. Goursolle, S. Callé, S. Dos Santos, and O. Bou Matar. A two-dimensional pseudospectral model for time reversal and nonlinear elastic wave spectroscopy. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 122(6) :3220–3229, 2007.

- [171] E. Filoux, S. Calle, D. Certon, M. Lethiecq, and F. Levassort. Modeling of piezoelectric transducers with combined pseudospectral and finite-difference methods. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 123(6) :4165–4173, 2008.
 - [172] C. Bastard, J.-P. Remeni  ras, S. Call  , and L. Sandrin. Simulation of shear wave propagation in a soft medium using a pseudospectral time domain method. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 126(4) :2108–2116, 2009.
 - [173] H. O. Kreiss and J. Oliger. Comparison of accurate methods for the integration of hyperbolic equations. *Tellus*, 24(3) :199–215, 1972.
 - [174] D. D. Kosloff and E. Baysal. Forward modeling by a fourier method. *Geophysics*, 47(10) :1402–1412, 1982.
 - [175] Bengt Fornberg. The pseudospectral method : Comparisons with finite differences for the elastic wave equation. *Geophysics*, 52(4) :483–501, 1987.
 - [176] Q. H. Liu. The pstd algorithm : A time-domain method requiring only two cells per wavelength. *Microwave and Optical Technology Letters*, 15(3) :158–165, 1997.
 - [177] J.-P. Berenger. A perfectly matched layer for the absorption of electromagnetic waves. *J. Comput. Phys.*, 114(2) :185–200, October 1994.
 - [178] X. Yuan, D. Borup, J. W. Wiskin, M. Berggren, R. Eidens, and S. A. Johnson. Formulation and validation of berenger’s pml absorbing boundary for the fdtd simulation of acoustic scattering. *Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, IEEE Transactions on*, 44(4) :816 – 822, July 1997.
 - [179] M. E. Anderson. A 2d nonlinear wave propagation solver written in open-source matlab code. *Ultrasonics Symposium, 2000 IEEE*, 2 :1351 – 1354, October 2000.
 - [180] W. H. Chew, W. C. and Weedon. A 3d perfectly matched medium from modified maxwell’s equations with stretched coordinates. *Microwave and Optical Technology Letters*, 7(13) :599–604, 1994.
 - [181] M. Ghrist, B. Fornberg, and T. A. Driscoll. Staggered time integrators for wave equations. *SIAM Journal on Numerical Analysis*, 38(3) :718–741, 2000.
 - [182] E. Bossy, M. Talmant, and P. Laugier. Effect of bone cortical thickness on velocity measurements using ultrasonic axial transmission : a 2d simulation study. *J Acoust Soc Am*, 112(1) :297–307, Jul 2002.
 - [183] Y. Nagatani, K. Mizuno, T. Saeki, M. Matsukawa, T. Sakaguchi, and H. Hosoi. Numerical and experimental study on the wave attenuation in bone – fdtd simulation of ultrasound propagation in cancellous bone. *Ultrasonics*, 48 :607 – 612, 2008.
- <ce :title>Selected Papers from ICU 2007</ce :title>.

Résumé :

La problématique du vieillissement pathologique du tissu osseux (ostéoporose) est un enjeu important de santé publique. La densité minérale osseuse est considérée comme un des facteurs principaux affectant cette dégénérescence tissulaire, sans toutefois expliquer complètement le risque fracturaire. L'accumulation du micro-endommagement en lien avec cette pathologie présente un nouvel angle d'investigation intéressant. Dans ce contexte, une méthode d'acousto-élasticité dynamique (DAET) associant une onde acoustique basse fréquence et des impulsions ultrasonores a été développée au laboratoire pour la quantification du micro-endommagement dans l'os trabéculaire. La DAET permet de mesurer les non-linéarités élastiques et dissipatives, respectivement associées aux variations de temps de vol et d'amplitude des impulsions pour différents états de contrainte basse fréquence auxquels est soumis le tissu osseux.

Ce travail a consisté à étudier la sensibilité et la reproductibilité de l'approche DAET à détecter/quantifier *in vitro* le niveau de micro-endommagement -natif ou induit mécaniquement par fatigue en compression- dans des échantillons osseux trabéculaires issus de calcaneums humains. De forts niveaux de non-linéarités acoustiques ont toujours été corrélés à une densité de micro-endommagements importante (analyse histologique). La présence de microbulles d'air (fortement non linéaires) et l'apparition d'un phénomène de conditionnement des échantillons par l'onde acoustique basse-fréquence ont tempéré la reproductibilité de l'approche DAET. Cette difficulté ne remet toutefois pas en cause la pertinence de cette méthode dans le cadre d'une application *in vivo* de la mesure DAET.

Abstract :

Bone tissue pathological aging (osteoporosis) is an important public health issue. Bone mineral density (BMD) is considered as a major factor of the bone tissue strength, but does not fully explain the fracture risk. The accumulation of microdamage in connection with this disease open up an interesting perspective of investigation. In this context, a dynamic acoustoelastic testing (DAET) method associating a low frequency acoustic wave and ultrasonic pulses was developed in the laboratory to quantify microdamage in trabecular bone.

The purpose of this work was to assess the sensitivity and the reproducibility of the DAET approach to monitor *in vitro* (either native or mechanically induced fatigue) microdamage in trabecular samples extracted from human calcanei.

High levels of acoustic nonlinearities were always correlated with a high density of microdamage (histological analysis). Nevertheless, the presence of highly nonlinear air bubbles and conditioning effects induced by the low-frequency wave moderated the DAET reproducibility. This difficulty, however, does not question the relevance of this method for *in vivo* DAET application.