



HAL
open science

Contribution de la microarchitecture osseuse et de son hétérogénéité au comportement mécanique vertébral : étude ex-vivo à partir de vertèbres humaines l3

Julien Wegrzyn

► **To cite this version:**

Julien Wegrzyn. Contribution de la microarchitecture osseuse et de son hétérogénéité au comportement mécanique vertébral : étude ex-vivo à partir de vertèbres humaines l3. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2010. Français. NNT : 2010LYO10144 . tel-00703704

HAL Id: tel-00703704

<https://theses.hal.science/tel-00703704>

Submitted on 4 Jun 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON 1

- Année 2010 -

ECOLE DOCTORALE MEGA

**CONTRIBUTION DE LA MICROARCHITECTURE OSSEUSE
ET DE SON HETEROGENEITE
AU COMPORTEMENT MECANIQUE VERTEBRAL :
ETUDE *EX-VIVO* A PARTIR DE VERTEBRES HUMAINES L3**

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

Thèse soutenue publiquement le 3 septembre 2010

par

Julien WEGRZYN

- Interne des Hôpitaux de Lyon -

Directeur de Thèse : Monsieur le Professeur Roland CHAPURLAT

Co-Directeur : Monsieur le Professeur Olivier GUYEN

Jury :

Monsieur le Professeur Jean-Marc FERON (*Président*)

Monsieur le Professeur Roland CHAPURLAT

Monsieur le Professeur Jacques BEJUI-HUGUES

Monsieur le Professeur Jean-Paul CARRET

Monsieur le Professeur Serge FERRARI

Monsieur le Professeur Olivier GUYEN

Madame le Docteur Monique ARLOT

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Vice-président du Conseil Scientifique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Secrétaire Général

M. le Professeur L. Collet

M. le Professeur J-F. Mornex

M. le Professeur G. Annat

M. le Professeur D. Simon

M. G. Gay

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine Lyon Sud – Charles Mérieux

UFR d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de Réadaptation

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. Etienne

Directeur : M. le Professeur F-N. Gilly

Directeur : M. le Professeur D. Bourgeois

Directeur : M. le Professeur F. Locher

Directeur : M. le Professeur Y. Matillon

Directeur : M. le Professeur P. Farge

COMPOSANTES SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire de Lyon

Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon

Institut Universitaire de Technologie A

Institut Universitaire de Technologie B

Institut de Science Financière et d'Assurance

Institut Universitaire de Formation des Maîtres

Directeur : M. Le Professeur F. Gieres

Directeur : M. C. Collignon

Directeur : M. B. Guiderdoni

Directeur : M. le Professeur J. Lieto

Directeur : M. le Professeur C. Coulet

Directeur : M. le Professeur R. Lamartine

Directeur : M. le Professeur J-C. Augros

Directeur : M. R. Bernard

A la mémoire de Monsieur le Professeur Pierre Delmas

A Marie,
Pour tout l'amour et le soutien que tu m'apportes

A toute ma famille,
Je vous témoigne toute ma reconnaissance

A Jean-Paul III,
Très Saint Père de l'Unité 831,
Sans ton aide et tes conseils, ce travail n'aurait pas été possible
A tous nos moments de franche rigolade au labo ou lors des G 3-4
Merci pour tout ce que tu as fait pour moi...

A tous les membres de l'Unité 831,
Merci pour votre accueil chaleureux
Et pour votre aide dans la réalisation de ce travail

COMPOSITION DU JURY

Directeur : Monsieur le Professeur Roland CHAPURLAT

Co-directeur : Monsieur le Professeur Olivier GUYEN

Président : Monsieur le Professeur Jean-Marc FERON

Membres :

Monsieur le Professeur Jean-Marc FERON

Monsieur le Professeur Roland CHAPURLAT

Monsieur le Professeur Jacques BEJUI-HUGUES

Monsieur le Professeur Jean-Paul CARRET

Monsieur le Professeur Serge FERRARI

Monsieur le Professeur Olivier GUYEN

Madame le Docteur Monique ARLOT

RAPPORTEURS

Madame le Docteur Mary L. Bouxsein, PhD

Assistant Professor

Department of Orthopaedic Surgery

Center for Advanced Orthopaedic Studies, RN115

Harvard Medical School and Beth Israel Deaconess Medical Center

330 Brookline Ave, Boston, MA 02215

USA

ph: 617-667-4594 / fax: 617-667-7175

mbouxsei@bidmc.harvard.edu

Monsieur le Professeur Serge Ferrari, MD

Professor of Medicine

Geneva University Hospital and Faculty of Medicine

Department of Rehabilitation and Geriatrics – Division of Bone Diseases

WHO Collaborating Center for Osteoporosis Prevention

24, rue Micheli du Crest. Geneva, 1211

Switzerland

ph: 41-223829952 / fax: 41-223829973

serge.ferrari@unige.ch

REMERCIEMENTS

A nos Directeurs de Thèse,

Messieurs les Professeurs Roland Chapurlat et Olivier Guyen

Nous vous remercions pour la confiance et le soutien que vous nous avez accordés dans la réalisation de ce travail. Puisse-t-il ne pas vous décevoir.

A notre Président du Jury,

Monsieur le Professeur Jean-Marc Féron

C'est un immense honneur que vous présidiez notre Jury. Nous vous en remercions. Soyez assuré que nous serons sensibles à vos remarques.

A nos rapporteurs,

Madame le Docteur Mary Boussein

Working with you was a real chance and a great honor for me. I would want to thank you again for all that you have done for me. I hope this work will not disappoint you.

Monsieur le Professeur Serge Ferrari

Nous vous remercions d'avoir accepté d'être rapporteur de notre travail et ainsi, de nous faire bénéficier de vos connaissances. Nous sommes fiers de vous compter parmi les membres de notre Jury.

A nos Maîtres de Chirurgie Orthopédique,

Messieurs les Professeurs Jacques Bėjui-Hugues et Jean-Paul Carret

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de lire et de juger notre travail. Nous sommes fiers de vous compter parmi les membres de notre Jury. Nous vous en remercions et serons très sensibles à vos remarques.

A Madame le Docteur Monique Arlot

Nous vous devons toutes nos connaissances dans le domaine de l'os. Vous avez su ouvrir nos esprits et nous donner la confiance suffisante pour la réalisation de ce travail. Merci de nous avoir si bien guidés depuis le début et d'accepter, maintenant, de juger notre travail. Nous vous assurons de notre profond respect, du plaisir que nous avons eu à travailler à vos côtés et de la joie que nous avons de vous compter parmi les membres de notre Jury. Puisse ce travail ne pas vous décevoir et voyez-y tout le témoignage de notre reconnaissance.

Introduction	- 2 -
Première partie : Matériel et Méthodes. Techniques utilisées	- 8 -
I. <i>Définitions et Techniques Utilisées</i>	<i>- 9 -</i>
A. La vertèbre L3	- 9 -
B. Biomécanique	- 10 -
C. Conservation des cadavres et des pièces osseuses	- 13 -
D. L'ostéodensitométrie biphotonique à rayons X	- 14 -
E. Tomographie quantitative périphérique 3 D à haute résolution ou HR - pQCT	- 16 -
F. Microtomographie ou μ -CT	- 18 -
G. Evaluation de la microarchitecture	- 19 -
II. <i>Protocole Expérimental.....</i>	<i>- 24 -</i>
A. Prélèvement des blocs lombaires	- 24 -
B. Conservation des blocs lombaires.....	- 25 -
C. Qualité des vertèbres.....	- 25 -
D. Dissection des vertèbres.....	- 26 -
E. Ostéodensitométrie par DXA.....	- 27 -
F. Préparation des vertèbres L3 à l'acquisition de la microarchitecture et aux tests mécaniques	- 28 -
G. Acquisition de la microarchitecture et de son hétérogénéité	- 29 -
H. Tests mécaniques sur les vertèbres L3.....	- 32 -
I. Déroulement des essais de compression et mesures.....	- 36 -
Deuxième partie : Résultats.....	- 39 -
I. <i>Contribution relative de la microarchitecture trabéculaire et corticale au comportement mécanique vertébral</i>	<i>- 41 -</i>
II. <i>Rôle de l'hétérogénéité de la microarchitecture trabéculaire dans la prédiction du comportement mécanique vertébral</i>	<i>- 49 -</i>
III. <i>Déterminants du comportement mécanique vertébral post-fracturaire.....</i>	<i>- 84 -</i>
Troisième partie : Conclusions et Perspectives	- 114 -
Références	- 123 -
Annexes	- 132 -
I. <i>Annexe 1.....</i>	<i>- 133 -</i>
II. <i>Annexe 2</i>	<i>- 135 -</i>
III. <i>Annexe 3.....</i>	<i>- 136 -</i>
IV. <i>Annexe 4</i>	<i>- 137 -</i>

INTRODUCTION

L'ostéoporose est une maladie du squelette caractérisée par une dégradation de la qualité osseuse conduisant à une majoration du risque fracturaire ^(1, 2). Les régions les plus fréquemment atteintes sont la colonne vertébrale, le col du fémur et le poignet ^(1,2). Une femme sur trois et un homme sur cinq de plus de 50 ans présenteront une fracture ostéoporotique. Le seul examen permettant actuellement de prédire ce risque de fracture chez l'homme est l'ostéodensitométrie à double rayonnement X (DXA) qui permet de mesurer le contenu de minéral (*BMC* ou *Bone Mineral Content*, en g) et la densité minérale osseuse (*BMD* ou *Bone Mineral Density*, en g/cm²). La mesure de la densité minérale osseuse est considérée comme un reflet de la quantité d'os. Les résultats sont exprimés en écart-type (T score) par rapport à une population jeune (30 ans). Est considéré comme étant ostéoporotique, tout sujet présentant un T score inférieur à - 2,5 déviations standards (données de l'OMS) ⁽²⁻⁴⁾. Cependant, plus de 50% des sujets qui se fracturent ne sont pas ostéoporotiques suivant cette définition ; la plupart sont ostéopéniques (T score compris entre -1 et -2,5) (**Figure 1**) ⁽³⁾.

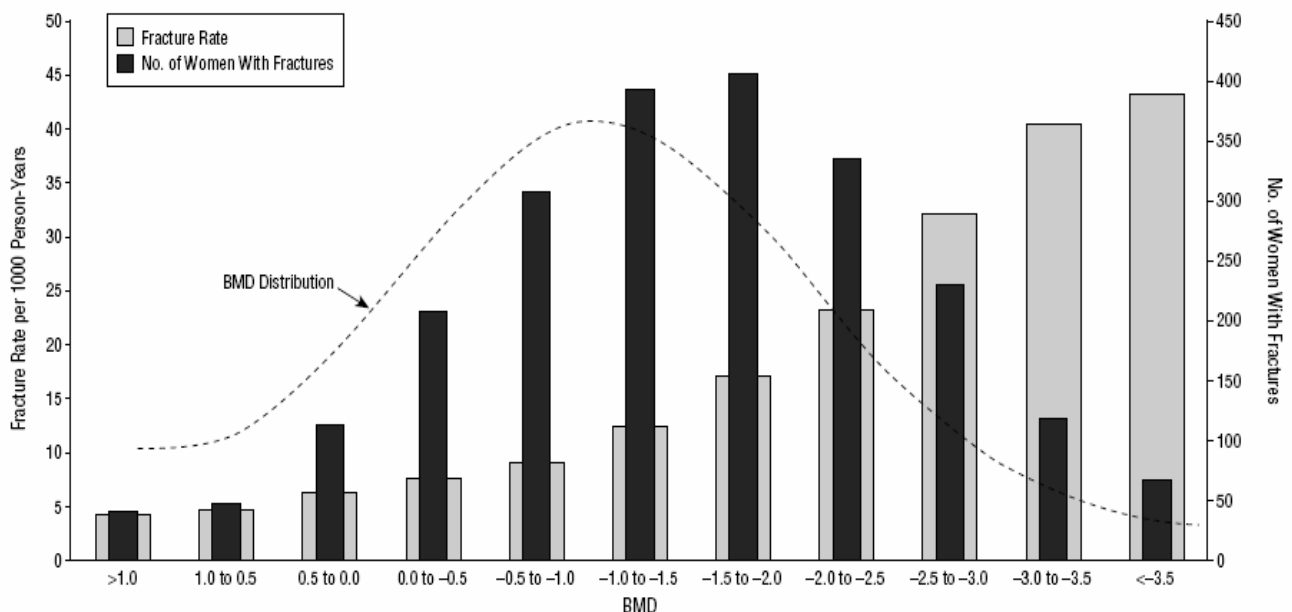


Figure 1 : Histogramme rapportant le taux de fractures par 1000 personnes-années et le nombre de femmes présentant une fracture au sein de la cohorte NORA en fonction du BMD mesuré par DXA. Plus de 50% des femmes fracturées présentent un BMD $\geq -1,5$ T score ⁽³⁾.

De plus, l'augmentation du BMD consécutive aux thérapies anti-résorptives n'explique que 4 à 30% de la réduction du risque fracturaire ⁽⁵⁾. Ainsi, l'ensemble de ces observations a permis de mettre en évidence d'autres facteurs que la densité minérale osseuse dans l'évaluation et la prédiction du risque fracturaire ^(6, 7). Cela a également rendu nécessaire et motivé le développement de nouvelles technologies permettant d'évaluer ces facteurs.

Une fracture survient lorsque la force appliquée à l'os dépasse sa résistance mécanique. Cette capacité de résistance mécanique aux contraintes va dépendre non seulement de la quantité d'os mais aussi de la répartition spatiale de la masse osseuse et des propriétés intrinsèques du matériau « os ».

Les éléments qui interviennent dans la qualité osseuse, donc dans la résistance mécanique de l'os, peuvent être répartis en 2 catégories ⁽⁷⁾ :

- a) Ceux qui correspondent aux propriétés dites extrinsèques : la géométrie (taille et forme des os), la quantité d'os, sa répartition dans l'espace et sa microarchitecture,
- b) Ceux qui correspondent aux propriétés dites intrinsèques : minéral, collagène, cellules osseuses et micro-cracks.

Les éléments extrinsèques et intrinsèques sont en partie la résultante du remodelage osseux. Un remodelage osseux négatif, c'est-à-dire avec une résorption supérieure à la formation, induit une perte osseuse ^(6, 7). L'évaluation des propriétés intrinsèques de l'os nécessite actuellement des techniques invasives puisqu'elles sont effectuées, le plus souvent, sur des biopsies osseuses trans-iliaques. En revanche, il existe plusieurs techniques non invasives d'évaluation des propriétés extrinsèques comme la microarchitecture osseuse.

Des techniques d'imagerie tridimensionnelle sont disponibles mais il faut savoir que, lorsqu'il s'agit de quantifier cette microarchitecture, la majorité des systèmes utilisés actuellement en clinique n'ont pas une résolution suffisante (IRM, TDM) ⁽⁸⁾. Les travées de l'os spongieux, qui ont une épaisseur moyenne de 100 à 150 µm, rendent nécessaires une

résolution au moins 2 fois supérieure, donc une taille de voxel (unité 3D) de l'ordre de 40 à 80 μm ^(8, 9). Les systèmes avec une taille de voxel inférieure à 40 μm ou $\mu\text{-CT}$ (Skyscan 1076 *in-vivo* micro-CT[®], Aartselaar, Belgium) sont hautement irradiants, nécessitent des échantillons de petite taille et ne pourront pas être utilisés chez l'humain dans un avenir proche bien qu'ils se rapprochent des conditions idéales pour quantifier les travées osseuses. Il existe un système de tomographie quantitative périphérique haute résolution (HR-pQCT) avec une taille de voxel de 82 μm isotropique (Xtreme CT[®], Scanco Medical AG, Bassersdorf, Switzerland), utilisé dans quelques centres en clinique humaine (7 centres en France). La HR-pQCT permet des mesures de la microarchitecture périphérique (poignet et tibia distal), avec un temps d'acquisition de quelques minutes et une irradiation minimale ^(8, 10). La prédiction du risque fracturaire est améliorée en séparant la densité minérale de l'os cortical de celle de l'os trabéculaire et en évaluant les paramètres de microarchitecture osseuse trabéculaire ⁽¹¹⁾. Plusieurs études épidémiologiques utilisant la HR-pQCT montrent que la détermination de la microarchitecture trabéculaire au radius distal permet de différencier, indépendamment du BMD, les femmes ostéopéniques ayant présenté une fracture de celles ostéopéniques mais sans antécédent fracturaire ^(10, 11). De plus, les paramètres de microarchitecture trabéculaire mesurés chez les femmes ostéopéniques fracturées tendent à être similaires à ceux des femmes présentant une ostéoporose avérée selon la définition de l'OMS ^(10, 11). C'est pourquoi la HR-pQCT apparaît être une technique prometteuse en pratique clinique, capable d'évaluer, à haute résolution, les variations de densité et de microarchitecture de l'os cortical et de l'os trabéculaire. Cette technique permet donc de gagner en précision dans la compréhension des mécanismes de la fragilité osseuse et d'en affiner sa prédiction. Actuellement utilisée sur le radius distal et le tibia distal, la HR-pQCT pourra sans doute être utilisée *in-vivo* dans quelques années au niveau de la colonne vertébrale ^(8, 10). En parallèle de ces études épidémiologiques et cliniques, plusieurs études menées *ex-vivo* sur des corps vertébraux ont

montré que le BMD isolé ne rend compte que de 40 à 70% de la variation de la résistance mécanique osseuse ⁽¹²⁾. Ainsi, le BMD n'est qu'une facette de la qualité osseuse et sa valeur prédictive reste limitée. Ces études montrent également que l'association du BMD et des paramètres de microarchitecture trabéculaire mesurés en HR-pQCT permet d'améliorer significativement la prédiction du comportement mécanique vertébral, expliquant jusqu'à 90% de sa variation ⁽¹²⁾. De plus, plusieurs études ont mis en évidence l'existence de variations locales ou « hétérogénéité » de la densité minérale et de la microarchitecture trabéculaire au sein du corps vertébral ⁽¹²⁾. Ces travaux ont été réalisés *ex-vivo* soit en histomorphométrie à partir de biopsies osseuses vertébrales réalisées avec un trocart soit en HR-pQCT à partir de biopsies osseuses virtuelles. Ces études ont montré que la densité minérale est plus basse, de l'ordre de 15 à 25% dans la moitié supérieure du corps vertébral par rapport à sa moitié inférieure et de l'ordre de 20% dans sa moitié antérieure par rapport à sa moitié postérieure ⁽¹³⁾. Les paramètres de microarchitecture trabéculaire présentent également, de façon superposable au BMD, une hétérogénéité de répartition au sein du corps vertébral ⁽¹³⁾. Ces données peuvent être corrélées à ce qui est constaté en clinique avec une fracture vertébrale ostéoporotique intéressant préférentiellement le coin antéro-supérieur de la vertèbre (« *anterior wedge fracture* ») ^(14, 15). Cependant, à notre connaissance, bien que le rôle de la microarchitecture osseuse dans la prédiction du risque fracturaire et l'existence d'une hétérogénéité de répartition de cette microarchitecture aient été décrits, la revue de la littérature ne retrouve aucune étude évaluant leur contribution respective au comportement mécanique vertébral. De plus, alors que la HR-pQCT permet de séparer l'os cortical de l'os trabéculaire, aucune étude de la littérature ne rapporte, à notre connaissance, leur contribution relative au comportement mécanique vertébral.

En outre, les études épidémiologiques rapportent également, qu'après une fracture vertébrale, le risque de nouvelle fracture (y compris de récurrence au même site) est augmenté

d'un facteur 4 à 7 ⁽¹⁶⁾. De plus, ce risque augmente avec le nombre de fractures vertébrales et leur sévérité ⁽¹⁷⁾. Cependant, à notre connaissance, dans la littérature, aucune étude n'a décrit et étudié, *ex-vivo*, le comportement mécanique vertébral post-fracturaire ainsi que ses déterminants en termes de masse osseuse et de microarchitecture.

Ainsi, les buts de ce travail étaient d'évaluer, *ex-vivo*, sur des vertèbres humaines L3 :

- a) La contribution respective de la microarchitecture osseuse corticale et trabéculaire au comportement mécanique vertébral,
- b) Le rôle de l'hétérogénéité de la microarchitecture trabéculaire dans la prédiction du comportement mécanique vertébral,
- c) Les déterminants microarchitecturaux du comportement mécanique vertébral post-fracturaire et la description de ce comportement.

Cette thèse s'articule en 3 parties :

- Dans une *première partie*, les généralités concernant « **le matériel et les méthodes** » seront présentées. Nous y décrirons notre protocole expérimental, du prélèvement des vertèbres L3 aux techniques d'acquisition et d'analyse de l'image ainsi que les paramètres mesurés et les tests mécaniques réalisés.
- Dans une *deuxième partie*, les « **résultats** » de ce travail seront rapportés sous la forme des 3 articles dont cette thèse a fait l'objet.
- Enfin, dans une *troisième partie*, nous dresserons une « **conclusion** » générale de ce travail. Nous ouvrirons également cette conclusion à quelques « **perspectives** » pour le Chirurgien Orthopédiste.

PREMIERE PARTIE :

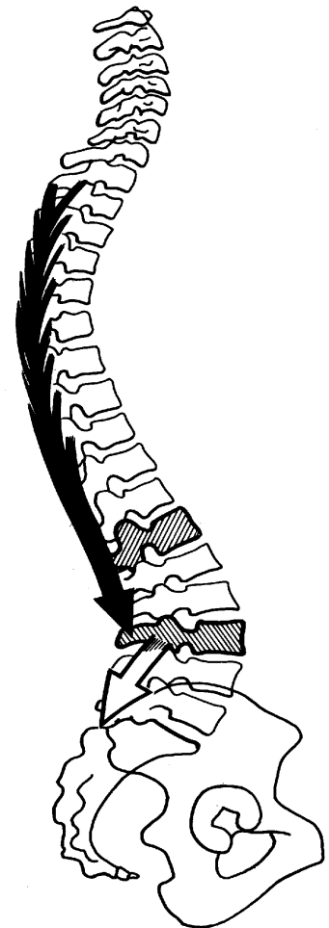
MATERIEL ET METHODES

TECHNIQUES UTILISEES

I. DEFINITIONS ET TECHNIQUES UTILISEES

A. La vertèbre L3

La vertèbre L3 constitue notre vertèbre de référence, de par ses propriétés anatomiques, physiologiques et mécaniques ⁽¹⁸⁾. Elle se situe au sommet de la lordose lombaire et est, de ce fait, en position horizontale sur un rachis lombaire en charge, le sujet étant debout en position anatomique. Ses plateaux sont donc parallèles entre eux et horizontaux. Elle constitue le véritable plan-socle de la totalité de la colonne vertébrale portante et est donc particulièrement soumise aux sollicitations mécaniques. De plus, les activités induisant une contraction des muscles extenseurs du rachis augmentent, du fait de leur bras de levier, les sollicitations mécaniques sur L3 d'un facteur 8 pour le relèvement d'une chaise à un facteur 10 pour une flexion maximale du rachis par rapport à une station debout en position anatomique ⁽¹⁹⁾.



Une fracture vertébrale apparaît de principe lorsque la force appliquée génère une contrainte interne supérieure ou égale à sa solidité, qui est fonction de la géométrie vertébrale (surface de section), de la densité minérale osseuse mais aussi de la microarchitecture corticale et trabéculaire ^(6, 7, 20).

B. Biomécanique

Différents tests mécaniques sont utilisables sur les pièces osseuses, les plus courants étant en compression, en étirement ou en cisaillement. La majorité des forces qui s'appliquent *in-vivo* aux vertèbres sont en compression uniaxiale. C'est donc ce type de test que nous avons choisi pour notre étude.

Les données acquises au cours des essais sont *l'effort* (exprimé en Newton ; N ; $1\text{ N} \equiv 1\text{ kg.m.s}^{-2}$) et le *déplacement* correspondant (exprimé en millimètre) ⁽²⁰⁻²²⁾. En tenant compte de la géométrie des vertèbres (section et hauteur initiales), les efforts et les déplacements relevés permettent d'estimer les contraintes et les taux de déformations correspondants **(Figure 2)** ⁽²⁰⁻²²⁾.

La *contrainte* (*stress*) est définie par un effort appliqué sur une surface. L'unité de mesure est le Pascal ($1\text{ Pa} = 1\text{ Newton/m}^2$).

La *déformation* (*strain*) est définie comme le pourcentage de changement de dimension du matériau soumis à une force. Elle est reportée en valeur relative, adimensionnée (une déformation de 0,01 correspondant à 1% de diminution de la dimension étudiée).

Quand une force est appliquée sur un os, celui-ci se déforme. La relation entre l'effort appliqué sur une structure et le déplacement correspondant à cet effort peut se résumer sous la forme d'une *courbe effort – déplacement*. Cette courbe peut être divisée en deux régions : la région de déformation élastique et la région de déformation plastique.

Dans la région de *déformation élastique*, le déplacement produit est théoriquement réversible ; lorsque l'effort est supprimé, l'os retrouve sa forme initiale. L'os imite donc un « ressort ». La relation est alors linéaire entre l'effort et le déplacement. La pente de la courbe effort – déplacement dans la région élastique représente la *raideur extrinsèque* (*stiffness*) de la

structure. L'aire sous la courbe représente *l'énergie nécessaire à la fracture* ou *le travail* (*work*).

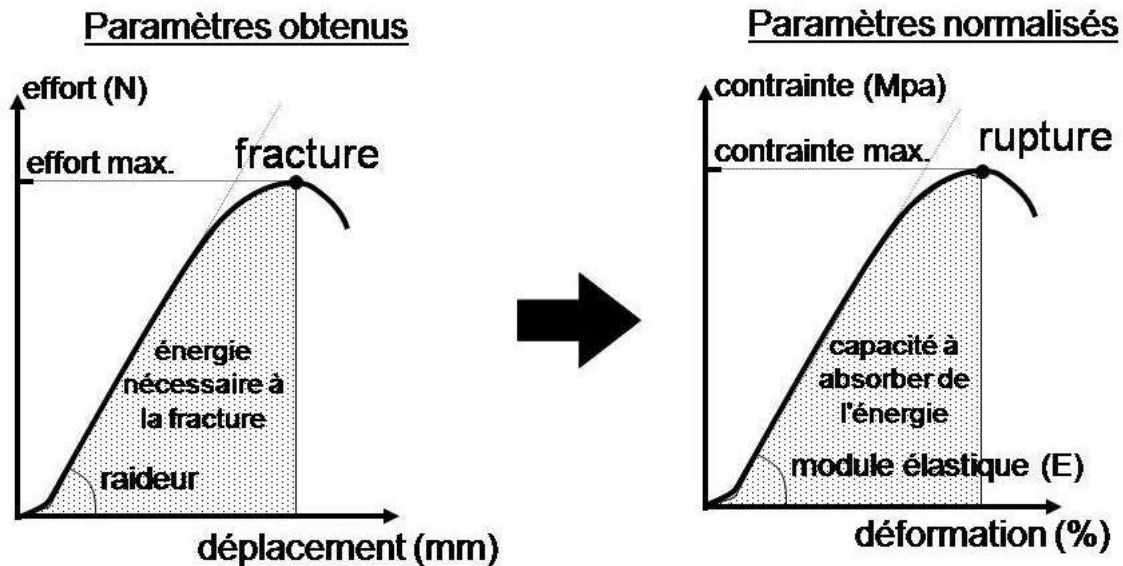


Figure 2 : Courbes théoriques effort/déplacement et contrainte/déformation ⁽²²⁾.

Le rapport entre la force appliquée et la déformation reflète le comportement mécanique global de l'os incluant sa géométrie. A composition égale, un os de grande taille se cassera pour des forces appliquées plus importantes qu'un os de plus petite taille.

Pour déterminer les propriétés mécaniques de l'os indépendamment de sa taille, les paramètres déterminés à partir de la courbe force – déplacement doivent donc être normalisés. Si, par des algorithmes mathématiques de normalisation aux dimensions de l'échantillon, l'effort en Newtons est converti en *contrainte* en mégaPascals (MPa) et le déplacement en mm converti en *déformation* en %, la relation entre contrainte et déformation est, de la même façon, établie sur une courbe *contrainte – déformation*. La pente de la courbe représente le *module d'élasticité* ou *module d'Young*, qui constitue une mesure de la raideur intrinsèque de la structure. L'aire sous la courbe représente alors la *capacité de la structure à absorber de l'énergie* (*toughness*).

Dans le cas particulier de l'os ostéoporotique, la définition de la raideur devient plus complexe car celui-ci est constitué d'un réseau d'os trabéculaire avec une raideur propre pour chaque trabécule, l'ensemble formant une structure possédant une raideur unique. Ainsi, l'os ostéoporotique est caractérisé par une raideur « matériau », qui est la raideur de chaque trabécule, et une raideur de « structure », qui est la raideur de la structure trabéculaire.

Si la déformation continue au-delà de la limite élastique, l'os aura un comportement *plastique* et une partie de la déformation appliquée deviendra permanente, non réversible. Si la déformation continue, l'os va jusqu'à son point de rupture.

Ces 2 régions, élastiques et plastiques, sont séparées par un *point de limite élastique*, défini par la valeur de contrainte à partir de laquelle la relation n'est plus linéaire sur la courbe contrainte – déformation. Ce point (*yield point*) constitue une frontière au-delà de laquelle la contrainte exercée causera une déformation permanente. En pratique, dans le cadre de la biomécanique osseuse, ce point de limite élastique est très proche et très corrélé au point de rupture en raison de la faible ductilité de l'os ⁽²¹⁾. Ce n'est donc pas un paramètre d'intérêt dans notre étude.

Enfin, l'os possède un « grain » ou une direction structurelle préférentielle. De fait, le module d'Young varie avec l'orientation de la pièce osseuse. Par exemple, le module d'Young de la médiodiaphyse d'un os long varie de 17 GPa dans la direction longitudinale à 12 GPa dans la direction transversale ⁽²¹⁾. La propriété pour un matériau d'avoir un comportement différent selon la direction constitue *l'anisotropie*, *l'isotropie* étant définie comme un comportement biomécanique indépendant de la direction utilisée. Un matériau anisotrope, qui possède des propriétés différentes dans trois plans perpendiculaires de l'espace, est *orthotropique*. Si les propriétés sont identiques dans 2 des 3 plans, comme dans le cas de l'os, alors le matériau est *transversalement isotrope*. En effet, dans le cas du tissu osseux, le module d'Young est identique dans les directions transversales mais il est plus

important dans une direction longitudinale ⁽²³⁾. Le module d'Young varie également, particulièrement dans le cas de l'os ostéoporotique, en fonction de la région osseuse sur laquelle les tests mécaniques sont effectués. Cette variation est de l'ordre de 0,1 à 4,5 GPa en fonction de la densité osseuse et de l'orientation de l'os trabéculaire ⁽²⁴⁾.

C. Conservation des cadavres et des pièces osseuses

Les prélèvements vertébraux ont tous été réalisés sur des cadavres issus de sujets décédés de mort naturelle et acheminés au Laboratoire d'Anatomie de la Faculté de Médecine Lyon – Sud dans un délai de 48 heures suivant la constatation du décès. Tous étaient conservés en chambre froide à + 4°C et prélevés dans un délai maximal de 72 heures suivant leur dépôt.

Les cadavres ont été prélevés à l'état frais, sans formolisation préalable afin de préserver les propriétés biomécaniques des os. En effet, la fixation au formol ou au glutaraldéhyde entraîne des dégradations de la structure osseuse associées une nette détérioration des propriétés mécaniques pouvant atteindre jusqu'à 18% dans les tests en compression ⁽²⁵⁾.

La dégradation de la qualité du tissu osseux débute seulement quelques heures après le prélèvement sur le cadavre et altère ainsi les propriétés mécaniques de l'os à tester ⁽²⁶⁾. La meilleure méthode de conservation décrite dans la littérature consiste dans la congélation des pièces osseuses à – 20°C, emballées dans des compresses de gaze imbibées de sérum physiologique ⁽²⁷⁾. Il s'agit de la méthode de conservation retenue dans notre étude.

Après décongélation en vue de l'acquisition de la microarchitecture et de la réalisation des tests mécaniques, les vertèbres ont été conservées dans de la solution de Ashman à + 4°C ⁽²⁸⁾. Cette solution est constituée d'un mélange iso volumique de sérum physiologique et d'éthanol absolu. Les pièces osseuses conservées dans cette solution ne subissent aucune

altération de leurs propriétés biomécaniques (diminution de moins de 2% du module d'Young après 90 jours de conservation) en comparaison à l'éthanol seul ou au sérum physiologique seul ⁽²⁸⁾. Dans notre étude, la durée de conservation dans le liquide de Ashman a toujours été inférieure à une semaine.

La température à laquelle les tests sont réalisés a également été contrôlée. Les tests réalisés à température ambiante (+ 23°C) s'accompagnent d'une modification du module d'Young des pièces osseuses (augmentation de 2 à 4%) par rapport à la température physiologique de + 37°C ⁽²⁹⁾. C'est pourquoi, les tests mécaniques ont été réalisées sur des vertèbres immergées dans une solution de Ashman maintenue à + 37°C par un thermostat couplé à une pompe afin qu'il n'y ait aucune variation de température de la solution.

D. L'ostéodensitométrie biphotonique à rayons X

L'ostéodensitométrie biphotonique à rayons X (DXA) mesure l'atténuation de 2 rayonnements d'énergies différentes, l'un atténué par les tissus mous, l'autre par l'os. Cet examen, couramment pratiqué *in-vivo*, permet de mesurer la quantité de minéral osseux, ce qui correspond à un dosage du contenu osseux en hydroxyapatite.

Les résultats peuvent être exprimés :

- Soit en contenu minéral osseux (quantité totale d'hydroxyapatite; grammes) ou BMC (*bone mineral content*),
- Soit en densité minérale osseuse (g/cm^2) ou BMD (*bone mineral density*), qui est une densité surfacique, le contenu minéral étant rapporté à la surface de projection de la vertèbre,
- Soit en densité minérale osseuse volumique (g/cm^3) ou vBMD, ce qui nécessite la mesure du contenu minéral osseux ainsi que du volume de la vertèbre. Il est alors nécessaire

de réaliser une acquisition latérale des vertèbres alors que la majorité des examens, en clinique, ne sont pratiqués qu'en antéropostérieur.

Pour simuler les tissus mous et donc se rapprocher des conditions de mesure *in-vivo*, une plaque de plexiglas de 42 mm d'épaisseur est posée sur la table de l'ostéodensitomètre, la vertèbre étant placée sur cette plaque (**Figure 3**)⁽³⁰⁾.



Figure 3 : Positionnement de profil d'une vertèbre pour la mesure de la densité minérale osseuse par DXA. La vertèbre est conditionnée sous vide dans un sac en plastique et placée sur une plaque de plexiglas simulant les tissus mous.

Nous avons utilisé dans cette étude l'ostéodensitomètre DELPHI W[®] (Hologic, Waltham, MA, USA) pour la mesure du contenu et de la densité minérale osseuse (**Figure 4**).

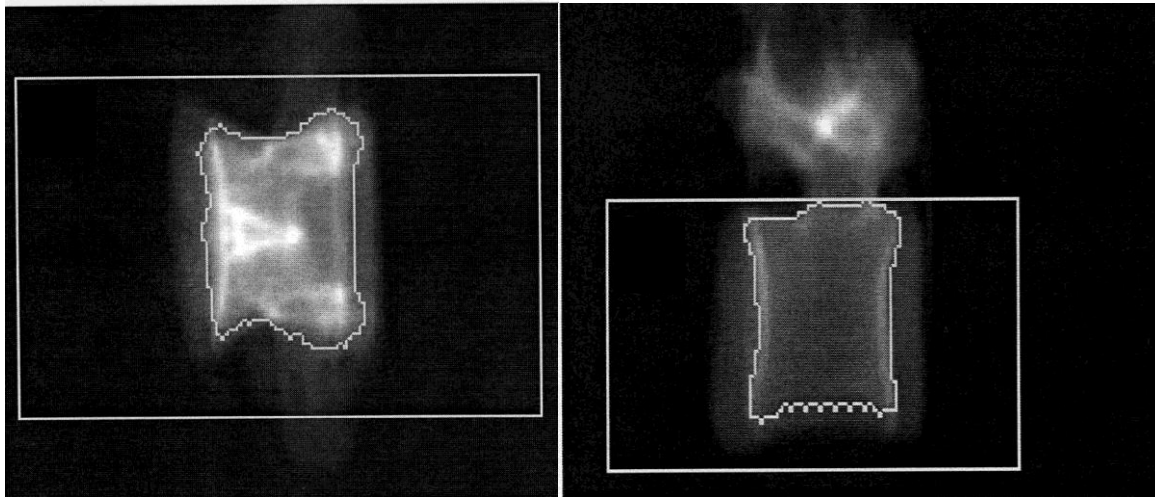


Figure 4 : Images acquises par Delphi W® sur une vertèbre L3 avec une incidence antéro-postérieure à gauche et une incidence de profil à droite. La mesure de la densité minérale est réalisée sur la zone sélectionnée en blanc, représentant le corps vertébral.

E. Tomographie quantitative périphérique 3 D à haute résolution ou HR - pQCT (XtremeCT®, Scanco Medical, Bassersdorf, Switzerland)

Ce système est utilisé en clinique humaine pour la mesure de la densité minérale osseuse volumique et de la microarchitecture, séparément au niveau cortical et trabéculaire, à l'avant-bras et à la partie inférieure du tibia ^(8, 10).

Il est constitué d'un tube à rayons X avec un orifice punctiforme de 0,08 mm et d'une barrette de détection 2D. L'ensemble permet l'acquisition simultanée de coupes tomographiques parallèles avec une taille de voxel isotrope de 82 µm. Les réglages utilisés ont été une énergie de 60 kVolts, une intensité de 900 µA et une taille de matrice de 1536 x 1536. Les données d'atténuation du rayonnement sont converties en densités équivalentes d'hydroxyapatite. Pendant les mesures, la vertèbre est disposée dans un support en fibre de carbone. Un calibrage densitométrique quotidien est effectué à partir de fantômes constitués d'une baguette d'hydroxyapatite de densité connue (0, 100, 200, 400 et 800 mg HA/cm³)

contenue dans une résine simulant les tissus mous (QRM, Moehrendorf, Germany). Le nombre de coupes réalisées est variable en fonction de la hauteur vertébrale (de 370 coupes pour la plus petite vertèbre à 408 pour la plus volumineuse, moyenne = 385 coupes/vertèbres) (Figure 5).



Figure 5 : Tomographie quantitative périphérique 3D à haute résolution (HR-pQCT). A gauche, vue générale de l'appareil. A droite examen de la partie inférieure du tibia chez un patient.

Ce système permet, chez l'humain, la mesure de la densité minérale totale, de la densité corticale et de la densité trabéculaire (D_{tot} , D_{cort} et D_{trab} respectivement), en milligrammes d'hydroxyapatite par centimètre cube. Le volume correspondant à la région d'intérêt est automatiquement séparé en région corticale et en région trabéculaire en utilisant un algorithme basé sur un seuillage. Le seuil utilisé pour discriminer l'os cortical de l'os trabéculaire est fixé à un tiers de la valeur du D_{cort} apparent. Dans notre étude, la mesure de la fraction de volume osseux trabéculaire (BV/TV, %) est directe, basée sur un compte de voxels. Le nombre de travées osseuses (Tb.N, mm^{-1}), leur épaisseur (Tb.Th, μm) et leur séparation (Tb.Sp, μm) sont mesurés directement, indépendamment d'un modèle (poutre ou plaque), en utilisant des algorithmes de transformation de distance, et sont, de ce fait,

rapportés avec un astérisque (Tb.N*, Tb.Th* et Tb.Sp*)^(31, 32). La distribution intra individuelle de la séparation des travées osseuses (Tb.Sp*SD) est également mesurée, reflétant l'hétérogénéité de la distribution du réseau trabéculaire⁽³³⁾. La marge d'erreur de la mesure de la densité volumique *in vivo*, exprimée en termes de coefficient de variation, est comprise entre 0,7 et 1,5%⁽¹⁰⁾. La reproductibilité des paramètres de microarchitecture présente un coefficient de variation compris entre 0,9 et 4,4%⁽¹⁰⁾.

F. Microtomographie ou μ -CT (Skyscan 1076 in-vivo micro-CT[®], Aartselaar, Belgium)

La μ -CT est basée sur le même principe que la HR-pQCT mais offre une résolution spatiale supérieure permettant une acquisition simultanée de coupes tomographiques parallèles avec une taille de voxel de 36 μ m.

Ce système est constitué d'un tube à rayons X rotatoire avec un orifice punctiforme de 5 μ m et d'une barrette de détection 2D. Le volume de mesure est de 68 mm de diamètre par 200 mm de longueur. La résolution spatiale, en termes de taille de pixels, va de 9 à 36 μ m. En raison du volume des données, une résolution à 35 μ m a été choisie. Les réglages utilisés ont été une énergie de 100 kVolts, une intensité de 100 μ A et une taille de matrice de 2000 x 2000. Un filtre Aluminium de 0,5 mm a été utilisé afin de monochromatiser la source de rayons. Les acquisitions ont été réalisées à 360° sur un lit en carbone de 68 mm de diamètre avec un pas d'image à 0,5° soit 720 images par 360° de rotation de la source de rayons. La reconstruction des coupes est ensuite réalisée par un logiciel d'analyse de l'image incorporé à SkyScan[®]. La modélisation 3D est effectuée avec le logiciel SkyScan Ct-An[®] (**Figure 6**).



Figure 6 : microtomographe Skyscan 1076®.

Ce système n'offre pas la possibilité de mesurer précisément la DMO en raison du polychromatisme de la source qui peut induire un durcissement de faisceau. Tous les paramètres de microarchitecture osseuse correspondent donc à une mesure d'imagerie directe, ne reposant pas sur la densitométrie et indépendante du degré de minéralisation. Une valeur de seuillage a cependant été définie. Elle est basée sur le bruit issu du liquide de Ashman (valeur limite de l'apparition du bruit) et est utilisée pour toutes les mesures.

G. Evaluation de la microarchitecture

La microarchitecture peut être mesurée sur des coupes histologiques d'une épaisseur d'environ 8 μm , c'est-à-dire considérées comme infiniment fines. Ces mesures sont donc effectuées en 2 dimensions. Dans le cas des vertèbres, les travées qui sont perpendiculaires au plan de la coupe apparaissent alors sous forme de pastilles et il a été prouvé que les mesures

de connectivité étaient biaisées ⁽³⁴⁾. L'extrapolation du 2D vers le 3D n'est donc possible que si la structure analysée est complètement isotrope.

L'imagerie 3D sur des images acquises par tomographie permet une évaluation non biaisée de la microarchitecture. Avec les 2 systèmes d'imagerie 3D utilisés dans notre étude, les paramètres évalués (nomenclature officielle de l'ASBMR) sont le *tissue volume* (TV), le *bone volume* (BV), le BV/TV, le Tb.Th, le Tb.Sp, le Tb.N, le degré d'anisotropie (DA), le nombre d'Euler ou la densité de la connectivité (*Euler number* ou Eu.N ; *connectivity density* ou Conn.D en mm⁻³) et le *structure model index* (SMI) ⁽³⁴⁾.

Le TV est mesuré à partir d'une modélisation en cubes du volume d'intérêt (VOI, *volume of interest*). Il en est de même pour le BV. La fraction de volume osseux trabéculaire ou BV/TV en est ensuite déduite et correspond donc à une mesure directe, basée sur un compte de voxels. Ce paramètre n'est utile que si le volume étudié est entièrement constitué d'une région biphasique comme l'os trabéculaire.

Avec ces systèmes 3D, l'épaisseur moyenne des travées (*trabecular thickness* ou Tb.Th) est directement mesurée. Elle n'est alors plus dépendante d'un modèle poutre ou plaque (*rod or plate*) comme dans le cas de l'analyse en 2D. Le Tb.Th est défini comme la moyenne de l'épaisseur locale à chaque voxel représentant le VOI ^(31, 35). L'épaisseur locale en un point d'un solide est définie comme le diamètre d'une sphère qui remplit 2 conditions ^(31, 36) :

- Le point doit être contenu dans la sphère, sans en être nécessairement le centre,
- Les limites de la sphère sont des surfaces solides.

La séparation trabéculaire (*trabecular separation* ou Tb.Sp) correspond essentiellement à l'épaisseur des espaces définis par binarisation du VOI. En 3D, elle est mesurée de la même façon que le Tb.Th.

Le nombre de travées (*trabecular number* ou Tb.N) sous-entend une mesure de densité de travées (exprimée par unité de longueur). L'acquisition en 3D des images ne permet de s'affranchir que partiellement des modèles poutre ou plaque de Parfitt. Ce paramètre est déterminé à partir de la mesure directe de la Tb.Th mais nécessite l'application d'une modélisation de type plaque selon l'équation $Tb.N = (BV/TV)/Tb.Th$ ⁽³⁶⁾.

Le degré d'anisotropie (*degree of anisotropy* ou DA) correspond à la mesure 3D de la présence ou de l'absence de l'alignement d'une structure selon une direction particulière (**Figure 7**). Le DA constitue probablement un des déterminants les plus importants en mécanique osseuse ^(35, 36). Le DA est calculé à partir de la méthode MIL (*mean intercept length*) et de l'analyse d'Eigen. L'os trabéculaire est une région complexe, biphasique contenant une phase solide et des cavités. Si le volume est isotropique, alors une ligne qui passerait à travers cette structure aurait un nombre de points d'intersection identique quelque soit son orientation 3D. Dans le cas inverse, on parle d'anisotropie.

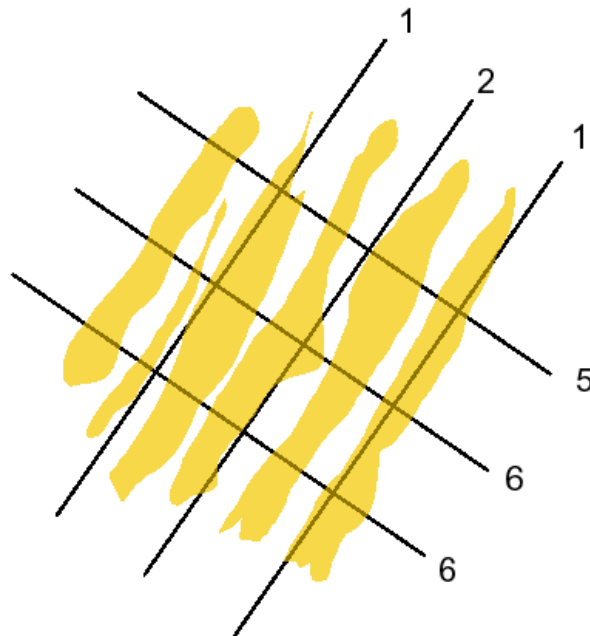


Figure 7 : Principe de la mesure du degré d'anisotropie. Un ensemble de structures longitudinales alignées possède un haut degré d'anisotropie : il existe moins de points d'intersection dans une direction parallèle au grand axe que dans une direction perpendiculaire ($n =$ nombre de points d'intersection).

De façon commune, on admet que les valeurs du DA varient entre 0 (structure complètement isotrope) à 1 (structure complètement anisotrope). L'équation de calcul est alors définie comme : $DA = 1 - (\text{valeur d'Eigen minimale} / \text{valeur de Eigen maximale})$. Cependant, il n'y a pas de réelle normalisation pour ce paramètre et, dans certaines études, celui-ci varie entre 1 et l'infini avec une équation : $DA = \text{valeur d'Eigen minimale} / \text{valeur d'Eigen maximale}$.

Le *nombre d'Euler (Eu.N)* est caractéristique d'une structure tridimensionnelle. Il est souvent confondu avec la *densité de la connectivité* ⁽³⁷⁾. Il s'agit d'un paramètre fixe qui ne change pas avec la compression ou l'étirement de la structure. Sa mesure correspond à évaluer une redondance de la connectivité. Il reflète le degré auquel chacune des parties de la structure de l'objet est connectée aux autres parties. Le Eu.N est une mesure du nombre de connexions constitutif d'une structure pouvant être rompu avant que la structure ne se fragmente. Les déterminants de ce nombre d'Euler sont les 3 nombres de Betti : β_0 ou nombre d'objet, β_1 ou connectivité et β_2 ou nombre de cavités délimitées. Sa formule, pour un objet 3D, est donnée par l'équation : $\chi(X) = \beta_0 - \beta_1 + \beta_2$. Le nombre d'Euler fournit une mesure de la densité de la connectivité ou Conn.D (en mm^{-3}), indiquant le nombre de connexions redondantes de la structure trabéculaire par unité de volume. Pour le calculer, la connectivité β_1 est rapportée au volume analysé (VOI en mm^3). La connectivité trabéculaire contribue significativement à la résistance de la structure ⁽³⁷⁾.

Le *structure model index (SMI)* reflète la prévalence relative de poutres ou de plaques dans une structure 3D comme l'os trabéculaire (**Figure 8**) ⁽³⁸⁾. Le SMI implique une mesure de la convexité d'une surface. Il s'agit d'un paramètre important dans l'os trabéculaire ostéoporotique puisque celui-ci est caractérisé par une transition entre une architecture basée sur des plaques vers une architecture basée sur des poutres. Une structure idéale en plaque possède un SMI égal à 0 alors qu'une structure idéale en poutre possède un SMI égal à 3. La détermination du SMI est basée sur l'évaluation de la convexité – concavité de la structure. Il

est calculé, par comparaison des *bone surfaces* et *bone volumes* avant et après une opération de dilatation de l'image, selon l'équation $SMI = 6x((S'xV)/S^2)$ avec S correspondant à la surface de l'objet avant dilatation, S' au changement de surface induite par la dilatation et V au volume de l'objet avant dilatation. A ce stade, il est important de noter que les surfaces concaves des cavités de l'os trabéculaire représentent une convexité « négative » pour le calcul du SMI puisque la dilatation de ces surfaces concaves, en réduisant la surface mesurée, induit un S' négatif. C'est pourquoi, le SMI est dépendant du volume relatif ce qui peut accentuer des différences entre différents groupes expérimentaux.

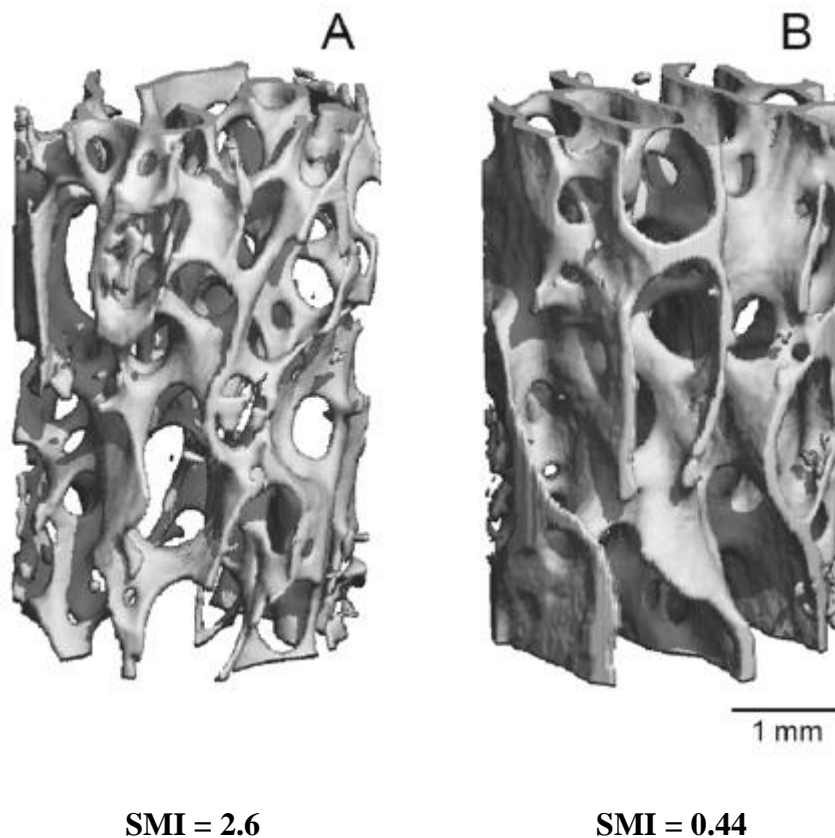


Figure 8 : L'image A illustre une structure 3D constituée, de façon prédominante, par des poutres ; le structure model index (SMI) est alors proche de 3. L'image B illustre, elle, une prédominance de plaques ; le SMI est alors proche de 0.

II. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

A. Prélèvement des blocs lombaires

De septembre 2006 à la juillet 2007, 39 cadavres ont été disponibles au Laboratoire d'Anatomie de la Faculté de Médecine Lyon – Sud (Département du Professeur Jean-Paul Carret). Il s'agissait dans tous les cas de personnes ayant fait don de leur corps de leur vivant. Toutes les nécropsies ont été pratiquées dans un délai de 72 heures suivant l'arrivée du corps à la Faculté. Les cadavres étaient frais, non formolés. La taille et poids des sujets n'étaient pas disponibles sur les feuilles de renseignements et n'ont pas été mesurés. Seul l'âge des sujets était connu mais leurs antécédents et la cause du décès n'étaient pas disponibles en raison des règles du secret médical.

Le prélèvement a été effectué sur un cadavre en décubitus ventral. Après incision postérieure médiane en regard des épineuses, la douzième vertèbre thoracique est repérée, de même que la charnière L5-S1. Les muscles para-vertébraux ont été ruginés et le bloc T12-L5 prélevé après séparation atraumatique à la scie oscillante du reste du rachis.

Six blocs vertébraux ont été éliminés, 4 présentant des tassements macroscopiquement évidents de L3, 1 en raison d'une déformation de L3 sur scoliose sévère évoluée et enfin 1 prélevé sur un cadavre de polytraumatisé comportant des fractures vertébrales traumatiques étagées.

B. Conservation des blocs lombaires

Les blocs vertébraux ont ensuite été conditionnés sous vide et conservés dans des sachets individuels en polyéthylène à – 20°C dans de la gaze imprégnée de sérum physiologique.

Cette procédure de conservation a été mise en œuvre immédiatement après le prélèvement afin d'éviter la déshydratation des pièces et la détérioration de leurs propriétés biomécaniques.

C. Qualité des vertèbres

Chaque bloc vertébral a ensuite été radiographié de profil en utilisant le système DISCOVERY® (Hologic, Waltham, MA, USA). Le cliché de profil a été examiné par 2 observateurs pour s'assurer de l'absence de fracture ou de pathologies pouvant interférer sur la qualité osseuse (essentiellement métastase osseuse, tumeur osseuse primitive de siège vertébral, maladie osseuse de Paget) ou sur la morphologie de L3 comme une ostéophytose majeure sur arthrose lombaire (**Figure 9**).

Le degré d'arthrose sur les blocs lombaires a été évalué en utilisant l'échelle en 4 stades de Kellgren-Lawrence en fonction de la sévérité des ostéophytes et de la diminution de l'espace intervertébral : normal, minime, modéré et sévère ⁽³⁹⁾. Deux blocs vertébraux présentant un stade 4 ont été exclus de l'étude. Parmi les blocs inclus, 18 était de stade 1 (58 %), 10 de stade 2 (32%) et 3 de stade 3 (10%).

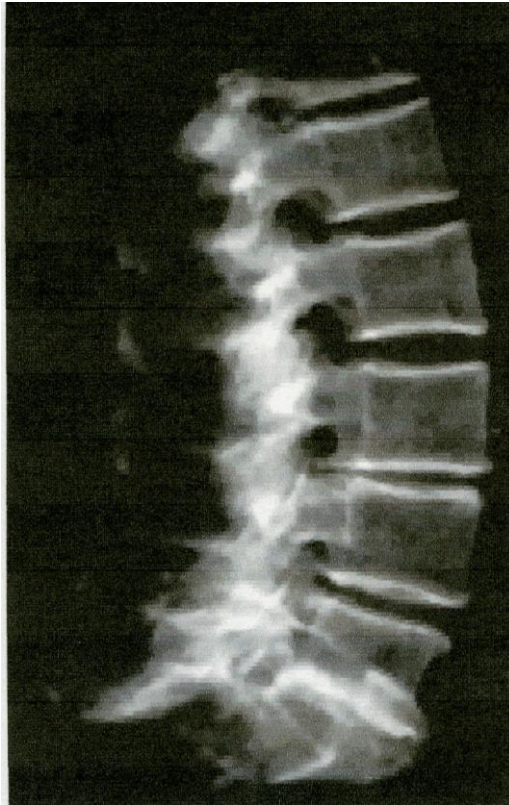


Figure 9 : Radiographie d'un bloc lombaire L1-L5 de profil par Discovery[®]. A noter, une discopathie L3-L4 minime (Grade II de Kellgren-Lawrence).

D. Dissection des vertèbres

Les vertèbres L3 sont ensuite isolées des blocs vertébraux sélectionnés en disséquant au travers des disques intervertébraux sus et sous jacents au moyen d'un couteau à dissection en préservant l'arc postérieur. La vertèbre est nettoyée à la pince gouge des parties molles adhérentes. Cette étape est pratiquée sur des blocs congelés.

Après dissection des vertèbres L3, l'absence de pathologies pouvant interférer sur la qualité osseuse est une deuxième fois contrôlée en utilisant un appareil de radiographie à très

haute résolution (Cabinet X-ray system MX-20[®], Faxitron X-Ray Corporation, Lincolnshire, IL, USA) (**Figure 10**).

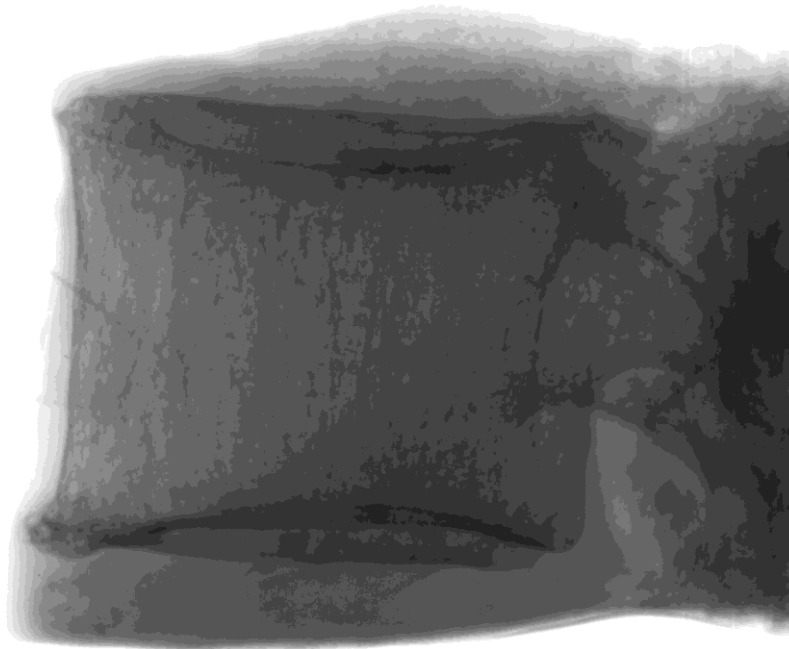


Figure 10 : Radiographie de profil à très haute résolution par Faxitron[®] d'une vertèbre L3 saine.

Au total, 31 vertèbres L3 ont été incluses dans notre travail, prélevées sur 16 hommes et 15 femmes. L'âge des donneurs était compris en 54 et 93 ans (en moyenne, 75 ± 10 ans chez les hommes et 76 ± 10 ans chez les femmes).

E. Ostéodensitométrie par DXA

Une mesure de la densité minérale osseuse (DMO) et du contenu minéral osseux (CMO) est réalisée par absorptiométrie à rayons X Delphi W[®] sur chaque vertèbre L3 congelée (Service de Rhumatologie – Pavillon F, Hôpital Edouard Herriot, Lyon) comme décrit précédemment.

F. Préparation des vertèbres L3 à l'acquisition de la microarchitecture et aux tests mécaniques

Après décongélation progressive à température ambiante, les pièces vertébrales sont mesurées au pied à coulisse afin de définir la géométrie du corps vertébral. La hauteur du corps vertébral est mesurée de plateau à plateau (**Figure 11**). L'arc postérieur est séparé du corps vertébral de façon atraumatique en utilisant une scie à os manuelle (**Figure 12**).

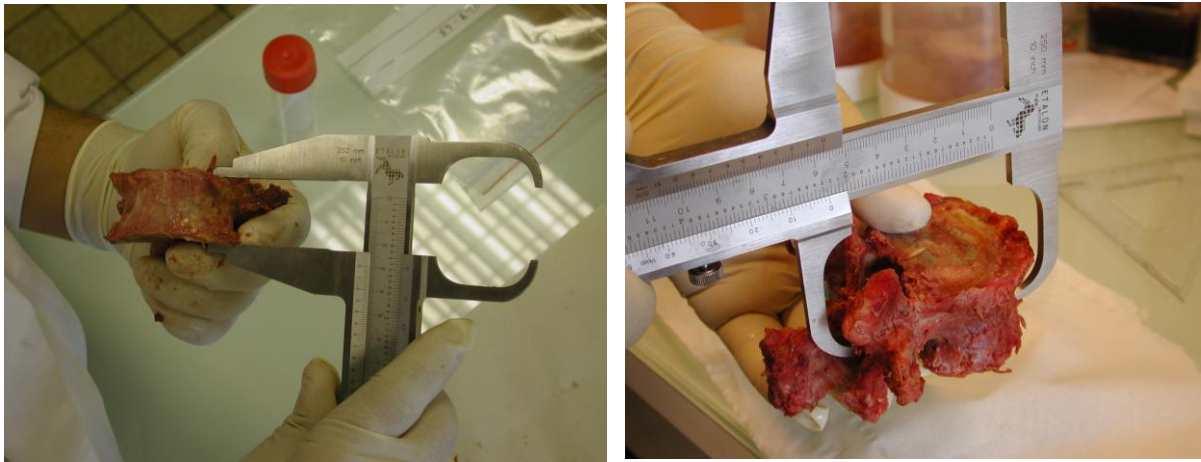


Figure 11 : Mesure de la géométrie d'une vertèbre L3 avec un pied à coulisse.



Figure 12 : Vue sous 2 angles différents d'une vertèbre L3 avant la tomographie (μ -CT) et les tests mécaniques.

Le but de l'acquisition de la géométrie du corps est le calcul de la DMO volumique (g/cm^3) et permet l'ajustement des résultats du test mécanique aux dimensions de la vertèbre.

La surface de section du corps vertébral (CSA) est calculée en assimilant ce dernier à un cylindre ellipsoïdal. La surface de section a été calculée suivant la formule : $\Pi \times (p/2) \times (l/2)$ avec p : profondeur moyenne de la vertèbre et l : largeur moyenne de la vertèbre. Le volume de la vertèbre en est déduit en utilisant la formule : surface de section \times h avec h : hauteur moyenne de la vertèbre ⁽²¹⁾.

Les corps vertébraux sont alors emballés dans une compresse de gaze imprégnée de sérum physiologique puis conditionnés sous vide et conservés à + 4°C. Ils seront transférés dans le liquide de Ashman immédiatement avant les premières acquisitions d'imagerie. Le délai entre la décongélation, l'acquisition de la microarchitecture et les tests mécaniques est fixé à 48 – 72 heures maximum.

G. Acquisition de la microarchitecture et de son hétérogénéité

La microarchitecture a été acquise par tomographie en utilisant 2 techniques, sur les corps vertébraux conditionnés sous vide :

a/ La *HR-pQCT* ou *tomographie à haute résolution périphérique* (Xtreme CT[®], Scanco Medical AG) en utilisant une résolution de 82 μm ,

b/ La μ -CT ou *microtomographie* (SkyScan[®]) en utilisant une résolution de 35 μm .

Les mesures en HR-pQCT ont été réalisées dans le Service de Rhumatologie – Pavillon F de l'Hôpital Edouard Herriot (Stéphanie Boutroy). Les mesures en μ -CT ont été réalisées dans le laboratoire Animage du CERMEP (Centre d'Exploration et de Recherche Médicales par Emission de Positons, Pr. Marc Janier, Bron).

La microarchitecture a été acquise en μ -CT sur l'ensemble des 31 vertèbres. Cependant, seules 21 vertèbres L3 (11 hommes et 10 femmes, d'âge moyen 75 ± 10 ans pour les hommes et 76 ± 10 ans pour les femmes) ont pu être analysées en HR-pQCT. En effet, au début de notre travail, cet appareil n'était pas encore disponible au Pavillon F et une première campagne de tests mécaniques en compression avait déjà été réalisée sur 10 vertèbres avant l'installation de la HR-pQCT. La microarchitecture n'a été acquise qu'en μ -CT sur ces 10 vertèbres.

La variation locale de la microarchitecture vertébrale (hétérogénéité) a été prise en compte dans cette étude par la réalisation de biopsies virtuelles du corps vertébral en HR-pQCT. Ces biopsies permettent d'apprécier les variations locales des différents paramètres microarchitecturaux et d'en tirer des conclusions sur le comportement mécanique global. Compte tenu de la taille des vertèbres, 2 biopsies ont été réalisées, une sur la moitié antérieure et l'autre sur la moitié postérieure du corps vertébral, de part et d'autre de l'axe médio-latéral et strictement alignées sur l'axe antéro-postérieur médian du corps vertébral. Pour chaque biopsie, 3 zones verticales ont été individualisées correspondant au tiers supérieur, médian et inférieur (**Figure 13**).

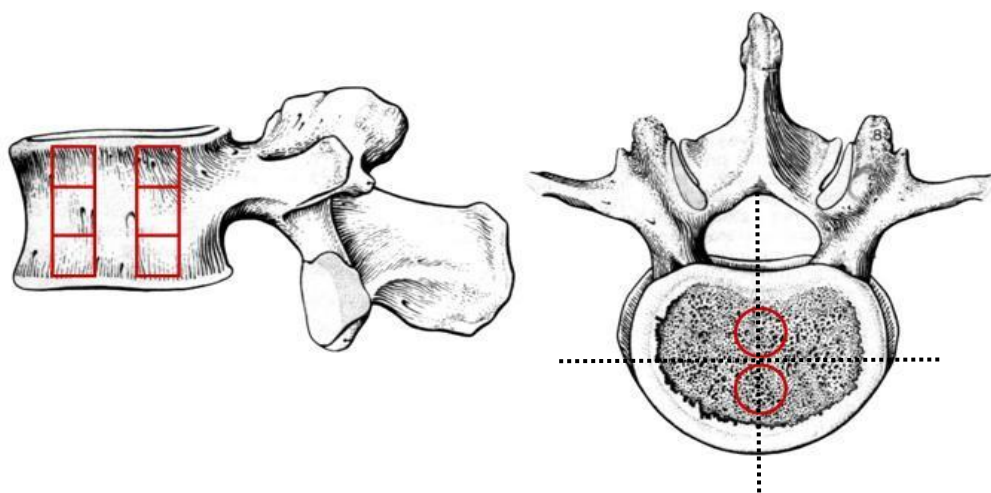


Figure 13 : Représentation schématique de la localisation antéro-postérieure des 2 biopsies virtuelles et de leur segmentation verticale en 3 zones (supérieure, moyenne et inférieure).

Pour chaque vertèbre, nous avons vérifié, sur la pile d'images, que la corticale en avant et le plexus veineux en arrière étaient évités, de même que le croisement des biopsies. Afin de s'affranchir des problèmes de taille de biopsie, nous avons également réalisé une étude pilote afin d'évaluer l'influence du diamètre des biopsies sur les paramètres mesurés. Le **tableau 1** montre, que d'un diamètre de 6,5 mm à un diamètre de 10,5 mm, il n'existe aucune influence du diamètre de la biopsie sur les paramètres microarchitecturaux mesurés en dehors du DA qui dépend du volume d'intérêt analysé. De plus, il existe une corrélation très hautement significative entre les variables mesurées dans les 2 groupes.

	\varnothing 6.5 mm	\varnothing 10.5 mm	Wilcoxon (p)	Spearman (rho)
<i>BV/TV</i>	11.8	12.3	0.17	0.98
<i>SMI</i>	2.67	2.60	0.09	0.98
<i>Tb.N*</i>	0.80	0.78	0.06	0.96
<i>Tb.Th*</i>	282	290	0.06	0.92
<i>Tb.Sp*</i>	1.26	1.29	0.29	0.99
<i>DA</i>	1.73	1.70	0.03	0.98
<i>Tb.Sp*SD</i>	0.38	0.40	0.33	0.73

Tableau 1 : Comparaison (test de Wilcoxon) et corrélation (test de Spearman) entre les paramètres microarchitecturaux mesurés sur les biopsies virtuelles de 6,5 mm et de 10, 5 mm de diamètre. Gras = $p < 0.05$.

Dans notre étude, nous avons pris le parti de réaliser des biopsies virtuelles d'un diamètre de 8,2 mm. Tout d'abord, il s'agissait du meilleur compromis permettant d'obtenir des biopsies virtuelles de bon calibre tout en évitant à la fois la corticale antérieure, le plexus veineux postérieur et le croisement des biopsies, particulièrement pour les plus petites vertèbres incluses. Enfin, à 82 μ m de résolution, une biopsie de 8,2 mm de diamètre permettait l'obtention d'un nombre entier de pixels pour l'acquisition et l'analyse de la microarchitecture et de son hétérogénéité.

H. Tests mécaniques sur les vertèbres L3

Les tests mécaniques ont été réalisés avec l'aide de la Société d'Etudes Mécanium (Directeur : Patrice Clerc) en collaboration avec le Laboratoire de Mécanique des Contacts et des Solides (LAMCoS) de l'INSA de Lyon.

Les essais ont été réalisés sur une machine de traction compression SCHENCK RSA-250[®] (Darmstadt, Germany) (**Figure 14**). Sa traverse supérieure, montée sur une vis à billes avec un entraînement par moteur électrique, est pilotée en vitesse de déplacement.



Figure 14 : Système de traction-compression SCHENCK utilisé dans le test mécanique de compression uniaxiale des vertèbres L3.

Pour l'acquisition des données, deux capteurs intégrés dans la machine ont été utilisés :

a/ Un capteur d'effort, de force nominale 250kN, possédant 6 calibres (de la pleine échelle à 1/50^{ième} de la pleine échelle) et dont l'erreur relative de linéarité est de 0.02%.

b/ Un capteur de déplacement dont la résolution est de 0,08 mm sur une course totale de 150 mm.

Les essais de compression ont été réalisés dans du liquide de Ashman circulant grâce à une pompe et maintenu à environ + 37°C par un régulateur de température (Ministat[®] Huber, Offenburg, Germany), afin de se rapprocher des conditions *in-vivo* et de respecter les conditions d'hydratation (**Figure 15**).

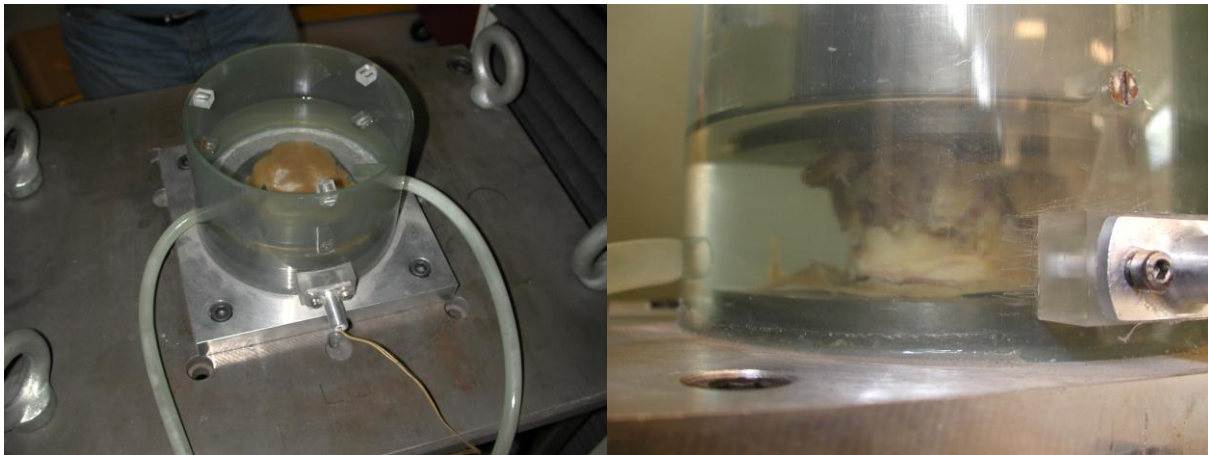


Figure 15 : Réalisation des tests de compression sur une vertèbre immergée dans du liquide de Ashman thermostaté à 37°C.

Pour réaliser les essais de compression dans des conditions optimales, il convient d'avoir des surfaces d'appuis parfaitement planes et parallèles entre elles. Il a donc fallu mouler une interface entre les plateaux vertébraux supérieurs et inférieurs des vertèbres et les plateaux de la presse hydraulique. Ce moulage s'appelle une fourrure de répartition des

pressions. Les faces supérieures et inférieures des échantillons ont été enrobées dans une résine polyester chargée en fibre de verre ⁽³⁶⁾. Le corps vertébral est entouré d'un ruban de pâte à modeler afin d'éviter la formation de ponts de résine puis placé le temps du séchage dans un système de maintien (**Figure 16**).



Figure 16 : Préparation des échantillons avant la compression. Le corps vertébral est entouré de pâte à modeler et les plateaux sont recouverts d'une résine.

Il fallait choisir une résine :

- se polymérisant avec une réaction exothermique limitée pour ne pas entraîner une dégradation de l'os,
- ayant une vitesse de polymérisation rapide afin que l'os ne se déshydrate pas en restant à l'air trop longtemps,
- ayant une résistance mécanique propre très supérieure à la résistance mécanique de l'os pour ne pas casser lors des tests et ne pas interférer avec ceux-ci,
- ayant une durée de polymérisation brève.

Le méthylmétacrylate, choisi par certains auteurs dans la littérature, a été éliminé en raison de sa forte réaction exothermique (+ 80°C) ⁽⁴⁰⁾. La résine retenue a été un mastic armé de type V11 de Soloplast – Vosschemie avec durcisseur à base de Benzoyl Peroxide (Vosschemie, Saint-Egrève, France) caractérisé par une pic de réaction exothermique inférieure à + 40°C pour une épaisseur de 1 à 5 mm maximum, et une durée de polymérisation de 5 à 10 minutes (**Figure 17**).

Pour tester la validité de cette résine dans ce contexte, une épaisseur de 7,5 mm de résine a été moulée sur un plot d'acier de 38 mm de diamètre. Une compression de 58 000 Newtons a été appliquée sur cet ensemble sans qu'aucune rupture de la résine n'ait pu être détectée.



Figure 17 : Vertèbre L3 avant compression recouverte de moulages en résine assurant une surface de contact parfaitement plane.

I. Déroulement des essais de compression et mesures

Chaque corps vertébral L3 avec sa fourrure de répartition a été placé sous la presse hydraulique dans un bac de solution de Ashman thermostatée à 37°C.

L'essai de compression uniaxiale sur un échantillon se décompose en 4 étapes :

a/ *Précyclage* : 10 charges à 100 N puis décharge à 50 N à la vitesse de 0,5 mm/min.

b/ *Chargement initial* : déplacement de la traverse supérieure à une vitesse constante de 0,5 mm/min jusqu'à atteindre un déplacement correspondant à 25% de la hauteur initiale moyenne de l'échantillon.

c/ *Relaxation* : décharge de la vertèbre pour permettre une relaxation de 30 minutes.

d/ *Chargement après relaxation* : reprise de l'essai de compression à 0,5 mm/min, sans réinitialisation des capteurs, jusqu'à imposer un déplacement supplémentaire d'environ 25% de la hauteur initiale de la vertèbre.

Les données acquises au cours de l'essai sont l'effort (exprimé en Newton) et le déplacement correspond (exprimé en mm).

Nous avons choisi un déplacement initial à 25% de la hauteur vertébrale car celui-ci est considéré comme étant le seuil minimal du diagnostic radiologique d'une fracture vertébrale ^(41, 42). Il correspond au grade I de l'échelle semi-quantitative de Genant et al. (**Figure 18**) ⁽⁴²⁾.

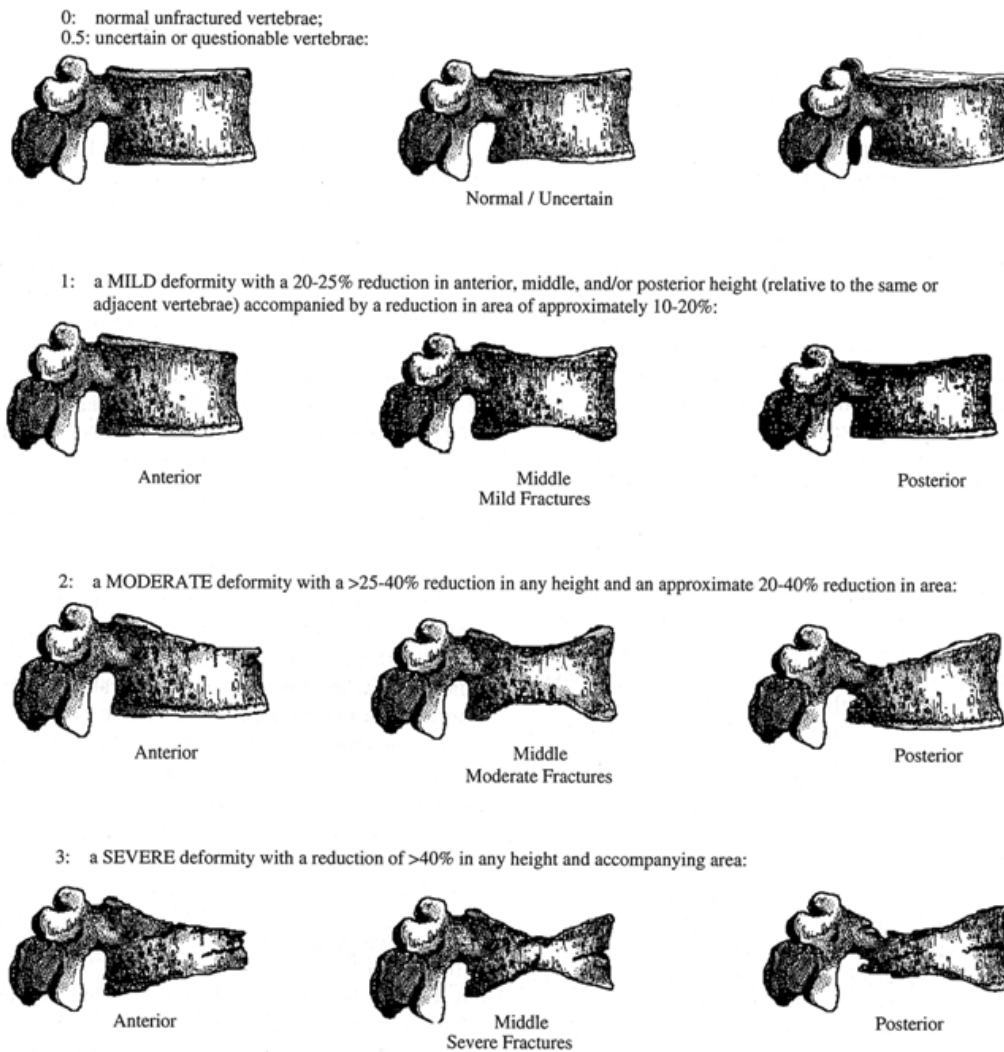


Figure 18 : Représentation schématique de l'échelle semi-quantitative des déformations vertébrales ⁽⁴²⁾.

Nous avons choisi de mener les tests mécaniques en contrôlant le déplacement plutôt que la déformation. En effet, dans notre étude, nous testons une structure visco-élastique complexe, plus qu'une structure uniforme et homogène, dans laquelle la déformation est évidemment variable en raison de l'hétérogénéité de la microarchitecture et de la distribution des composants cortical et trabéculaire du corps vertébral. Ceci exclut un test basé sur le contrôle de la déformation. En outre, les tests mécaniques ont été conduits en compression quasi-statique à 0,5 mm/min. Dans notre

étude, la hauteur vertébrale initiale était comprise entre 26,4 mm et 37,0 mm (moyenne : 30,2 mm \pm 3). Ainsi, la variation inter-spécimen de la hauteur est faible avec un coefficient de variation d'environ 10%. Le taux de « déformation apparente » est donc faible compris entre 0.013/min et 0.019/min. C'est pourquoi, compte tenu de la structure visco-élastique de l'os, ces différences minimales n'ont pas d'influence sur les propriétés mécaniques que nous mesurons.

Pour l'analyse des données mécaniques, une courbe analysant le comportement mécanique est obtenue à partir des mesures d'effort et déplacement (**Figure 19**). La courbe de contrainte – déformation est déduite en fonction de la morphométrie de chaque vertèbre. Les paramètres utilisés sont l'effort (N), le déplacement (mm), la contrainte (MPa) et la déformation (%).

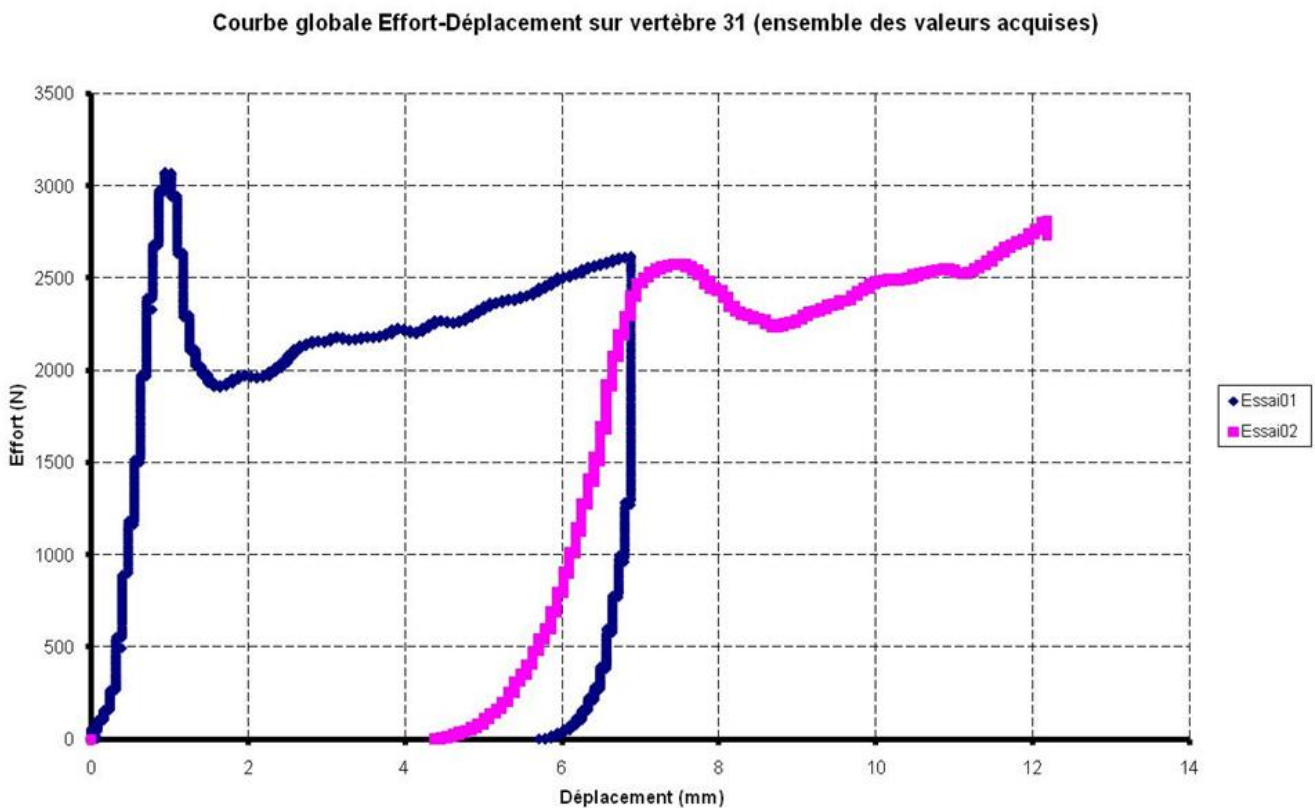


Figure 19 : Courbes obtenues lors d'un test en compression analysant le comportement mécanique initial (courbe bleue) et post-fracturaire du corps vertébral (courbe rose).

DEUXIEME PARTIE :

RESULTATS

Dans cette partie, nous présentons nos résultats sous la forme de 3 articles répondant chacun aux 3 objectifs de l'étude.

Il s'agissait d'évaluer :

a) *La contribution relative de la microarchitecture trabéculaire et corticale au comportement mécanique vertébral* ⁽⁴³⁾

Cette partie a fait l'objet d'un article publié dans le *Journal of Bone and Mineral Research* (IF = 6.443) et a été présenté en « *poster presentation* » au 30^{ème} congrès de l'*American Society for Bone and Mineral Research* en 2008 à Montréal, QC, Canada (**Annexe 1**).

b) *Le rôle de l'hétérogénéité de la microarchitecture trabéculaire dans la prédiction du comportement mécanique vertébral* ⁽⁴⁴⁾

Cette partie a fait l'objet d'un article publié dans le *Journal of Bone and Mineral Research* (IF = 6.443). Le protocole expérimental ainsi que les résultats préliminaires ont été présentés en « *poster presentation* » au 55^{ème} congrès de l'*Orthopaedic Research Society* en 2009 à Las Vegas, NV, USA (**Annexe 2**). Les résultats définitifs ont été soumis pour le 32^{ème} congrès de l'*American Society for Bone and Mineral Research* en octobre 2010 à Toronto, ON, Canada (**Annexe 3**).

c) *Les déterminants microarchitecturaux du comportement mécanique vertébral post-fracturaire et la description de ce comportement mécanique post-fracturaire*

Cette partie fait l'objet d'un article soumis au *Journal of Bone and Mineral Research* (IF = 6.443). Un abstract a également été soumis pour le 32^{ème} congrès de l'*American Society for Bone and Mineral Research* en octobre 2010 à Toronto, ON, Canada (**Annexe 4**).

**I. CONTRIBUTION RELATIVE DE LA MICROARCHITECTURE TRABECULAIRE ET
CORTICALE AU COMPORTEMENT MECANIQUE VERTEBRAL**

ORIGINAL ARTICLE

JBMR

**Contribution of Trabecular and Cortical Components to
Biomechanical Behavior of Human Vertebrae:
An Ex Vivo Study**

Jean-Paul Roux,¹ Julien Wegrzyn,^{1,2} Monique E Arlot,¹ Olivier Guyen,² Pierre D Delmas,¹
Roland Chapurlat,¹ and Mary L Buxsein³

¹INSERM Research Unit 831, Université de Lyon, Lyon, France

²Department of Orthopedic Surgery, Pavillon T, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

³Orthopedic Biomechanics Laboratory, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

RESUME

Le but de ce travail était de déterminer la contribution relative de la masse osseuse et de la microarchitecture trabéculaire et corticale dans le comportement mécanique *ex-vivo* de vertèbres humaines L3.

31 vertèbres L3 ont été prélevées (16 hommes et 15 femmes d'âge respectif 75 ± 10 ans et 76 ± 10 ans). Sur ces vertèbres, la densité minérale osseuse (DMO) a été mesurée par ostéodensitométrie et la microarchitecture corticale et trabéculaire par microtomographie à $35 \mu\text{m}$ de résolution ($\mu\text{-CT}$). Le comportement mécanique vertébral (effort, raideur et travail) a été mesuré sur les corps vertébraux lors d'un test en compression uni-axiale quasi-statique.

La DMO était significativement corrélée au comportement mécanique vertébral ($r = 0,55$ à $0,70$). Excepté le degré d'anisotropie, tous les paramètres de microarchitecture trabéculaire et corticale étaient corrélés au comportement mécanique vertébral ($r = 0,36$ à $0,58$; $p = 0,05$ à $0,001$ et $r = 0,36$ à $0,61$; $p = 0,05$ à $0,0001$, respectivement). Les régressions multiples pas-à-pas ont montré que le meilleur prédicteur 1/ de l'effort était l'association de la DMO, du *structure model index* (SMI) et de l'épaisseur des travées (Tb.Th) ($R = 0,80$), 2/ de la raideur était l'association de la DMO, du Tb.Th et du rayon de courbure antérieur du corps vertébral ($R = 0,82$) et 3/ du travail était l'association de l'épaisseur de la corticale antérieure et la DMO ($R = 0,68$).

Ces résultats montrent que la mesure de l'épaisseur de la corticale antérieure et de son rayon de courbure améliorent significativement la prédiction du comportement mécanique vertébral et donc la prédiction du risque fracturaire.

Contribution of Trabecular and Cortical Components to Biomechanical Behavior of Human Vertebrae: An Ex Vivo Study

Jean-Paul Roux,¹ Julien Wegrzyn,^{1,2} Monique E Arlot,¹ Olivier Guyen,² Pierre D Delmas,¹ Roland Chapurlat,¹ and Mary L Bouxsein³

¹INSERM Research Unit 831, Université de Lyon, Lyon, France

²Department of Orthopedic Surgery, Pavillon T, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

³Orthopedic Biomechanics Laboratory, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

ABSTRACT

Whereas there is clear evidence for a strong influence of bone quantity (i.e., bone mass or bone mineral density) on vertebral mechanical behavior, there are fewer data addressing the relative influence of cortical and trabecular bone microarchitecture. The aim of this study was to determine the relative contributions of bone mass, trabecular microarchitecture, and cortical thickness and curvature to the mechanical behavior of human lumbar vertebrae. Thirty-one L3 vertebrae (16 men, 15 women, aged 75 ± 10 years and 76 ± 10 years, respectively) were obtained. Bone mineral density (BMD) of the vertebral body was assessed by lateral dual energy X-ray absorptiometry (DXA), and 3D trabecular microarchitecture and anterior cortical thickness and curvature was assessed by micro-computed tomography (μ CT). Then compressive stiffness, work to failure, and failure load were measured on the whole vertebral body. BMD was correlated with compressive stiffness ($r = 0.60$), failure load ($r = 0.70$), and work to failure ($r = 0.55$). Except for the degree of anisotropy, all trabecular and cortical parameters were correlated with mechanical behavior ($r = 0.36$ to 0.58 , $p = .05$ to $.001$, and $r = 0.36$ to 0.61 , $p = .05$ to $.0001$, respectively). Stepwise and multiple regression analyses indicated that the best predictor of (1) failure load was the combination of BMD, structural model index (SMI), and trabecular thickness (Tb.Th) ($R = 0.80$), (2) stiffness was the combination of BMD, Tb.Th, and curvature of the anterior cortex ($R = 0.82$), and (3) work to failure was the combination of anterior cortical thickness and BMD ($R = 0.68$). Our data imply that measurements of cortical thickness and curvature may enhance prediction of vertebral fragility and that therapies that improve both vertebral cortical and trabecular bone properties may provide a greater reduction in fracture risk. © 2010 American Society for Bone and Mineral Research.

KEY WORDS: OSTEOPOROSIS; BONE BIOMECHANICS; BONE μ CT; TRABECULAR BONE MICROARCHITECTURE; CORTICAL SHELL

Introduction

Vertebral fracture is one of the major adverse consequences of osteoporosis because it is associated with back pain, disability, and impairment in health-related quality of life.^(1,2) In Europe, the incidence of new vertebral osteoporotic fracture at the ages of 50 to 79 years was 1.1% per year in women and 0.6% per year in men on radiographic evaluation.⁽³⁾ With demographic changes toward an older population, early identification and treatment of patients at risk are required to reduce the burden of osteoporotic vertebral fracture. Measurement of areal bone mineral density (aBMD) employing dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) is the most widely used index of bone strength, and a low aBMD is among the strongest risk factors for vertebral fracture.^(4,5) However, approximately 50% of osteoporotic

fractures occur in patients with an aBMD above the World Health Organization (WHO) diagnosis threshold of osteoporosis (T -score ≤ -2.5).⁽⁶⁻⁹⁾ In addition to aBMD, incorporation of trabecular microarchitecture improves the prediction of the mechanical behavior of vertebral trabecular bone.⁽¹⁰⁻¹²⁾ A few studies have examined the contribution of the cortex to vertebral mechanical behavior.⁽¹³⁻¹⁵⁾ However, these studies have been performed using finite-element analysis (FEA) or 2D histomorphometry without direct mechanical testing on the whole vertebral body. Altogether, the respective contribution of trabecular and cortical bone to whole vertebral strength is still controversial.

Thus the aim of this ex vivo study was to assess the respective contributions of bone mass and trabecular and cortical bone microarchitecture to the mechanical behavior of human lumbar vertebrae.

Received in original form May 20, 2009; revised form June 30, 2009; accepted July 30, 2009. Published online August 3, 2009.

Address correspondence to: Julien Wegrzyn, MD, Department of Orthopedic Surgery, Pavillon T, Hôpital Edouard Herriot, 5, place d'Arsonval, 69437 Lyon, France. E-mail: julien.wegrzyn@chu-lyon.fr

Journal of Bone and Mineral Research, Vol. 25, No. 2, February 2010, pp 356-361

DOI: 10.1359/jbmr.090803

© 2010 American Society for Bone and Mineral Research

Materials and Methods

Bone specimens

Lumbar vertebrae (L3) were harvested fresh from 31 human donors, including 16 men and 15 women. Age of the donors ranged from 54 to 93 years (75 ± 10 years for men and 76 ± 10 years for women). The absence of prevalent fractures or significant bone diseases (i.e., bone metastasis, Paget's disease, major osteoarthritis) involving the lumbar spine was assessed by high-resolution lateral radiographs of the whole vertebra (Faxitron X-Ray Corporation, Lincolnshire, IL, USA). Bone mineral content (BMC, g) and lateral areal bone mineral density (aBMD, g/cm^2) of the vertebral body were measured using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA, Delphi W, Hologic, Waltham, MA, USA). Volumetric BMD (vBMD, g/cm^3) was calculated using the following formula: BMC/vertebral volume measured according to Archimedes' method after soft tissues and posterior arches removal. Bone specimens were maintained frozen at -20°C wrapped with gauze in saline solution until micro-computed tomographic (μCT) image acquisition and mechanical testing.⁽¹⁶⁾

μCT image acquisition

After thawing at room temperature (20°C), image acquisition was performed in Ashman's solution. Ashman's solution was used to minimize changes in the mechanical properties of bone.^(16,17) Image acquisition of the whole vertebral body was performed using a μCT device (Skyscan 1076, Aartselaar, Belgium). A nominal isotropic voxel size of $35\ \mu\text{m}$ was used (field of view $70\ \text{mm}$, 2000×2000 pixels; X-ray source: $100\ \text{kV}$, $100\ \mu\text{A}$). 2D to 3D processing, analysis, and visualization were performed using Skyscan Ant software (Fig. 1). The following 3D trabecular microarchitectural parameters were assessed: bone volume per tissue volume (BV/TV, %), direct trabecular thickness (Tb.Th, μm), degree of anisotropy (DA, n), and structural model index (SMI, n).

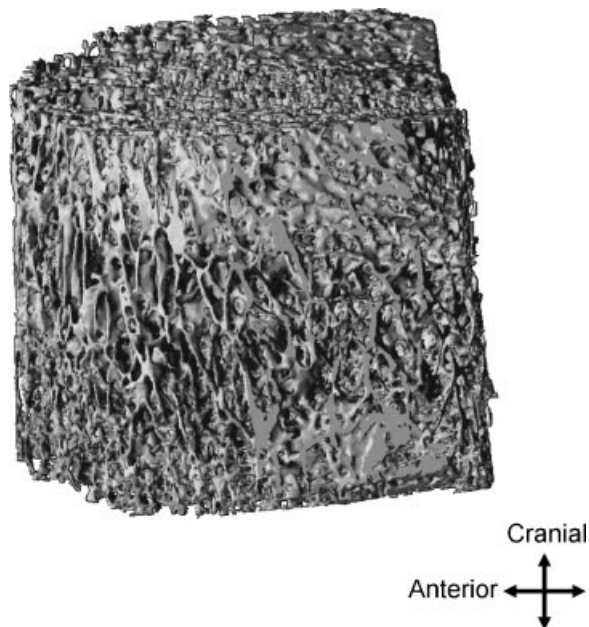


Fig. 1. Vertebral trabecular bone compartment of a 75-year-old man ($\text{BV}/\text{TV} = 13.58\%$).

DA corresponds to a measure of preferential alignment of the trabeculae along a directional axis ($0 = \text{isotropic}$; $1 = \text{anisotropic}$). SMI reflects the rod- versus plate-like nature of the structure ($0 = \text{plate-like}$; $3 = \text{rod-like}$). Since wedge vertebral fractures are the most prevalent fracture type,⁽¹⁸⁾ we measured features of the anterior cortex, including cortical thickness (Ct.Th, μm) and cortical radius of curvature (Ct.Curv, mm). Ct.Curv measurement was expressed by the mean of three 2D slice-scans using Morpho Expert Explora Nova software (La Rochelle, France) (Fig. 2).

Mechanical testing

After μCT acquisition, vertebral bodies were kept moist at 4°C with Ashman's solution until mechanical tests. Before testing, a polyester resin interface (Soloplast V11, Vosschemie, Saint-Egrève, France) with a quick-setting polymerization at low temperature was applied to each endplate of the vertebral body to achieve parallel surfaces for load application. Then quasi-static uniaxial compressive testing was performed on the whole vertebral body submerged in Ashman's solution at controlled 37°C with a screw-driven machine (Schenck RSA-250, Darmstadt, Germany) under displacement control at $0.5\ \text{mm}/\text{s}$ until failure. The compressive load and displacement were assessed by $5000\ \text{N}$ load cell (TME, F 501 TC) and a displacement transducer mounted directly on the vertebral resin endplates (Mécanium, Lyon, France). Preconditioning was performed prior to testing (10 cycles with loading at $100\ \text{N}$ and unloading at $50\ \text{N}$). The following parameters were measured from the load-displacement data: failure load (N), defined by the force at the maximum on the load-displacement curve; compressive stiffness (N/mm), defined by the linear part of the load-displacement curve slope between 25% and 75% of the failure load; and work to failure (N-mm), defined by the area under the load-displacement curve to the failure load. Because of the vertebral shape, the measurement of cross-sectional area was unreliable, and therefore, adjusted parameters (i.e., ultimate stress and Young's modulus) were not used in this study.

Statistical analysis

Shapiro-Wilk tests were used to assess the normality of the distributions. For cortical radius of curvature, cortical thickness, and compressive work, distributions were normalized using logarithmic transformation. Data were presented as the mean, standard deviation, and range. The following tests were used: (1) paired t test for the comparison between gender, (2) Pearson coefficients of correlation for the analysis of the relationships between two variables, and (3) stepwise forward multiple regression models including partial correlation coefficients (semipartial) for the selection of variables explaining mechanical testing. Results were considered significant if $p < .05$. All statistical analyses were performed using SPSS 16.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

Results

Means, standard deviations, and range of DXA, μCT , and mechanical test parameters are shown in Table 1. No effect of sex

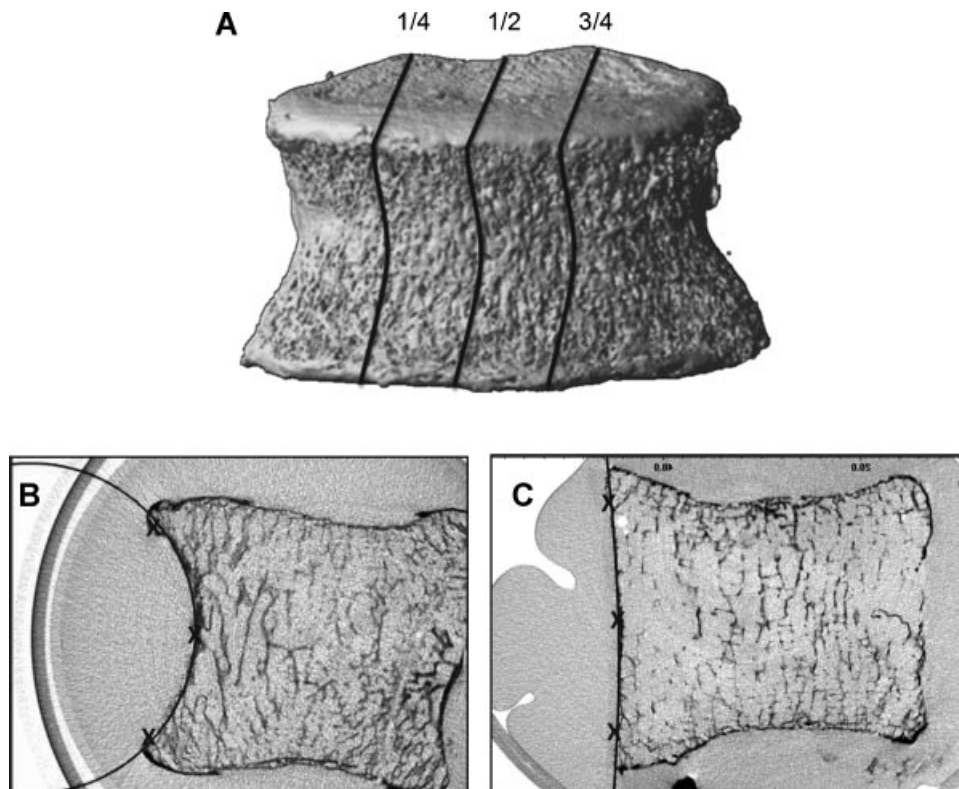


Fig. 2. (A) Three 2D slices were selected for measurement of the radius of curvature (1/4, 1/2, and 3/4 positions). The radius of curvature on the anterior cortical was expressed by the mean of these three measures. B, C. Anterior cortical radius of curvature measurement. Three points (superior, middle, and inferior) were positioned on the anterior cortex, and then a circle was automatically defined. (B) A 54 year-old female, radius of curvature = 29.18 mm. (C) An 86 year-old female, radius of curvature = 70.09 mm.

Table 1. Descriptive Statistics of Measured Parameters

	Mean ± SD	Range
DXA measurements		
BMC (g)	6.6 ± 1.69	2.96–9.68
BMD (g/cm ²)	0.62 ± 0.11	0.36–0.80
vBMD (g/cm ³)	0.13 ± 0.03	0.06–0.20
μCT measurements		
BV/TV (%)	15.31 ± 5.05	7.17–25.85
Tb.Th (μm)	224 ± 44	160–330
DA (n)	0.44 ± 0.04	0.36–0.51
SMI (n)	1.83 ± 0.24	1.26–2.25
Ct.Th (μm)	641 ± 400	206–1983
Ct.Curv (mm)	33 ± 15	12–70
Mechanical tests		
Failure load (N)	2644 ± 1012	651–5481
Compressive stiffness (N/mm)	3072 ± 1545	663–6741
Work to failure (N/mm)	1640 ± 978	453–4158

DXA = dual energy X-ray absorptiometry; BMC = bone mineral content; BMD = bone mineral density; vBMD = volumetric bone mineral density; μCT = micro-computed tomography; BV/TV = bone volume/tissue volume; Tb.Th = trabecular thickness; DA = degree of anisotropy; SMI = structure model index; Ct.Th = anterior cortical thickness; Ct.Curv = anterior cortical radius of curvature.

was found except for BMC, which was significantly higher in males than in females ($7.18 \text{ g} \pm 1.88$ versus $5.99 \text{ g} \pm 1.25$, $p = .048$). No effect of age was found except for failure load ($r = -0.37$, $p = 0.04$).

Effect of bone mass and trabecular bone microarchitecture on mechanical behavior

Bone mass parameters (i.e., BMD, vBMD, and BV/TV) were strongly correlated with failure load, compressive stiffness, and work to failure (range, $r = 0.47$ to 0.70 , $p = .007$ to $.0001$) except vBMD and BV/TV, which were not correlated with work to failure (Table 2).

Trabecular microarchitecture variables were correlated with mechanical behavior, except for DA (see Table 2). Specifically, failure load was correlated with BV/TV and SMI ($r = 0.47$, $p = .007$ and $r = -0.58$, $p = .001$ respectively), compressive stiffness with BV/TV and SMI ($r = .48$, $p = .006$ and $r = -0.43$, $p = .017$, respectively), and work to failure with SMI and Tb.Th ($r = -0.36$, $p = .046$ and $r = .44$, $p = .014$, respectively). Stepwise regression analyses indicated that among the trabecular microarchitecture variables, SMI was the best predictor of the mechanical behavior of the whole vertebrae.

Effect of cortical bone on mechanical behavior

Failure load was positively correlated with Ct.Th ($r = 0.36$, $p = .046$). Work to failure was positively correlated with Ct.Th

Table 2. Pearson Correlation Coefficients Between Bone Mass Parameters, Trabecular Microarchitecture Parameters, Cortical Parameters, and Mechanical Behavior

	BMC	BMD	vBMD	BV/TV	Tb.Th	DA	SMI	Ct.Th	Ct.Curv	Failure load	Stiffness
BMD (g/cm ²)	0.86***										
vBMD (g/cm ³)	0.51**	0.64***									
BV/TV (%)	0.34	0.58***	0.70***								
Tb.Th (μm)	0.42*	0.35	0.08	0.37*							
DA (n)	-0.11	-0.18	-0.34	-0.59***	-0.42*						
SMI (n)	-0.27	-0.47**	-0.45*	-0.80***	-0.35	0.21					
Ct.Th ^a (μm)	0.61***	0.46**	0.09	0.29	0.68***	-0.09	-0.35				
Ct.Curv ^a (mm)	-0.60***	-0.50**	-0.27	-0.03	-0.36*	0.09	-0.14	-0.41*			
Failure load (N)	0.56***	0.70***	0.50**	0.47**	0.08	0.09	-0.58***	0.36*	-0.16		
Stiffness (N/mm)	0.45*	0.60***	0.61***	0.48**	-0.22	-0.02	-0.43*	0.01	0.06	0.75***	
Work to failure ^a (N/mm)	0.45*	0.55***	0.17	0.27	0.44*	0.07	-0.36*	0.61***	-0.36*	0.67***	0.14

BMC = bone mineral content; BMD = bone mineral density; vBMD = volumetric bone mineral density; BV/TV = bone volume/tissue volume; Tb.Th = trabecular thickness; DA = degree of anisotropy; SMI = structure model index; Ct.Th = anterior cortical thickness; Ct.Curv = anterior cortical radius of curvature.

^aLogarithmic transformation.

* $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$.

and negatively correlated with Ct.Curv ($r = .61$, $p < .0001$ and $r = -0.36$, $p = .049$, respectively; see Table 2). Stiffness was not related to either cortical parameter.

Combined effects of trabecular and cortical bone on mechanical behavior

Stepwise regression analyses were performed to assess the best association between bone mass (i.e., BMD and BV/TV), trabecular microarchitectural (Tb.Th, DA, and SMI), and cortical (Ct.Th and Ct.Curv) parameters (Table 3). To explain failure load, the

introduction of BMD (first step; $p < .0001$), SMI (second step; $p = .007$), and Tb.Th (third step; $p = .04$) in a multiple regression model was significant. Therefore, the combination of BMD, SMI, and Tb.Th was found as the best predictor of failure load ($R = 0.80$, $p < .0001$).

To explain compressive stiffness, the introduction of BMD (first step; $p < .0001$), Tb.Th (second step; $p = .003$), and Ct.Curv (third step; $p = .008$) in a multiple regression model was significant. Therefore, the combination of BMD, Tb.Th, and Ct.Curv was found as the best predictor of compressive stiffness ($R = 0.82$, $p < .0001$).

To explain work to failure, the introduction of Ct.Th (first step; $p = .008$) and BMD (second step; $p = .04$) in a multiple regression model was significant. Therefore, the combination of Ct.Th and BMD was found as the best predictor of work to failure ($R = 0.68$, $p < .0001$).

In addition, the correlation between work to failure with Ct.Th remained significant after adjustment for BMD ($p = .005$, partial correlation).

Table 3. Multiple Regression Analysis Including the Coefficient of Determination (R^2), the P value, and the Part Correlation (Semipartial Correlation r^2) for Each Variable Included in the Models

Variables		Final R^2	Part correlation (r^2)	p value
Failure load	BMD		0.28	<.0001
	SMI		0.11	.007
	Tb.Th*		0.06	.039
		0.64		<.0001
Stiffness	BMD		0.62	<.0001
	Tb.Th*		0.13	.003
	Ct.Curv		0.10	.008
		0.67		<.0001
Work to failure	BMD		0.09	.038
	Ct.Th		0.16	.008
		0.46		<.0001

Discussion

The aim of this study was to determine the relative contributions of bone mass, trabecular microarchitecture, and cortical thickness and curvature to mechanical behavior of human lumbar vertebrae. Our study showed that bone mass parameters (BMC, BMD, vBMD, and BV/TV) were strongly correlated with vertebral compressive stiffness and failure load, whereas only BMC and BMD were associated with work to failure.

It is important to note that we performed a structural test of the whole vertebral body, and thus one would predict that size- and mass-related variables would be associated with the structural properties. BMD and BMC measurements include both trabecular and cortical compartments, whereas BV/TV only assesses trabecular bone. This may explain the observation that

BV/TV was not correlated with work to failure, although BMD was, because energy absorption (evaluated by work to failure) seemed to be largely dissipated by the cortical shell, as assessed by the significant correlation between cortical parameters and work to failure. Although previous studies have shown that trabecular bone mainly dissipates energy,^(19,20) discrepancy with our results can be explained by our elderly population with a very low BV/TV giving a preponderant role to the cortical shell.

Some, but not all, features of trabecular and cortical microarchitecture were correlated with mechanical behavior. Among trabecular bone parameters, SMI was the strongest predictor of mechanical behavior. This may be because SMI reflects both bone mass and trabecular architecture.⁽²¹⁾

Fractures can occur because bones are too flexible, too weak, do not absorb enough energy, and/or are not resistant to repetitive loading. Our stepwise and multiple regression analyses indicated that the best predictor of failure load was the combination of BMD, SMI, and Tb.Th, whereas stiffness was best predicted by the combination of BMD, Tb.Th, and curvature of the anterior cortex. Work to failure was best predicted by the combination of BMD and anterior cortical thickness. Taken together, our results indicate that the cortical shell determines flexibility and energy absorption, whereas the trabecular bone features seem to affect the load-bearing capacity. Since our study had a relatively small sample size for conducting multiple regression analyses, it would be important to validate these patterns in future larger studies.

The contribution of the cortex to vertebral strength and to vertebral fractures remains a topic of keen interest. The so-called cortical shell of the vertebral body is thin and porous and perhaps is better thought of as a thin membrane of fused trabeculae than as a true cortex. Thus one difficulty in sorting out the role of the vertebral cortex, particularly in aged individuals, is that the extreme thinness of the cortex makes it difficult to measure with most nondestructive techniques. Previous studies using 2D histomorphometry reported that values of Ct.Th ranged from 180 to 600 μm .^(14,15,22) In this study we found values of Ct.Th that were slightly higher (mean value 641 μm) than the histomorphometric estimates and thus may have been slightly overestimated because of μCT resolution. Overestimation was reported previously by Cendre and colleagues and was attributed to a partial volume effect.⁽²³⁾

Nonetheless, although most studies have emphasized the rapid loss of trabecular bone mass following menopause as a primary determinant of vertebral fragility, both old and new studies point to an important role for the cortex, particularly when trabecular bone volume is low. Despite a significant age-related decrease in lumbar vertebra cortical thickness,⁽¹⁴⁾ there is a great deal of evidence indicating that the relative contribution of the shell to vertebral strength increases with age.^(24–26) With cadaver studies reporting that the cortical shell accounts for anywhere from 10% to 75% of the vertebral strength,^(24,27,28) differences in these estimates of trabecular versus cortical load sharing are most likely due to differences in experimental methods for specimen preparation (cortical shell removal) and mechanical testing (loading conditions). Because of the technical difficulty of precisely removing the thin cortical shell using experimental methods, finite-element analysis (FEA) modeling

has been used to study cortical versus trabecular load sharing.^(13,29,30) Using μCT -based FEA, Eswaran and colleagues found that the proportion of bone mass attributable to the cortical shell (excluding the endplates) was large, ranging from 21% to 39% across vertebrae, even though the average shell thickness was only on the order of 380 μm . The fraction of load taken by this thin shell was maximal at midsection, where it varied between 38% and 54%. In contrast, the fraction of load carried by the cortical shell was minimal near the endplates, on average only 15%. Moreover, the contribution of the cortical shell varies with trabecular bone volume both within a given vertebra (i.e., along the superoinferior axis) and among subjects with different trabecular densities. Indeed, one FEA study estimated that the relative contribution of the shell to vertebral strength was 12% in normal subjects but 56% in older osteoporotic subjects.⁽³⁰⁾ Taken together, these FEA studies, along with our experimental data, confirm that the role of the vertebral cortex shell is substantial and may be very important in the etiology and prevention of vertebral fractures.

Our study had several limitations worth mentioning. The loading mode used was uniaxial uniform compression. Because most osteoporotic vertebral fractures are wedge fractures,⁽¹⁸⁾ the response to combined compression and anteroposterior bending is of clinical interest. Although the role of the shell under such loading conditions is unclear, it is possible that the shell may play a more important role under such loading conditions because peripheral bone has a greater structural role in bending behavior for the vertebra.⁽³¹⁾ Activities that require forward bending of the upper body may cause up to 10-fold higher compressive forces on the vertebra compared with standing upright.⁽³²⁾ Moreover, this study did not take into account other determinants of fracture risk such as bone composition (i.e., mineral content, crystal size and perfection, and collagen maturity).⁽³³⁾

In conclusion, our data imply that measurements of cortical thickness and curvature may enhance predictions of vertebral fragility and that therapies that improve both vertebral cortical and trabecular bone properties of vertebrae may provide a greater reduction in fracture risk.

Disclosures

The authors state that they have no conflicts of interest.

Acknowledgments

We would like to thank Mr. Patrice Clerc (Mecanum, INSA, Lyon, France) for his precious collaboration to mechanical tests. This study was supported in part by an unrestricted research grant from Eli-Lilly to INSERM. JPR and JW contributed equally to this work.

References

1. Ettinger B, Black DM, Nevitt MC, et al. Contribution of vertebral deformities to chronic back pain and disability. *J Bone Miner Res*. 1992;7:449–456.

2. Oleksik A, Lips P, Dawson A, et al. Health-related quality of life in post-menopausal women with low BMD with or without prevalent vertebral fracture. *J Bone Miner Res.* 2000;15:1384–1392.
3. Felsenberg D and the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS) Group. Incidence of vertebral fracture in Europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *J Bone Miner Res.* 2002;17:716–7124.
4. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ.* 1996;312:1254–1259.
5. World Health Organization. *Assessment of Fracture Risk and Its Application to Screening for Post-menopausal Osteoporosis.* Geneva: WHO; 1994.
6. McDonnell P, McHugh PE, O'Mahoney D. Vertebral osteoporosis and trabecular bone quality. *Ann Biomed Eng.* 2007;35:170–189.
7. Sornay-Rendu E, Munoz F, Garnero P, Duboeuf F, Delmas PD. Identification of osteopenic women at high risk of fracture: the OFELY study. *J Bone Miner Res.* 2005;20:1813–1819.
8. Siris ES, Chen YT, Abbott TA, et al. Bone mineral density thresholds for pharmacological intervention to prevent fractures. *Arch Intern Med.* 2004;164:1108–1112.
9. Schuit SCE, van der Klift M, Weel AEAM, et al. Fracture incidence and association with bone mineral density in elderly men and women: the Rotterdam study. *Bone.* 2004;34:195–202.
10. Hulme PA, Boyd SK, Ferguson SJ. Regional variation in vertebral bone morphology and its contribution to vertebral fracture strength. *Bone.* 2007;41:946–957.
11. Buckley JM, Loo K, Motherway J. Comparison of quantitative computed tomography-based measures in predicting vertebral compressive strength. *Bone.* 2007;40:767–774.
12. Ebbesen EN, Thomsen JS, Beck-Nielsen H, Nepper-Rasmussen HJ, Mosekilde L. Lumbar vertebral body compressive strength evaluated by dual-energy X-ray absorptiometry, quantitative computed tomography and ashing. *Bone.* 1999;25:713–724.
13. Eswaran SK, Gupta A, Adams MF, Keaveny TM. Cortical and trabecular load sharing in the human vertebral body. *J Bone Miner Res.* 2006;21:307–314.
14. Ritzel H, Amling M, Pösl M, Hahn M, Dellling G. The thickness of human vertebral cortical bone and its changes in aging and osteoporosis: a histomorphometric analysis of the complete spinal column from thirty-seven autopsy specimens. *J Bone Miner Res.* 1997;12: 89–95.
15. Silva MJ, Wang C, Keaveny TM, Hayes WC. Direct and computed tomography thickness measurements of the human vertebral shell and endplate. *Bone.* 1994;15:409–414.
16. Martin RB, Sharkey NA. Mechanical effects of post-mortem changes, preservation, and allograft bone treatments. In: Cowin SC, ed. *Bone Mechanics Handbook* 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2001;20.1–20.24.
17. Ashman RB, Donofrio M, Cowin SC, van Buskirk WC. Postmortem changes in the elastic properties of trabecular bone. *Trans Orthop Res Soc.* 1982;7:63–67.
18. Eastell R, Cedel SL, Wahner HW, Riggs BL, Melton LJ. Classification of vertebral fractures. *J Bone Miner Res.* 1991;6:207–215.
19. Seeman E, Delmas PD. Bone quality: the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med.* 2006;354:2250–2261.
20. Keaveny TM, Hayes WC. A 20-year perspective on the mechanical properties of trabecular bone. *J Biomech Eng.* 1993;115:534–542.
21. Stauber M, Muller R. Volumetric spatial decomposition of trabecular bone into rods and plates—a new method for local bone morphology. *Bone.* 2006;38:475–484.
22. Vesterby A, Mosekilde L, Gundersen HJG, Melsen F, Holme K, Sorensen S. Biomechanically meaningful determinants of the in vitro strength of lumbar vertebrae. *Bone.* 1991;12:219–224.
23. Cendre E, Mitton D, Roux JP, et al. High-resolution computed tomography for architectural characterization of human lumbar cancellous bone: relationships with histomorphometry and biomechanics. *Osteoporos Int.* 1999;10:353–360.
24. Rockoff SD, Sweet E, Bleustein J. The relative contribution of trabecular and cortical bone to the strength of human lumbar vertebrae. *Calcif Tissue Res.* 1969;3:163–175.
25. Mosekilde L. Vertebral structure and strength in vivo and in vitro. *Calcif Tissue Int.* 1993;53:5121–5126.
26. Riggs BL, Melton LJ. Involution osteoporosis. *N Engl J Med.* 1986; 314:1676–1686.
27. Andresen R, Werner HJ, Schober HC. Contribution of the cortical shell of vertebrae to mechanical behavior of the lumbar vertebrae with implications for predicting fracture risk. *Br J Radiol.* 1998;71:759–765.
28. McBroom RJ, Hayes WC, Edwards WT, Goldberg RP, White AA. Prediction of vertebral body compressive fracture using quantitative computed tomography. *J Bone Joint Surg Am.* 1985;67:1206–1214.
29. Homminga J, van Rietbergen B, Lochmuller E, Weinans H, Eckstein F, Huiskes R. The osteoporotic vertebral structure is well adapted to the loads of daily life, but not to infrequent “error” loads. *Bone.* 2004;34:510–516.
30. Faulker KG, Cann CE, Hasegawa BH. Effect of bone distribution on vertebral strength: assessment with a patient-specific non linear finite element analysis. *Radiology.* 1991;179:669–674.
31. Crawford RP, Keaveny TM. Relationship between axial and bending behaviors of the human thoracolumbar vertebra. *Spine.* 2004;29: 2248–2255.
32. Duan Y, Seeman E, Turner CH. The biomechanical basis of vertebral body fragility in men and women. *J Bone Miner Res.* 2001;12:2276–2283.
33. Gourion-Arsiquaud S, Faibish D, Myers E, et al. Use of FTIR spectroscopic imaging to identify parameters associated with fragility fracture. *J Bone Miner Res.* 2009; 24: 1565–1571.

**II. ROLE DE L'HETEROGENEITE DE LA MICROARCHITECTURE TRABECULAIRE
DANS LA PREDICTION DU COMPORTEMENT MECANIQUE VERTEBRAL**

**ROLE OF TRABECULAR MICROARCHITECTURE
AND ITS HETEROGENEITY PARAMETERS IN THE MECHANICAL BEHAVIOR
OF *EX-VIVO* HUMAN L3 VERTEBRAE**

Julien Wegrzyn ^{1 2 4}, Jean-Paul Roux ^{1 4}, Monique E. Arlot ¹, Stéphanie Boutroy ¹, Nicolas Vilayphiou ¹, Olivier Guyen ², Pierre D. Delmas ¹, Roland Chapurlat ¹, Mary L. Bouxsein ³

¹ INSERM Research Unit 831, Université de Lyon, Lyon, France

² Department of Orthopedic Surgery, Pavillon T, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

³ Orthopedic Biomechanics Laboratory, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

⁴ These authors contributed equally to this work

RESUME

Le but de ce travail était de déterminer la contribution relative de la microarchitecture trabéculaire et de son hétérogénéité dans la prédiction du comportement mécanique vertébral.

21 vertèbres humaines L3 ont été prélevées (11 hommes et 10 femmes d'âge respectif 75 ± 10 ans et 76 ± 10 ans). Sur ces vertèbres, la densité minérale osseuse (DMO) a été mesurée par ostéodensitométrie et la microarchitecture trabéculaire et son hétérogénéité par tomographie périphérique à haute résolution (HR-pQCT à $82\mu\text{m}$ de résolution). Le comportement mécanique vertébral (effort, raideur et travail) a été mesuré sur les corps vertébraux lors d'un test en compression uni-axiale quasi-statique. L'hétérogénéité de la microarchitecture trabéculaire a été déterminée sur le volume trabéculaire vertébral global et en utilisant 2 biopsies virtuelles verticales du corps vertébral (une antérieure et une postérieure), chacune divisée en 3 zones verticales (supérieure, moyenne et inférieure). Nous avons défini des paramètres d'hétérogénéité 1/ par le ratio antéro-postérieur des paramètres de microarchitecture et 2/ par le coefficient de variation des paramètres de microarchitecture mesurés au niveau des 3 zones verticales.

Dans ce étude, la DMO explique 44% de la variation du comportement mécanique vertébral, le BV/TV 53% et la microarchitecture trabéculaire 66%. La combinaison de la masse osseuse (DMO ou BV/TV) à la microarchitecture trabéculaire et à son hétérogénéité permet d'améliorer significativement la prédiction du comportement mécanique vertébral jusqu'à 86% de sa variation.

En conclusion, ces résultats suggèrent que la détermination de la variation régionale de la microarchitecture permet d'améliorer la prédiction du risque fracturaire par rapport à la seule détermination de la masse osseuse et/ou de la microarchitecture trabéculaire.

ROLE OF TRABECULAR MICROARCHITECTURE AND ITS HETEROGENEITY PARAMETERS
IN THE MECHANICAL BEHAVIOR OF *EX-VIVO* HUMAN L3 VERTEBRAE

Julien Wegrzyn ^{1 2 4}, Jean-Paul Roux ^{1 4}, Monique E. Arlot ¹, Stéphanie Boutroy ¹, Nicolas Vilayphiou ¹, Olivier Guyen ², Pierre D. Delmas ¹, Roland Chapurlat ¹, Mary L. Bouxsein ³

¹ INSERM Research Unit 831, Université de Lyon, Lyon, France

² Department of Orthopedic Surgery, Pavillon T, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

³ Orthopedic Biomechanics Laboratory, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

⁴ These authors contributed equally to this work

Running title: trabecular architecture heterogeneity in vertebrae

E-mail addresses: J Wegrzyn: julien.wegrzyn@chu-lyon.fr, JP Roux: roux@sante.univ-lyon1.fr,

ME Arlot: arlot@sante.univ-lyon1.fr, S Boutroy: stephanie.boutroy@inserm.fr,

N Vilayphiou: nicolas.vilayphiou@inserm.fr, O Guyen: olivier.guyen@chu-lyon.fr,

R Charpulat: roland.chapurlat@inserm.fr, ML Bouxsein: mbouxsei@bidmc.harvard.edu

Corresponding author: Julien Wegrzyn, MD

Department of Orthopedic Surgery – Pavillon T, Hôpital E. Herriot, 5, place d'Arsonval, 69437 Lyon – France

Phone: +33 4 72 11 04 69, Fax: + 33 4 72 11 04 41, Email: julien.wegrzyn@chu-lyon.fr

Number of words: 5,922

Number of table: 5

Number of figures: 2 – Grey levels: 2

CONFLICT OF INTEREST

All authors have no conflict of interest related to this article.

This study was supported in part by an unrestricted research grant from Eli-Lilly to INSERM, and by the National Institute of Arthritis, Musculoskeletal and Skin Diseases (AR053986).

ABSTRACT

Low BMD is a strong risk factor for vertebral fracture risk in osteoporosis. However, many fractures occur in people with moderately decreased or normal BMD. Our aim was to assess the contributions of trabecular microarchitecture and its heterogeneity to the mechanical behavior of human lumbar vertebrae. Twenty-one human L3 vertebrae were analyzed for BMD by DXA and microarchitecture by HR-pQCT, and then tested in axial compression. Microarchitecture heterogeneity was assessed using two vertically oriented virtual biopsies – one anterior (Ant) and one posterior (Post) – each divided into 3 zones (superior, middle and inferior), and using the whole vertebral trabecular volume for $Tb.Sp*SD$. Heterogeneity parameters were defined as: 1) ratios of Ant to Post microarchitectural parameters; and 2) the coefficient of variation of microarchitectural parameters from the superior, middle and inferior zones. BMD alone explained up to 44% of the variability in vertebral mechanical behavior, BV/TV up to 53% and trabecular architecture up to 66%. Importantly, bone mass (BMD or BV/TV) in combination with microarchitecture and its heterogeneity improved the prediction of vertebral mechanical behavior, together explaining up to 86% of the variability in vertebral failure load. In conclusion, our data indicate that regional variation of microarchitecture assessment expressed by heterogeneity parameters may enhance prediction of vertebral fracture risk.

KEY WORDS

Osteoporosis, vertebra, bone biomechanics, trabecular microarchitecture, heterogeneity.

Accepted Article

INTRODUCTION

The risk of osteoporotic fracture is greater at skeletal sites where trabecular bone is predominant (i.e., femoral neck, vertebrae and distal radius). Current diagnostic methods for osteoporosis focus on measurement of bone mineral density (BMD) using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). Although low BMD is among the strongest predictors of fracture risk, it is only one aspect of bone strength and its predictive value is correspondingly limited as many fractures occur in people with normal BMD (1). Similarly, in patients receiving anti-resorptive treatment, the 5-8% improvement in spine BMD does not fully explain the observed 50-60% decrease in vertebral fracture incidence (2). These observations highlight the limitations of BMD as a predictor of fracture risk and the need to also consider other parameters, such as microarchitecture, to improve assessment of skeletal fragility.

Previous *in vitro* studies have demonstrated that addition of trabecular microarchitecture to BMD improves the prediction of both trabecular bone mechanical behavior and vertebral strength (3-7). Moreover, using either histomorphometric methods, or pQCT or HR-pQCT, previous studies have assessed the spatial variation of trabecular microarchitecture in vertebral bodies and shown that the structurally weak regions are located in the superior and anterior regions of the vertebral body (8-11). Correlations between vertebral strength and trabecular microarchitecture parameters vary among vertebral regions, suggesting that it may be helpful to account for regional variations in trabecular microarchitecture when predicting vertebral fragility (12). However, despite the potential of trabecular microarchitecture heterogeneity measurements to improve fracture risk assessment, there is limited information about reliable measures of trabecular bone heterogeneity and their clinical utility. Several clinical studies have shown that

assessment of the intra-individual distribution of trabecular separation (Tb.Sp*SD) at the peripheral skeletal sites by HR-pQCT or MRI is useful for discrimination of previously fractured versus non-fractured controls (13-17), but alternate parameters of heterogeneity have not been studied, nor have measurements of Tb.Sp*SD been performed directly on whole vertebrae.

Thus, the aim of the current study was to assess the contribution of trabecular microarchitecture and its regional variation assessment expressed by heterogeneity parameters to the mechanical behavior of human lumbar vertebrae.

MATERIALS AND METHODS

Bone specimens:

Lumbar vertebrae (L3) were harvested fresh from 21 lumbar spines of human donors, including 11 men and 10 women, aged 54 to 93 years-old (75 ± 10 years for men and 76 ± 10 years for women). The absence of prevalent fractures or significant bone diseases (i.e., bone metastasis, Paget's disease, or major osteoarthritis) involving the lumbar spine was confirmed by high-resolution lateral radiographs of the lumbar spine (Faxitron[®] X-Ray Corporation, Lincolnshire, IL, USA). Lumbar osteoarthritis (OA) was evaluated on the lateral radiographs according to the Kellgren/Lawrence (K/L) grading scale (18). Severity of OA was assessed according to the presence of osteophytes and disc narrowing using a four-point scale: normal, minimal, moderate, or severe. Vertebrae with severe OA (grade 4) were excluded. Of those included in the study, 11 (52%), 8 (38%) and 2 (10%) were graded normal, minimal, moderate OA, respectively.

Areal bone mineral density (BMD, g/cm^2) of the vertebral body was measured using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA; Delphi W, Hologic[®], Waltham, MA, USA). Bone specimens were maintained frozen at -20°C wrapped in saline-soaked gauze until mechanical testing (19, 20).

Trabecular microarchitecture and its heterogeneity assessment:

Image acquisition of the whole frozen vertebral body was performed using a high-resolution peripheral quantitative computed tomography device (HR-pQCT, XtremeCT[®], Scanco Medical, Bassersdorf, Switzerland). A nominal isotropic voxel size of $82\mu\text{m}$ was used (1536×1536 pixels, X-ray source: 60 kV, 900 μA). CT slices were perpendicular to the vertebral supero-

inferior axis. The trabecular region of interest was manually defined in order to exclude cortical component of the vertebral body (**Figure 1**).

Bone was segmented using a fixed threshold (175 mg HA/cm^3), and 3D trabecular microarchitectural parameters on the whole vertebral body were assessed with software developed for *ex-vivo* analysis (Scanco Medical): bone volume fraction (BV/TV, %), trabecular thickness (Tb.Th*, μm), trabecular separation (Tb.Sp*, μm), trabecular number (Tb.N*, #/mm), degree of anisotropy (DA, #) and structural model index (SMI, #). BV/TV measurement was based on counting voxels. Microarchitecture measurements, that were computed using direct methods (i.e.; distance transformation algorithms that do not rely on assumptions about the underlying structure), were designated with an asterisk (e.g.; Tb.Th*, Tb.Sp*, Tb.N*) (**21, 22**).

DA is defined as the ratio of minimal Eigen-value to maximal Eigen-value and corresponds to a measure of preferential alignment of the trabeculae along a directional axis (1 = isotropic; > 1 = anisotropic). SMI is calculated by means of three-dimensional image analysis based on a differential analysis of the triangulated bone surface and reflects the rod- versus plate-like nature of the structure (**23**). For an ideal plate- and rod- structure the SMI value is 0 and 3, respectively.

To assess the heterogeneity of vertebral trabecular microarchitecture, microarchitecture parameters were computed for two 8.2 mm diameter vertically oriented virtual biopsies: one located in the anterior and one in the posterior region, both located along the midline. To position these virtual cores, 2 lines were defined on the vertebral body: one line for the middle antero-posterior axis and one line for the middle medio-lateral axis. Each line divided the vertebral body in 4 quadrants. Biopsies were strictly centered on the middle antero-posterior axis and just anterior and posterior to the medio-lateral axis to avoid the cortical shell anteriorly and the venous plexus posteriorly (**Figure 1**). Then, each core was divided into 3 vertical zones (superior, middle and inferior) (**Figure 2**).

The following parameters of heterogeneity were computed: 1) *antero-posterior heterogeneity*: the ratio of antero-posterior trabecular microarchitectural parameters (posterior parameter divided by the anterior one: BV/TV_{ratio} , SMI_{ratio} , $Tb.Sp^*_{ratio}$, $Tb.Th^*_{ratio}$, $Tb.N^*_{ratio}$ and DA_{ratio}); 2) *vertical heterogeneity*: the coefficient of variation (standard deviation / mean) of the vertical 3 zones' trabecular microarchitectural parameters (BV/TV_{cv} , SMI_{cv} , $Tb.Sp^*_{cv}$, $Tb.Th^*_{cv}$, $Tb.N^*_{cv}$ and DA_{cv}); and 3) *global heterogeneity*: the standard deviation of $Tb.Sp^*$ on the entire vertebral trabecular volume ($Tb.Sp^*SD$), reflecting the heterogeneity of the trabecular network (13).

Mechanical testing:

Soft tissues and posterior arches were removed. Then, vertebral bodies were thawed and maintained moist at 4°C with Ashman's solution until mechanical testing (19, 20).

Before testing, a polyester resin interface (Soloplast V11, Vosschemie[®], Saint-Egrève, France) with a quick-setting polymerization at low temperature (exothermic peak of resin polymerization $\leq 40^\circ C$) was applied to each endplate of the vertebral body to achieve parallel surfaces for load application. Then, quasi-static uniaxial compressive testing was performed on the whole vertebral body submerged in Ashman's solution at 37°C with a screw-driven machine (Schenck RSA-250[®], Darmstadt, Germany) under displacement control (0.5 mm/s) until failure. The compressive load and displacement were assessed, respectively, by 5000 N load cell (TME, F 501 TC) and a displacement transducer mounted directly on the vertebral resin endplates (Mécanium[®], Lyon, France). Preconditioning was performed prior to testing (10 cycles with loading at 100 N and unloading at 50 N).

The following parameters were measured from the load-displacement data: failure load (Newton, N), defined by the force at the maximum on the load-displacement curve; compressive

stiffness (N/mm), defined by the linear part of load-displacement curve slope between 25% to 75% of the failure load and work to failure (N.mm), defined by the total area under the load-displacement curve. Because of the vertebral shape, measurement of the cross sectional area was highly variable and therefore, estimated material properties (i.e.; ultimate stress and Young's modulus) were not computed.

Statistical analysis:

Shapiro-Wilk tests were used to assess whether the variables were normally distributed. Most parameters were normally distributed, except for work to failure, BV/TV_{ratio} , SMI_{ratio} ; SMI_{CV} on the posterior biopsy; Tb.Th* and Tb.Sp* on the superior core of the anterior biopsy; Tb.Sp* on the inferior core of the anterior biopsy; Tb.Th*_{CV} and DA_{CV} on the anterior biopsy; Tb.Sp* on anterior and posterior biopsies and Tb.Sp*SD which were normalized using logarithmic transformation.

Data are presented as the mean and standard deviation. The following tests were used: 1) Mann-Whitney-Wilcoxon test for the comparison between sexes, 2) Pearson coefficients of correlation for the analysis of the relationships between two variables, 3) paired t-test for the comparison between anterior and posterior virtual biopsy parameters, 4) Friedman - ANOVA tests for analysis of the relationships between superior, middle and inferior zones of the virtual biopsy and post-hoc paired t-test for vertical parameters, 5) stepwise forward multiple regression models including semipartial correlations for the selection of variables explaining mechanical testing and, 6) partial correlations with adjustments for bone mass. To adjust for multiple comparisons, the threshold for significance was fixed at $p\text{-value} \leq 0.026$ after the Holm-Bonferroni correction (24). All statistical analyses were performed using SPSS® 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

Characteristics of samples and heterogeneity of vertebral trabecular bone:

On the whole vertebral body, BMD averaged 0.62 ± 0.12 g/cm². Mean failure load was 2615 ± 1136 N, mean stiffness was 2938 ± 1585 N/mm and mean work to failure was 1730 ± 1129 N.mm. Descriptive statistics for trabecular microarchitectural parameters are shown in **Table 1**. The Kellgren/Lawrence OA score did not differ between male and female donors, and there were no significant associations between K/L grades and BMD, microarchitecture or mechanical parameters.

There were no differences between specimens from male and female donors, except for vertical heterogeneity expressed by BV/TV_{CV} , which was greater in males than females (0.36 ± 0.17 versus 0.19 ± 0.08 ; $p = 0.008$).

Despite our limited age range, $Tb.N^*$ on the whole trabecular area and $Tb.N^*$ and $Tb.Sp^*$ on anterior biopsy decreased significantly with age ($r = -0.51, -0.56$ and 0.55 ; $p = 0.02, 0.008$ and 0.01 , respectively). No significant correlation was found between age and microarchitecture parameters from the posterior region.

Trabecular architecture was more deteriorated in the anterior vs. posterior region, with lower $Tb.N^*$ ($p = 0.004$) and higher $Tb.Sp^*$ ($p = 0.0001$) and DA ($p = 0.0001$) in the anterior core (**Table 1**).

In the anterior biopsy, the 3 vertical regions differed significantly for BV/TV and SMI ($p = 0.0001$ and 0.021 , respectively) (**Table 1**). Using post-hoc tests on these parameters, the middle

region had a higher BV/TV and a lower SMI compared to the inferior and superior regions ($p = 0.0004$ to 0.004).

In the posterior biopsy, the 3 vertical regions were significantly heterogeneous for BV/TV, SMI, Tb.N*, Tb.Sp* and Tb.Th* ($p = 0.0005$ to 0.013) (**Table 1**), with the middle region characterized by a higher BV/TV and Tb.Th*, and a lower SMI compared to the inferior and superior regions ($p = 0.0026$ to 0.0005). The superior and middle regions had a higher Tb.Sp* and a lower Tb.N* compared to the inferior region ($p = 0.026$ to 0.001).

Relationship among bone mass, trabecular microarchitecture and vertebral mechanical behavior (Table 2):

Bone mass:

BMD and BV/TV were significantly positively correlated with failure load, work to failure and stiffness ($r = 0.54$ to 0.73 ; $p = 0.01$ to < 0.0001 , **Table 2**).

Trabecular microarchitecture:

BV/TV, SMI, Tb.N* and Tb.Sp* were significantly correlated with failure load and stiffness ($|r| = 0.51$ to 0.81 , $p = 0.019$ to < 0.0001 , **Table 2**), but were not related to work to failure.

In multiple regression models using the following equation: mechanical behavior = bone mass + microarchitecture – with mechanical behavior corresponding to failure load or stiffness or work to failure; bone mass corresponding to BMD or BV/TV; and trabecular microarchitectural parameters corresponding to SMI, DA, Tb.Sp* and Tb.Th*, SMI appeared to be the most

pertinent parameter to predict mechanical behavior as it was always the first to be included in the stepwise regression analysis.

Relationship between trabecular microarchitecture heterogeneity and vertebral body mechanical behavior:

Global heterogeneity:

Tb.Sp*SD of the entire vertebral trabecular bone region was negatively correlated with stiffness ($r = -0.49$, $p = 0.023$).

Antero-posterior heterogeneity:

For the anterior biopsy, all trabecular microarchitectural parameters except Tb.Th* and DA were correlated with failure load and stiffness ($|r| = 0.50$ to 0.74 , $p = 0.001$ to 0.0001) (**Table 3**). For the posterior biopsy, only BV/TV was correlated with failure load, and BV/TV and SMI with stiffness. None of the architecture parameters from the anterior and posterior cores were significantly correlated with work to failure.

In multiple regression models using the following equation: mechanical behavior = anterior microarchitecture + posterior microarchitecture – with mechanical behavior corresponding to failure load or stiffness or work to failure; and microarchitecture corresponding to SMI, DA, Tb.Sp* and Tb.Th*, the posterior parameter was consistently excluded from the model. As a result, parameters of the anterior biopsy were the best predictors of mechanical behavior.

Considering the heterogeneity parameters, BV/TV_{ratio} was significantly negatively correlated with failure load and work to failure ($r = -0.53$ and -0.57 , $p = 0.013$ and 0.007 ,

respectively) (**Table 3**). No other anterior-posterior ratios were correlated to vertebral mechanical properties.

Vertical heterogeneity:

As trabecular microarchitectural parameters of the anterior biopsy were the best predictors of mechanical behavior, we studied vertical heterogeneity only on the anterior biopsy.

In the superior region, BV/TV and SMI were significantly correlated with failure load and work to failure ($|r| = 0.49$ to 0.65 , $p = 0.025$ to 0.001); Tb.Sp* was also correlated with failure load ($r = -0.61$, $p = 0.003$). Only Tb.Sp* and Tb.N* were significantly correlated with stiffness ($r = -0.50$ and 0.49 respectively, $p = 0.02$). In the middle region, BV/TV, SMI and Tb.Sp* were significantly correlated with failure load and stiffness ($|r| = 0.48$ to 0.68 , $p = 0.026$ to 0.001). In the inferior region, all trabecular microarchitectural parameters were significantly correlated with failure load and stiffness ($|r| = 0.52$ to 0.71 , $p = 0.015$ to 0.0001) except that DA was not related to failure load and stiffness, and Tb.Th* was not related to stiffness (**Table 4**). No significant correlations were found with work to failure.

Regarding the vertical heterogeneity parameters (BV/TV_{cv}, SMI_{cv}, Tb.Sp*_{cv}, Tb.Th*_{cv}, Tb.N*_{cv} and DA_{cv}), none were significantly correlated with mechanical behavior.

Relative role of bone mass parameters, trabecular microarchitecture and its heterogeneity parameters on mechanical behavior:

To determine relative contribution of heterogeneity parameters to vertebral mechanical behavior, we performed multiple regression models using the following equation: mechanical behavior = bone mass + microarchitecture + microarchitecture heterogeneity – with mechanical

behavior corresponding to failure load or stiffness or work to failure; bone mass corresponding to BMD or BV/TV; microarchitecture as the most pertinent parameter corresponding to SMI and heterogeneity parameters corresponding to all antero-posterior ratios, vertical CV and Tb.Sp*SD. For mechanical behavior and heterogeneity parameters, only failure load and DA_{ratio} presented with a significant introduction in the equations.

The combination of BMD (third step, $p = 0.004$), SMI (first step, $p < 0.0001$) and DA_{ratio} (second step, $p = 0.001$) was significant for failure load ($R = 0.93$, $p < 0.0001$). Also, the combination of BV/TV ($p = \text{n.s.}$), SMI (second step, $p = 0.008$) and DA_{ratio} (first step, $p = 0.003$) was correlated to failure load ($R = 0.89$, $p < 0.0001$) (**Table 5**).

Furthermore, the correlation between failure load and DA_{ratio} remained significant after adjustment with bone mass (i.e.; BV/TV) ($r = 0.57$, $p = 0.009$).

DISCUSSION

The aim of the current study was to determine the contribution of trabecular microarchitecture and its heterogeneity to the mechanical behavior of human lumbar vertebrae. We assessed trabecular microarchitecture heterogeneity parameters in several ways: 1) by the ratio of antero-posterior trabecular microarchitecture values, 2) by the coefficient of variation of trabecular microarchitecture values in superior, middle, and inferior regions; and 3) by the standard deviation of trabecular separation across the entire vertebral trabecular volume.

Consistent with previous studies, we observed marked heterogeneity of vertebral trabecular architecture, with the anterior region showing impaired trabecular architecture compared with the posterior region (8-12). Correlations between mechanical behavior and microarchitecture varied within vertebral regions, but generally indicating that the anterior part of the lumbar vertebral body is more strongly related to vertebral mechanical properties, and may therefore be a better region to measure when predicting vertebral fracture risk. We also found that in this sample of vertebrae from middle to old aged donors, trabecular alterations were not only characterized by a reduction in bone mass but also by changes in microarchitecture that taken together improves prediction of vertebral mechanical properties (6, 7, 12). Specifically, BMD alone explained up to 44% of the variability of the mechanical behavior, BV/TV alone up to 53% and SMI alone up to 66%. However, bone mass parameters (i.e.; BMD or BV/TV) in combination with trabecular microarchitecture (i.e.; SMI) and its heterogeneity (i.e.; DA_{ratio}) improved the prediction of vertebral mechanical behavior markedly, together explaining up to 86% of the variability in biomechanical properties.

Accepted Article

Vertebral trabecular bone has a 3D microarchitecture that consists of interconnecting plates and rods. The plate vs. rod nature of the vertebral trabecular bone can be determined using the structure model index (SMI), which has been previously shown to be correlated with mechanical properties of trabecular bone (25-27). Moreover, in young individuals, there are twice as many vertical trabeculae compared to horizontal ones, and this ratio of vertical to horizontally oriented trabeculae increases with age (26). Along with this relatively greater loss of horizontal trabecular is thinning of horizontal trabeculae whilst the remaining vertical trabeculae tend to maintain their thickness with advancing age and may even increase in thickness (25, 26). In such a structure, the degree of anisotropy (DA) reflects the preferential vertical alignment of trabeculae. Thus, as bone loss progresses, the deterioration of the vertebral trabecular architecture results in a more anisotropic structure with a greater susceptibility to fracture. Interestingly, in our study the global DA was not correlated with vertebral mechanical behavior, however, the antero-posterior heterogeneity of DA (DA_{ratio}) was. This role of anisotropy heterogeneity appeared when the DA_{ratio} was included in multiple regression analyses in combination with bone mass parameters and SMI. The significance of the DA_{ratio} may be partly explained by our elderly donors, who have very low BMD and BV/TV, perhaps providing a greater opportunity for the DA_{ratio} to influence mechanical behavior. Altogether this finding suggests that antero-posterior variation of trabecular alignment explained mechanical behavior better than DA measured in the entire trabecular region, highlighting the potential usefulness of DA_{ratio} for predicting vertebral mechanical behavior.

In a previous study of the femoral neck using μ -CT, Ciarelli et al. showed that patients with hip fracture had a significantly more anisotropic structure than those in a control group after adjustment for bone mass (28). Similarly to conclusions of this study, we suggest that, for a

population with similar bone volume fraction, the likelihood for fracture may be influenced by the heterogeneity of anisotropy in the trabecular bone structure.

In addition, our finding that Tb.Sp*SD is negatively correlated with vertebral mechanical properties is consistent with clinical studies that have measured Tb.Sp*SD at peripheral skeletal sites and reported higher values in women with a history of fragility fracture (13-17).

Our study had several limitations. First, trabecular bone structure was measured using 82 μm isotropic voxel size, which may have led to an overestimation of some microarchitectural features (29, 30). Because of partial volume effects with lower resolution images, BV/TV and Tb.Th can be overestimated, and Tb.Sp underestimated when compared with gold-standard $\mu\text{-CT}$ or histomorphometry (31, 32). However, several studies have compared microarchitecture measurements made with 82 μm voxel size and greater to those obtained with $\mu\text{-CT}$ and found very high correlations between the micro-architectural parameters (32, 33). Second, we recognize that images of this high resolution are not currently used clinically in the axial skeleton. However, recent studies have shown that microarchitecture measurements acquired using high-resolution multi-detector CT (MDCT) imaging available in vivo correlate strongly with those assessed using either $\mu\text{-CT}$ or HR-pQCT (34, 35). Accordingly, MDCT is quite promising for assessment of trabecular and cortical microarchitecture in the spine, and assessment of microarchitecture and its heterogeneity as performed in our study. Indeed, our results provides strong rationale to conduct a clinical study testing whether heterogeneity measures improve identification of patients at risk for vertebral fracture. Third, the loading mode used was uniaxial compression. Because most osteoporotic vertebral fractures are anterior wedge fractures, the response to combined compression and anterior-posterior (AP) bending may also be of interest

(36). It is possible that in this “physiologic” mechanical condition of compression and AP-bending, BMD would be even worse predictor of vertebral mechanical behavior with a greater contribution of trabecular microarchitecture and its heterogeneity, particular at the anterior region. This could be assessed in further experimental studies, and in those that utilize finite element analysis (FEA) models to simulate different loading modes. Another limitation of our study is the inability to know how loads are distributed between cortical and trabecular bone in the tested loading conditions as well as loading conditions seen *in-vivo*. Obviously, FEA analyses could provide some of this information, and could extend the current experimental observations. Finally, this study did not take in account other factors such as bone tissue composition (i.e., degree of mineralization, collagen maturity and crosslink characteristics, crystal size and perfection) or cortical shell morphology, which may also contribute to vertebral strength (37-41).

In conclusion, our data indicate that assessment of trabecular microarchitecture and its regional heterogeneity may enhance prediction of vertebral fracture risk and accordingly, therapies which maintain microarchitecture and reduce heterogeneity would preserve vertebral strength to a greater extent than changes in BMD alone.

ACKNOWLEDGMENTS:

Authors thank Mr. Patrice Clerc (Mecanium[®], INSA, Lyon, France) for his contribution to the mechanical testing. This study was supported in part by an unrestricted research grant from Eli-Lilly to INSERM, and by the National Institute of Arthritis, Musculoskeletal and Skin Diseases (AR053986).

REFERENCES

1. McDonnell P, McHugh PE, O'Mahoney D 2007 Vertebral osteoporosis and trabecular bone quality. *Ann Biomed Eng* **35**:170-89.
2. Griffith JF, Genant HK 2008 Bone mass and architecture determination: state of the art. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **22**:737-64.
3. Ulrich D, van Rietbergen B, Laib A, R uegsegger P 1999 The ability of three-dimensional structural indices to reflect mechanical aspects of trabecular bone. *Bone* **25**:55-60.
4. Hildebrand T, Laib A, Muller R, Dequeker J, R uegsegger P 1999 Direct three-dimensional morphometric analysis of human cancellous bone. Microstructural data from spine, femur, iliac crest and calcaneus. *J Bone Miner Res* **14**:1167-74.
5. Ebbesen EN, Thomsen JS, Beck-Nielsen H, Nepper-Rasmussen HJ, Mosekilde L 1999 Lumbar vertebral body compressive strength evaluated by dual-energy X-ray absorptiometry, quantitative computed tomography and ashing. *Bone* **25**:713-24.
6. Buckley JM, Loo K, Motherway J 2007 Comparison of quantitative computed tomography-based measures in predicting vertebral compressive strength. *Bone* **40**:767-74.
7. Fields AJ, Eswaran SK, Jekir MG, Keaveny TM 2009 Role of trabecular microarchitecture in whole-vertebral body biomechanical behavior. *J Bone Miner Res* **24**:1523-30.
8. Banse X, Devogelaer JP, Munting E, Delloye C, Cornu O, Gryn pas M 2001 Inhomogeneity of human vertebral cancellous bone: systematic density and structure patterns inside the vertebral body. *Bone* **28**:563-71.

9. Banse X, Devogelaer JP, Grynepas M 2002 Patient-specific microarchitecture of vertebral cancellous bone: a peripheral quantitative computed tomographic and histological study. *Bone* **30**:829-35.
10. Gong H, Zhang M, Yeung HY, Qin L 2005 Regional variations in microstructural properties of vertebral trabeculae with aging. *J Bone Miner Metab* **23**:174-80.
11. Gong H, Zhang M, Yeung HY, Qin L, Lee KKH, Guo X, Shi SQ 2006 Regional variations in microstructural properties of vertebral trabeculae with structural groups. *Spine* **31**:24-32.
12. Hulme PA, Boyd SK, Ferguson SJ 2007 Regional variation in vertebral bone morphology and its contribution to vertebral fracture strength. *Bone* **41**:946-57.
13. Laib A, Nevitt DC, Lu Y, Majumdar S 2002 New model-independent measures of trabecular bone structure applied to in vivo high resolution MR images. *Osteoporos Int* **13**:130-6.
14. Melton LJ III, Riggs BL, Keaveny TM, Achenbach SJ, Hoffmann PF, Camp JJ, Rouleau PA, Bouxsein ML, Amin S, Atkinson EJ, Robb RA, Khosla S 2007 Structural determinants of vertebral fracture risk. *J Bone Miner Res* **22**:1885-92.
15. Boutroy S, Bouxsein ML, Munoz F, Delmas PD 2005 In vivo assessment of trabecular bone microarchitecture by high-resolution peripheral quantitative computed tomography. *J Clin Endocrinol Metab* **90**:6508-15.
16. Sornay-Rendu S, Boutroy S, Munoz F, Delmas PD 2007 Alterations of cortical and trabecular architecture are associated with fractures in postmenopausal women, partially independent of decreased BMD measured by DXA: the OFELY study. *J Bone Miner Res* **22**:425-33.

17. Vico L, Zouch M, Amirouche A, Frère D, Laroche N, Koller B, Laib A, Thomas T, Alexandre C 2008 High-resolution pQCT analysis at the distal radius and tibia discriminates patients with recent wrist and femoral neck fractures. *J Bone Miner Res* 23:1741-50.
18. Kellgren JH, Lawrence JS 1957 Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis* 16:494-502.
19. Martin RB, Sharkey NA 2001 Mechanical effects of post-mortem changes, preservation, and allograft bone treatments. In: Cowin SC (ed.) *Bone Mechanics Handbook*, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton FL, USA, pp. 20.1-20.24.
20. Ashman RB, Donofrio M, Cowin SC, van Buskirk WC 1982 Postmortem changes in the elastic properties of trabecular bone. *Trans Orthop Res Soc* 7:63-7.
21. Hildebrand T, Rüegsegger P 1997 A new method for the model independent assessment of thickness in three-dimensional images. *J Microsc* 185:67-75.
22. Laib A, Hildebrand T, Hauselmann HJ, Ruegsegger P 1997 Ridge number density: a new parameter for in vivo bone structure analysis. *Bone* 21:541-6.
23. Hildebrand T, Rüesegger P 1997 Quantification of bone microarchitecture with the structure model index. *Comp Meth Biomech Biomed Eng* 1:5-23.
24. Holm S 1979 A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics* 6: 65–70.
25. Mosekilde L 1988 Age-related changes in vertebral trabecular bone architecture – Assessed by a new method. *Bone* 9:247-50.

26. Thomsen JS, Ebbesen EN, Mosekilde L 2002 Age-related differences between thinning of horizontal and vertical trabeculae in human lumbar bone as assessed by a new computerized method. *Bone* **31**:136-42.
27. Homminga J, van Rietbergen B, Lochmüller EM, Weinans H, Eckstein F, Huiskes R 2004 The osteoporotic vertebral structure is well adapted to the loads of daily life, but not to infrequent “error” loads. *Bone* **34**:510-6.
28. Ciarelli TE, Fyhrie DP, Schaffler MB, Goldstein SA 2000 Variations in 3D cancellous bone architecture of the proximal femur in female hip fractures and in controls. *J Bone Miner Res* **15**:32-40.
29. Kothari M, Keaveny TM, Lin JC, Newitt DC, Genant HK, Majumdar S 1998 Impact of spatial resolution on the prediction of trabecular architecture parameters. *Bone* **22**:437-43.
30. Müller R, Koller B, Hildebrand A, Laib S, Gianolini S, Rügsegger P 1996 Resolution dependency of microstructural properties of cancellous bone based on three-dimensional μ -tomography. *Technol Health Care* **4**:113-9.
31. Cendre E, Mitton D, Roux JP, Arlot ME, Duboeuf F, Burt-Pichat B, Rumelhart C, Peix G, Meunier PJ 1999 High-resolution computed tomography for architectural characterization of human lumbar cancellous bone: relationships with histomorphometry and biomechanics. *Osteoporos Int* **10**:353-60.
32. Burghardt AJ, Kazakia GJ, Majumdar S 2007 A local adaptive threshold strategy for high resolution peripheral quantitative computed tomography of trabecular bone. *Ann Biomed Eng* **35**:1678-86.
33. Liu XS, Zhang XH, Sekhon KK, Adam MF, McMahon DJ, Bilezikian JP, Shane E, Guo XE. High-Resolution Peripheral Quantitative Computed Tomography Can Assess

Microstructural and Mechanical Properties of Human Distal Tibial Bone. *J Bone Miner Res.* 2009 Sep 23 [Epub ahead of print] PMID: 19775199.

34. Issever AS, Link TM, Kentenich M, Rogalla P, Burghardt AJ, Kazakia GJ, Majumdar S, Diederichs G 2010 Assessment of trabecular bone structure using MDCT: comparison of 64- and 320-slice CT using HR-pQCT as the reference standard. *Eur Radiol* **20**:458-68.
35. Issever AS, Link TM, Kentenich M, Rogalla P, Schwieger K, Huber MB, Burghardt AJ, Majumdar S, Diederichs G 2009 Trabecular bone structure analysis in the osteoporotic spine using a clinical in vivo setup for 64-slice MDCT imaging: comparison to microCT imaging and microFE modeling. *J Bone Miner Res* **24**:1628-37.
36. Duan Y, Seeman E, Turner CH 2001 The biomechanical basis of vertebral body fragility in men and women. *J Bone Miner Res* **16**:2276-83.
37. Gourion-Arsiquaud S, Faibish D, Myers E, Spevak L, Compston J, Hodsmann A, Shane E, Recker RR, Boskey ER, Boskey AL 2009 Use of FTIR spectroscopic imaging to identify parameters associated with fragility fracture. *J Bone Miner Res* **24**:1565-71.
38. Follet H, Boivin G, Rumelhart C, Meunier PJ 2004 The degree of mineralization is a determinant of bone strength: a study on human calcanei. *Bone* **34**:783-89.
39. Roux JP, Wegrzyn J, Arlot ME, Guyen O, Chapurlat R, Buxsein ML 2010 Contribution of trabecular and cortical components to biomechanical behavior of human vertebrae. An ex-vivo study. *J Bone Miner Res* **25**:356-61.
40. Farlay D, Panczer G, Rey C, Delmas PR, Boivin G. Mineral maturity and crystallinity index are distinct characteristics of bone mineral. *J Bone Miner Metab.* 2010; Published online January 22, 2010; doi: 10.1007/s00774-009-0146-7, PMID: 20091325
41. Seeman E, Delmas PD 2006 Bone quality – The material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med* **354**:2250-61.

Table 1: Trabecular architecture variation in the L3 vertebral body (mean \pm SD).

		Vertebral Body	Anterior Core				Posterior Core			
			Total [†]	Superior region [‡]	Middle region [‡]	Inferior region [‡]	Total [†]	Superior region [‡]	Middle region [‡]	Inferior region [‡]
Trabecular microarchitecture	<i>BV/TV (%)</i>	13.5 (5.9)	11.4 (6.1)	10.8 (6.9)[‡]	13.2 (7.2)[‡]	10.3 (6.1)[‡]	13.5 (6.7)	10.8 (5.7)[‡]	16.7 (8.5)[‡]	12.9 (7.6)[‡]
	<i>SMI (#)</i>	2.61 (0.53)	2.75 (0.65)	2.90 (0.66)[‡]	2.47 (0.75)[‡]	2.91 (0.69)[‡]	2.76 (0.50)	3.09 (0.41)[‡]	2.21 (0.72)[‡]	2.92 (0.55)[‡]
	<i>Tb.Sp* (μm)</i>	1363 (332)	1368 (382)[†]	1354 (440)	1285 (327)	1301 (306)	1209 (319)[†]	1220 (364)[‡]	1225 (353)[‡]	1055 (260)[‡]
	<i>Tb.Th* (μm)</i>	308 (43)	288 (64)	281(75) ^{a†}	289 (59) ^{a†}	266 (47) ^{a†}	293 (42)	272 (46)[‡]	308 (47)[‡]	270 (42)[‡]
	<i>Tb.N* (#/mm)</i>	0.76 (0.16)	0.76 (0.17)[†]	0.78 (0.19)	0.81 (0.18)	0.80 (0.16)	0.86 (0.20)[†]	0.86 (0.20)[‡]	0.88 (0.21)[‡]	0.97 (0.23)[‡]
	<i>DA (#)</i>	1.46 (0.11)	1.72 (0.17)[†]	1.72 (0.19)	1.79 (0.21)	1.77 (0.21)	1.47 (0.14)[†]	1.53 (0.20)	1.40 (0.16)	1.48 (0.17)

[†] Antero-posterior comparison: paired t-tests, [‡] Vertical comparison: Friedman - ANOVA tests. Bold: $p \leq 0.026$, ^a $0.026 < p < 0.05$

Table 2: Pearson’s correlation coefficients (r) between bone mass, trabecular microarchitecture and biomechanical properties of the vertebral body.

	Failure Load	Work to failure	Stiffness
BMD	0.66	0.58	0.54
BV/TV	0.73	0.43	0.66
SMI	-0.81	-0.45 ^a	-0.66
Tb.Sp*	-0.57	-0.30	0.62
Tb.Th*	0.44 ^a	0.39	0.30
Tb.N*	0.51	0.23	0.58
DA	0.38	0.10	0.29
Tb.Sp*SD	-0.36	-0.13	-0.49

Bold: $p \leq 0.026$, ^a $0.026 < p < 0.05$

Abbreviations defined in the methods section.

Table 3: Pearson's correlation coefficients between trabecular microarchitecture and antero-posterior heterogeneity (ratios) with mechanical parameters.

		Failure Load	Work to failure	Stiffness
Anterior biopsy microarchitecture	<i>BV/TV</i>	0.67	0.47 ^a	0.50
	<i>SMI</i>	-0.74	-0.46 ^a	-0.55
	<i>Tb.Sp*</i>	-0.61	-0.35	-0.59
	<i>Tb.Th*</i>	0.29	0.34	0.09
	<i>Tb.N*</i>	0.56	0.30	0.57
	<i>DA</i>	0.38	0.17	0.31
Posterior biopsy microarchitecture	<i>BV/TV</i>	0.47 ^a	0.15	0.51
	<i>SMI</i>	-0.61	-0.27	-0.52
	<i>Tb.Sp*</i>	-0.35	-0.04	-0.46 ^a
	<i>Tb.Th*</i>	0.42	0.26	0.39
	<i>Tb.N*</i>	0.27	0.01	0.39
	<i>DA</i>	0.25	0.14	0.03
Antero-posterior heterogeneity	<i>BV/TV_{ratio}</i>	-0.53	-0.57	-0.24
	<i>SMI_{ratio}</i>	0.31	0.29	0.16
	<i>Tb.Sp*_{ratio}</i>	0.32	0.39	0.14
	<i>Tb.Th*_{ratio}</i>	-0.13	-0.36	0.19
	<i>Tb.N*_{ratio}</i>	-0.36	-0.39	-0.21
	<i>DA_{ratio}</i>	-0.10	-0.01	-0.25

Bold: $p \leq 0.026$, ^a $0.026 < p < 0.05$

Table 4: Pearson's correlation coefficients between trabecular microarchitecture, vertical heterogeneity (CV) and vertebral mechanical properties in the three vertical regions of the anterior biopsy.

		Failure Load	Work to failure	Stiffness
Superior region	<i>BV/TV</i>	0.49	0.57	0.19
	<i>SMI</i>	-0.63	-0.65	-0.26
	<i>Tb.Sp*</i>	-0.61	-0.46 ^a	-0.50
	<i>Tb.Th*</i>	0.29	0.47 ^a	0.01
	<i>Tb.N*</i>	0.57	0.41	0.49
	<i>DA</i>	0.41	0.32	0.15
Middle region	<i>BV/TV</i>	0.62	0.34	0.50^a
	<i>SMI</i>	-0.68	-0.40	-0.52
	<i>Tb.Sp*</i>	-0.51	-0.28	-0.48
	<i>Tb.Th*</i>	0.36	0.24	0.23
	<i>Tb.N*</i>	0.42	0.17	0.43
	<i>DA</i>	0.24	0.06	0.23
Inferior region	<i>BV/TV</i>	0.71	0.32	0.67
	<i>SMI</i>	-0.66	-0.19	-0.63
	<i>Tb.Sp*</i>	-0.54	-0.22	-0.62
	<i>Tb.Th*</i>	0.59	0.38	0.44 ^a
	<i>Tb.N*</i>	0.53	0.21	0.63
	<i>DA</i>	0.13	-0.08	0.13
Vertical heterogeneity	<i>BV/TV_{CV}</i>	-0.29	-0.03	-0.32
	<i>SMI_{CV}</i>	0.46 ^a	0.35	0.30
	<i>Tb.Sp*_{CV}</i>	-0.20	-0.25	-0.17
	<i>Tb.Th*_{CV}</i>	-0.13	0.00	-0.22
	<i>Tb.N*_{CV}</i>	-0.16	-0.26	-0.13
	<i>DA_{CV}</i>	0.13	0.26	-0.20

Bold: $p \leq 0.026$, ^a $0.026 < p < 0.05$

Table 5: Multiple regression analysis including the coefficient of determination (R^2), the p value and semipartial correlation (r^2) for each variable included in the models.

Variables				
Dependent	Independent	Final R^2	Semipartial correlation (r^2)	p value
Failure load				
	<i>BMD</i>		0.10	0.004
	<i>SMI</i>		0.39	< 0.0001
	<i>DA_{ratio}</i>		0.14	0.001
		0.86		<0.0001
Failure load				
	<i>BV/TV</i>		0.03	n.s.
	<i>SMI</i>		0.11	0.008
	<i>DA_{ratio}</i>		0.14	0.003
		0.80		<0.0001

FIGURE LEGEND

Figure 1: HR-pQCT slice of L3 vertebra. Trabecular region of interest (ROI) was manually defined in order to exclude cortical component of the vertebral body. Virtual biopsies were positioned using 2 lines drawn on the vertebral body: 1 line for the middle antero-posterior axis and 1 line for the middle medio-lateral axis. Each line divided the vertebral body in 4 quadrants. Biopsies were strictly centered on the middle antero-posterior axis and on both sides of the medio-lateral axis to avoid the cortical shell anteriorly and the venous plexus posteriorly by projection on the vertical direction in the HR-pQCT slice stack.

Figure 2: Whole trabecular volume of L3 vertebra and the 2 virtual biopsies (82 μm isotropic voxel size) each divided into 3 vertical zones (superior, middle and inferior).

Figure 1:

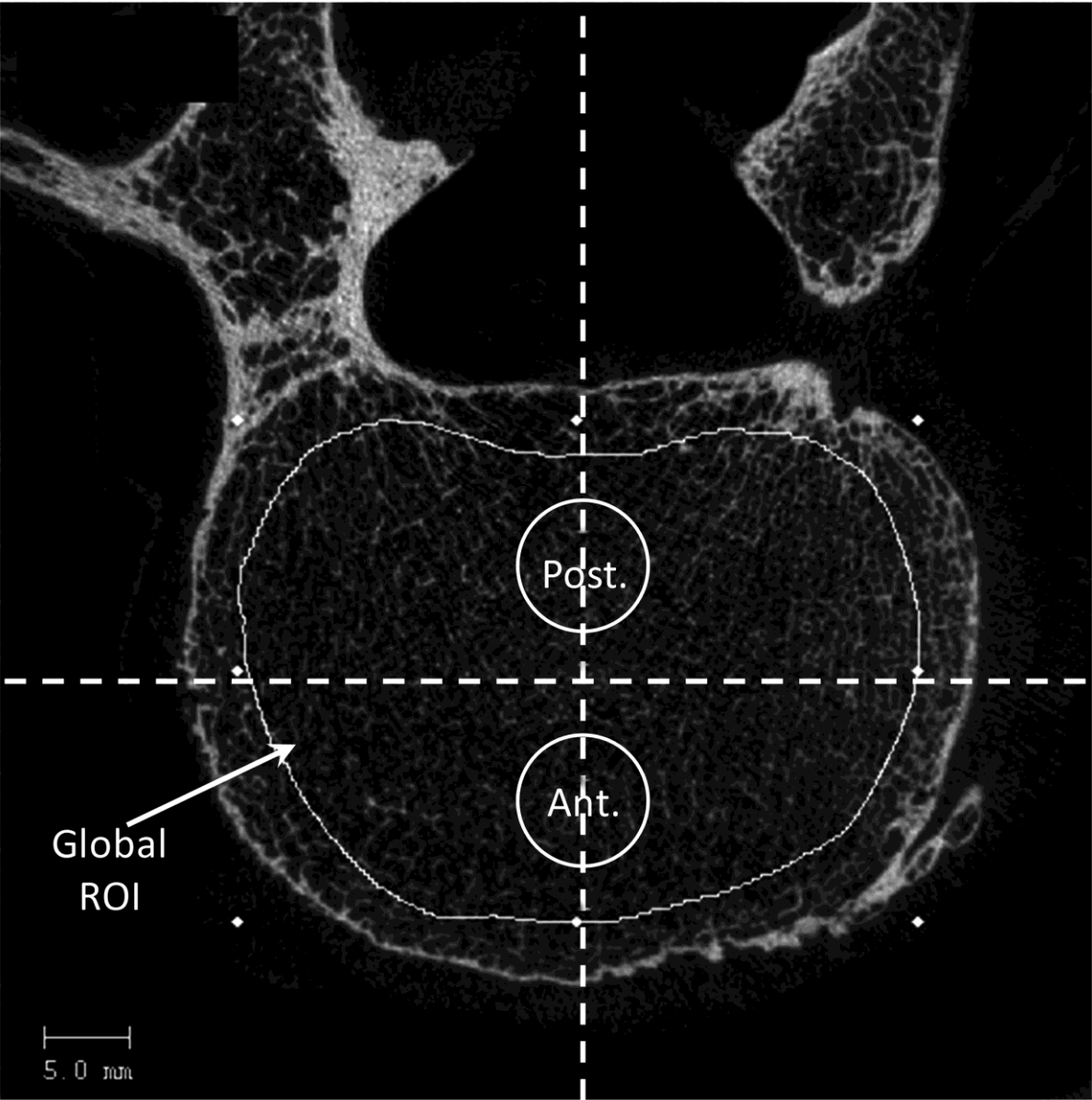
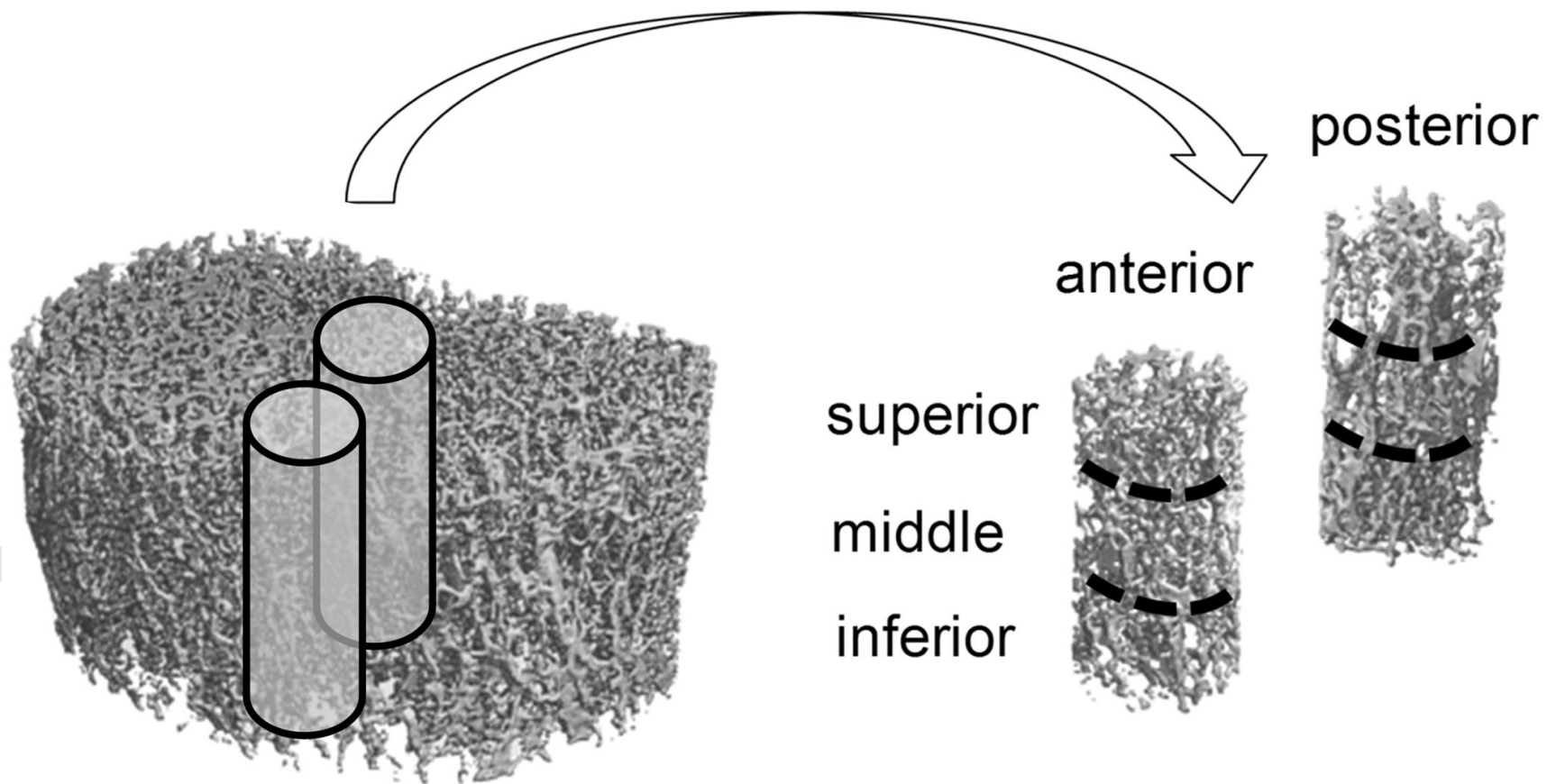


Figure 2:



III. DETERMINANTS DU COMPORTEMENT MECANIQUE VERTEBRAL POST-FRACTURAIRE

DETERMINANTS OF THE MECHANICAL BEHAVIOR OF HUMAN LUMBAR VERTEBRAE AFTER SIMULATED MILD FRACTURE

Julien Wegrzyn ^{1 2 4}, Jean-Paul Roux ^{1 4}, Monique E. Arlot ¹, Stéphanie Boutroy ¹, Nicolas Vilayphiou ¹, Olivier Guyen ², Pierre D. Delmas ¹, Roland Chapurlat ¹, Mary L. Bouxsein ³

¹ INSERM Research Unit 831, Université de Lyon, Lyon, France

² Department of Orthopedic Surgery, Pavillon T, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

³ Orthopedic Biomechanics Laboratory, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

⁴ These authors contributed equally to this work

RESUME

Le but de ce travail était de déterminer le comportement mécanique vertébral après une fracture de grade 1 de la classification semi-quantitative de Genant et d'identifier les déterminants de ce comportement mécanique post-fracturaire.

21 vertèbres humaines L3 ont été prélevées (11 hommes et 10 femmes d'âge respectif 75 ± 10 ans et 76 ± 10 ans). Sur ces vertèbres, la densité minérale osseuse (DMO) a été mesurée par ostéodensitométrie et la microarchitecture par microtomographie (Skyscan[®] à $35\mu\text{m}$ de résolution et Scanco Xtreme CT[®] à $82\mu\text{m}$ de résolution). Les tests mécaniques ont été réalisés en 2 phases : une compression initiale uni-axiale jusqu'à atteindre une déformation de 25% du corps vertébral (SQ1) suivie, après une phase de relaxation de 30 minutes, d'une compression uni-axiale similaire, jusqu'à atteindre une nouvelle déformation de 25%. Ont été mesurés : 1/ les paramètres mécaniques initiaux et post-fracturaires, 2/ les différences entre les paramètres mécaniques des 2 tests, 3/ les propriétés élastiques post-fracturaires par la restitution de la hauteur vertébrale après la phase de relaxation et 4/ les propriétés plastiques post-fracturaires par l'effort et la raideur résiduels.

Dans cette étude, l'effort et la raideur post-fracturaires sont significativement plus bas ($11\pm 19\%$ et $53\pm 18\%$, respectivement) que les paramètres initiaux ; ceux-ci n'expliquant que 29 à 69% de la variation du comportement mécanique post-fracturaire. Les comportements mécaniques initiaux et post-fracturaires sont tous 2 significativement corrélés à la masse osseuse et à la microarchitecture. La récupération de hauteur vertébrale moyenne était de $31\pm 7\%$ et était corrélée aux paramètres d'épaisseur trabéculaire et cortical ($r = 0,47$ et $0,64$; $p = 0,03$ et $0,002$, respectivement). L'effort et la raideur résiduels étaient indépendants de la masse osseuse et du comportement mécanique initial mais étaient significativement corrélés à la microarchitecture corticale et trabéculaire ($|r| = 0.50$ to 0.58 , $p = 0.02$ to 0.006).

En conclusion, nos résultats montrent une variation marquée du comportement mécanique vertébral post-fracturaire après une fracture de grade 1 de Genant. La microarchitecture osseuse et non la masse osseuse explique les propriétés mécaniques vertébrales plastiques et élastiques post-fracturaires.

**DETERMINANTS OF THE MECHANICAL BEHAVIOR
OF HUMAN LUMBAR VERTEBRAE AFTER SIMULATED MILD FRACTURE**

Julien Wegrzyn ^{1 2 4}, Jean-Paul Roux ^{1 4}, Monique E. Arlot ¹, Stéphanie Boutroy ¹, Nicolas Vilayphiou ¹, Olivier Guyen ², Pierre D. Delmas ¹, Roland Chapurlat ¹, Mary L. Bouxsein ³

¹ INSERM Research Unit 831, Université de Lyon, Lyon, France

² Department of Orthopaedic Surgery, Pavillon T, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

³ Orthopaedic Biomechanics Laboratory, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

⁴ These authors contributed equally to this work

Running title: Determinants of post-fractured vertebrae

E-mail addresses:

J Wegrzyn: julien.wegrzyn@chu-lyon.fr, JP Roux: jean-paul.roux@univ-lyon1.fr,

ME Arlot: monique.arlot@univ-lyon1.fr, S Boutroy: stephanie.boutroy@inserm.fr, N Vilayphiou:

nicolas.vilayphiou@inserm.fr, O Guyen: olivier.guyen@chu-lyon.fr, R Charpulat: roland.chapurlat@inserm.fr,

ML Bouxsein: mbouxsei@bidmc.harvard.edu

Corresponding author: Julien Wegrzyn, MD

Department of Orthopaedic Surgery – Pavillon T, Hôpital E. Herriot. 5, place d'Arsonval. 69437 Lyon – France

Phone: +33 4 72 11 04 69, Fax: + 33 4 72 11 04 41, Email: julien.wegrzyn@chu-lyon.fr

Number of words: 4,889

Number of table: 2

Number of figures: 3 – Grey levels: 3

CONFLICT OF INTEREST

All authors have no conflict of interest related to this article.

This study was supported in part by an unrestricted research grant from Eli-Lilly to INSERM, and by the National Institute of Arthritis, Musculoskeletal and Skin Diseases (AR053986).

ABSTRACT

The ability of a vertebra to carry load after an initial deformation and the determinants of this post-fracture load-bearing capacity are critical, but poorly understood. This study aimed to determine the mechanical behavior of vertebra after simulated mild fracture and to identify the determinants of this post-fracture behavior. Twenty-one human L3 vertebrae were analyzed for BMD by DXA and for microarchitecture by μ CT (Skyscan[®] 1076 and Scanco[®] XtremeCT). Mechanical testing was performed in 2 phases: initial compression of vertebra to 25%-deformity followed, after 30 minutes of relaxation, by a similar test to determine post-fracture behavior. We assessed: 1) initial and post-fracture mechanical parameters, 2) changes in mechanical parameters, 3) post-fracture elastic behavior by recovery of vertebral height after relaxation and 4) post-fracture plastic behavior by residual strength and stiffness. Post-fracture failure load and stiffness were $11\pm 19\%$ and $53\pm 18\%$ lower than initial values ($p=0.021$ and <0.0001 , respectively) with 29 to 69% of the variation in the post-fracture mechanical behavior explained by the initial values. Both initial and post-fracture mechanical behaviors were significantly correlated with bone mass and microarchitecture. Vertebral deformation recovery averaged $31\pm 7\%$ and was associated with trabecular and cortical thickness ($r = 0.47$ and 0.64 , $p = 0.03$ and 0.002 , respectively). Residual strength and stiffness were independent of bone mass and initial mechanical behavior but were related to trabecular and cortical microarchitecture ($|r| = 0.50$ to 0.58 , $p = 0.02$ to 0.006). In summary, we found marked variation in the post-fracture load-bearing capacity following simulated mild vertebral fractures. Bone microarchitecture, but not bone mass, was associated with post-fracture mechanical behavior of vertebrae.

KEY WORDS

Osteoporosis, vertebral fracture, vertebral strength, biomechanics, microarchitecture

Submitted Article

INTRODUCTION

Vertebral fracture is the most common osteoporotic fracture with 1 in 3 women and 1 in 5 men over the age of 50 predicted to suffer a vertebral fracture in their remaining lifetime (1). Moreover, after sustaining a vertebral fracture, the risk of all types of fractures increases significantly, and, in particular, 20% of women will experience another vertebral fracture within the first year after their initial vertebral fracture (2). Women with at least one mild vertebral fracture have 4-fold greater risk of subsequent vertebral fractures than those without prior fractures, and this risk increases dramatically with the number and the severity of prior vertebral fractures (3-5). This scenario of one vertebral fracture leading to another has been termed the “vertebral fracture cascade” (6). Several factors may contribute to the vertebral fracture cascade, including altered spine kinematics due to kyphosis, altered load transfer between adjacent vertebra, and reduced activity after the initial fracture leading to disuse osteoporosis with accelerated bone loss (7). However, despite many clinical and epidemiologic investigations, the mechanisms underlying progression of an existing vertebral deformity from mild to moderate or severe, as well as the factors contributing to vertebral fracture cascade are poorly understood (3, 6, 8). In particular, there is only limited information about the mechanical behavior of a vertebral body after an initial deformity or fracture and it is of interest to understand the mechanical behavior of a fractured vertebra to better understand the vertebral fracture cascade (6, 9).

Thus, the aims of the current study were to determine the mechanical behavior of a vertebra after initial mild fracture, and identify the factors that are associated with this post-fracture mechanical behavior.

MATERIALS AND METHODS

Bone specimens and bone mass assessment:

We obtained human L3 vertebrae from 21 donors aged 54 to 93 years-old, including 11 men (75 years \pm 10) and 10 women (76 years \pm 10). Specimens were obtained fresh and maintained frozen at - 20°C wrapped in saline-soaked gauze until mechanical testing (10, 11). The absence of prevalent fractures or significant bone diseases (i.e., bone metastasis, Paget's disease, or major osteoarthritis) involving the lumbar spine was confirmed by high-resolution lateral radiographs (Faxitron® X-Ray Corporation, Lincolnshire, IL, USA). We evaluated lumbar osteoarthritis (OA) on the lateral radiographs according to the Kellgren-Lawrence (K/L) grading scale (12). Severity of OA was assessed according to the presence of osteophytes and disc narrowing using a four-point scale: normal, minimal, moderate or severe. Vertebrae with severe OA (grade 4) were excluded. Of those included in the study, 11 (52%), 8 (38%) and 2 (10%) were graded normal, minimal, moderate OA, respectively.

Bone mineral content (BMC, g) and areal bone mineral density (BMD, g/cm²) of the vertebral body was measured using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA; Delphi W, Hologic®, Waltham, MA, USA).

μCT image acquisition and micro-architecture assessment:

Image acquisitions of the whole vertebral body were performed using: 1) a micro-computed tomography device (Skyscan® 1076, Aartselaar, Belgium) with a nominal isotropic voxel size of 35 μm (field of view 70 mm, 2000 x 2000 pixels, X-ray source: 100 kV – 100 μA) and 2) a high-resolution peripheral quantitative computed tomography device (HR-

pQCT, XtremeCT[®], Scanco Medical, Bassersdorf, Switzerland) with a nominal isotropic voxel size of 82 μ m (1536 x 1536 pixels, X-ray source: 60 kV, 900 μ A).

3D trabecular microarchitecture was measured using direct methods (i.e.; distance transformation algorithms that do not rely on assumptions about the underlying structure). The trabecular region of interest was manually defined in order to exclude cortical component of the vertebral body as described in our previous studies (**13, 14**). The following trabecular microarchitecture parameters were measured: bone volume fraction (BV/TV; %); direct trabecular thickness (Tb.Th*; μ m); degree of anisotropy (DA; 0 = isotropic, 1 = anisotropic) and structure model index (SMI; 0 = plate-like, 3 = rod-like). The following cortical parameters were assessed: cortical thickness (Ct.Th; μ m) and radius of curvature (Ct.Curv; mm) expressed by the mean of three 2D slice-scans using Morpho Expert Explora Nova[®] software (La Rochelle, France) (**13**). All the previous parameters were measured using Skyscan[®] data. However, as assessment of direct trabecular number (Tb.N*; #/mm), separation (Tb.Sp*; μ m) and trabecular microarchitecture heterogeneity (i.e.; the standard deviation of Tb.Sp* on the entire vertebral trabecular volume (Tb.Sp*SD)) were not available with Skyscan Ant[®] 3D-analyzing software, these parameters were directly measured using Xtreme CT[®] with the software developed for *ex-vivo* analysis (Scanco Medical AG) (**14**).

Mechanical testing:

After thawing at room temperature (+ 20°C), soft tissues and posterior vertebral arches were removed. Then, the mid-vertebral endplate to endplate height was measured using a caliper. Vertebral bodies were maintained at + 4°C moist with Ashman's solution until mechanical testing (**10, 11**).

Mechanical testing was performed in two phases: the initial phase compressed the vertebra to create a mild vertebral fracture (25%-deformation) (**15**) and the second phase, performed after a 30 minutes unloaded period of relaxation, assessed the behavior of a vertebra after sustaining an initial mild fracture (**Figure 1**) (**9**).

Before testing, a polyester resin interface (Soloplast V11, Vosschemie[®], Saint Egrève, France) with a quick-setting polymerization at low temperature (exothermic peak of resin polymerization $\leq + 40^{\circ}\text{C}$) was applied to each endplate of the vertebral body to achieve parallel surfaces for load application. Preconditioning was performed prior to testing (10 cycles with loading at 100 N and unloading at 50 N). Then, quasi-static uniaxial compressive testing was performed on the whole vertebral body submerged in Ashman's solution at controlled $+ 37^{\circ}\text{C}$ with a screw-driven materials testing system (Schenck RSA-250[®], Darmstadt, Germany). Vertebrae were compressed to a height reduction of 25% using a constant displacement of 0.5 mm/min. This 25%-deformation was chosen because it corresponds to the grade I of semiquantitative (SQ1) assessment of vertebral fractures described by Genant et al. (**15**) and represents the most common osteoporotic vertebral fractures (**8**, **15**, **16**). After 30 minutes of unloaded relaxation, a second uniaxial compressive test at the same constant displacement rate was performed – similarly to the initial test – until a new 25%-deformation (**Figure 1**). The compressive load and displacement were assessed, respectively, by a 5000 N load cell (TME, F 501 TC) and a displacement transducer mounted directly on the vertebral resin endplates (Mécanium, Lyon, France).

We determined the following parameters from the two sets of load-displacement data:

- 1/ initial and post-fracture failure loads (Newton, N), defined as the peak force on the load-displacement curve;
- 2/ initial and post-fracture compressive stiffnesses (N/mm), defined by the linear part of load-displacement curve slope between 25% to 75% of the failure load and

3/ initial and post-fracture works to failure (N.mm), defined by the area under the load-displacement curve until failure load (**Figure 1**) (17).

We calculated: 1/ changes in mechanical parameters (Δ ; %) defined as the difference between post-fracture and initial parameters, and expressed as a percentage of the initial value, 2/ vertebral deformation recovery (VDR; %) to explore post-fracture elastic property of the vertebra – It corresponded to the height recovery after relaxation with regard to the initial height ($VDR = (H_r/H_{25\%}) * 100$, with H_r (mm) = vertebral height recovery after relaxation and $H_{25\%}$ (mm) = vertebral height at mild fracture (i.e.; 25%-deformation). VDR = 100% corresponded to a total height recovery after relaxation) and 3/ residual strength and residual stiffness to explore post-fracture plastic property of the vertebra – They corresponded to the remaining load-bearing capacity after an initial fracture (residual strength or stiffness = (post-fracture parameter / initial parameter) * 100. Residual strength or stiffness = 100% corresponds to the absence of loss in load-bearing capacity) (**Figure 1**).

Statistical analyses

Data are presented as the mean, standard deviation and range. The following tests were used: 1) Mann-Whitney tests for the comparison of variables between 2 groups, 2) Wilcoxon signed rank tests for comparison between initial and post-fracture mechanical variables and 3) Spearman coefficients of correlation for the analysis of the relationship between two variables. Results were considered significant if p-value < 0.05. All statistical analyses were performed using SPSS[®] 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

Descriptive statistics of DXA and μ CT parameters are shown in **Table 1** and those of mechanical parameters in **Table 2**. The Kellgren-Lawrence OA score did not differ between male and female donors, and there were no significant associations between K/L grades and BMD, microarchitecture or mechanical parameters. Variables were similar in men and women, except that men had higher BMC than women (7.72 ± 1.96 g versus 5.76 ± 1.25 g; $p = 0.014$). The vertebral body height averaged 30 ± 3 mm (range: 26.4 mm – 37.5 mm). There was no influence of vertebral height on initial and post-fracture mechanical behaviors.

Initial mechanical behavior as well as post-fracture mechanical behavior was correlated with bone mass and microarchitecture (**Figure 2**).

Relation between initial and post-fracture mechanical behaviors

Post-fracture failure load and post-fracture stiffness were respectively $11 \pm 19\%$ and $53 \pm 18\%$ lower than initial values ($p = 0.021$ and < 0.0001 , respectively) (**Table 2**). Post-fracture work to failure was on average $121 \pm 104\%$ higher than initial value ($p < 0.0001$) (**Table 2**).

Post-fracture mechanical properties were significantly correlated to their corresponding initial values ($r = 0.54$ to 0.83 , $p < 0.0001$ for failure load and stiffness and $p = 0.012$ for work to failure) with 29% of the variation in work to failure, 53% of the variation in stiffness and 69% of the variation in failure load explained by the initial values.

Mechanical properties of post-fracture vertebrae

Post-fracture elastic property: Vertebral deformation recovery (VDR, %)

Vertebral deformation recovery averaged $31 \pm 7\%$ (range: 20 – 46%) and was significantly and positively correlated with initial work to failure ($r = 0.52$, $p = 0.016$), but independent of bone mass parameters (i.e., BMC, BMD and BV/TV).

However, VDR was significantly and positively correlated with Tb.Th* ($r = 0.47$, $p = 0.03$) and Ct.Th ($r = 0.64$, $p = 0.002$).

Post-fracture plastic property: residual strength and residual stiffness

Residual strength

Residual strength averaged $89 \pm 19\%$ (range: 47 – 121%) of initial values. Residual strength was not correlated with bone mass (i.e.; BMD, BMC and BV/TV) or with initial mechanical behavior. However, residual strength was significantly and positively correlated with Tb.N* ($r = 0.50$, $p = 0.02$) and significantly and negatively correlated with Tb.Sp* and Tb.Sp*SD ($r = -0.50$ and -0.55 , $p = 0.02$ and 0.011 , respectively).

For six vertebrae, post-fracture failure load increased rather than decreased (residual strength = $111 \pm 8\%$ (range: 101 – 121%) versus $81 \pm 15\%$ (range: 47 – 99%) for the 15 other ones). These 6 vertebrae did not differ from the 15 other ones in term of age, sex, vertebral body height and bone mass. However, in these 6 vertebrae, Tb.N* was significantly higher ($p = 0.02$) and Tb.Sp* and Tb.Sp*SD significantly lower compared to the 15 other vertebrae ($p = 0.02$ and $p = 0.03$, respectively) (**Figure 3**).

Residual stiffness

Residual stiffness averaged $47 \pm 18\%$ (range: 24 – 98%) of initial values. Residual stiffness was not correlated with bone mass (i.e.; BMD, BMC and BV/TV) or with initial mechanical behavior.

However, residual stiffness was significantly and positively correlated with Tb.Th* ($r = 0.58$, $p = 0.006$) and significantly and negatively Ct.Curv ($r = - 0.52$, $p = 0.015$).

DISCUSSION

To our knowledge, no study to date has directly assessed the ability of a vertebra to carry load after a simulated mild fracture (i.e.; SQ grade 1). Moreover, the determinants of this post-fracture load-bearing capacity are critical, but poorly understood.

We found that after sustaining an initial fracture, vertebral failure load and stiffness were decreased whereas work to failure was increased. Although post-fracture mechanical parameters were highly correlated to their initial counterparts, 47% to 71% of the variation in the post-fracture mechanical behavior was explained by determinants other than the initial mechanical parameters, namely microarchitecture.

The vertebral body consists of a trabecular bone center surrounded by a thin and porous cortical shell, or perhaps trabecular condensation (13, 18, 19). This complex structure can be idealized and modeled as a cellular solid such as a natural honeycomb-like material close to an open-cell plastic foam (20). Indeed, compressive load-displacement curve of trabecular bone is typical of this model (20-22). The mechanical behavior shows a linear-elastic regime followed by a plateau of roughly constant load, leading into a final regime of steeply rising stress. Each regime is associated with a mechanism of deformation (21). On the first loading, the cell walls bend, giving linear elasticity but when a critical stress reached the cells to begin to collapse. This elastic deformation regime ends when the cell begin to collapse giving the plastic deformation regime. Progressive compressive collapse gives a characteristic horizontal plateau of the load-displacement curve which continues until opposing cell walls meet and touch, causing the stress to rise steeply. At high loads, the cells collapse sufficiently so that the opposing cell walls touch together and further deformation compresses the cell wall material itself. This gives the final, steeply rising portion of the load-

displacement curve, labeled densification. An increase of relative density of the honeycomb-like structure increases the relative thickness of the cell walls. Then, the resistance to cell wall bending and cell collapse goes up, giving a higher stiffness and plateau load and reducing the displacement at which densification begins (20). In our study, the post-fracture elastic property was assessed by vertebral deformation recovery (VDR). VDR represents the ability for a vertebra to recover its initial height and shape – such as a spring – after an initial deformation. This elastic behavior was correlated with initial work to failure, which expresses the ability for a vertebra to absorb and dissipate energy (13), and was associated with parameters of thickness (i.e.; Tb.Th* and Ct.Th) but not by bone mass (i.e.; BMC, BMD and BV/TV). Thus, the capacity of a vertebra to recover its initial height after a simulated mild fracture depended on the capacity to dissipate energy during loading to failure and this was mediated by the thicknesses of both cortical shell and trabeculae.

The post-fracture plastic behavior was assessed by residual strength and stiffness which represents the residual load-bearing capacity of vertebra after sustaining a fracture. The post-fracture decline in stiffness was larger than the decline in failure load, likely due to the eventual impaction of failed trabeculae upon themselves, thereby maintaining the post-fracture failure load at a relatively higher value than the stiffness. Interestingly, the residual load bearing capacity was independent from bone mass as well as from initial mechanical behavior, but was explained by both cortical and trabecular microarchitecture. These results indicate that the preservation in load-bearing capacity depends on the trabecular microarchitecture more than bone mass and initial load-bearing capacity. However, it is important to note that in our elderly population characterized by low bone mass, the role of bone mass parameters in residual mechanical properties may be underestimated. For 6 vertebrae, post-fracture failure load increased rather than decreased. These 6 vertebrae did not differ from the other ones in term of age, sex, vertebral body height and bone mass. However,

in these 6 cases, trabecular microarchitecture, expressed by Tb.N*, Tb.Sp* and trabecular microarchitecture heterogeneity (i.e.; Tb.Sp*SD), was significantly more robust, giving again a preponderant role to trabecular microarchitecture and its heterogeneity in preserving post-fracture mechanical properties. These results suggest that drugs which preserve or enhance trabecular microarchitecture can provide an important role in maintaining the mechanical properties of bone and contribute to prevent fracture as well as their recurrence and possibly progression (23-25). Moreover, only a small fraction of the antifracture effect of bone resorption inhibitors can be explained by BMD gains and thus assessment of trabecular microarchitecture may have a role not only in prediction of fracture risk, but also in monitoring efficacy of anti-resorptive and anabolic therapies (23-25).

Our study had several major limitations. First, microarchitecture parameters were assessed using two high-resolution computed tomography imaging systems with different resolutions (82 μm -voxel size HR-pQCT and 35 μm -voxel size $\mu\text{-CT}$) as our Skyscan image analyzing software did not permit to assess several microarchitectural parameters such as Tb.N*, Tb.Sp* and Tb.Sp*SD. Because of partial volume effects, lower resolution images may lead to misestimating some microarchitectural features when compared with gold-standard $\mu\text{-CT}$ or histomorphometry (26-30). Although there is clear evidence of microarchitectural parameter resolution dependency, Tb.N*, Tb.Sp* and Tb.Sp*SD seems to be less dependent on resolution than parameters of thickness (26, 27). Indeed, a resolution reduction around a factor 2 – such as in our study – resulted in a decrease of Tb.N* of 5% at more (26). Moreover, several studies have compared microarchitecture measurements made with 82 μm voxel size and greater to those obtained with $\mu\text{-CT}$ and found very highly significant correlations between the micro-architectural parameters (29, 30). Second, the loading mode used was uniaxial compression. Because many osteoporotic vertebral fractures are anterior wedge fractures, the response to combined compression and anterior-posterior

(AP) bending may also be of interest (31). Third is the inability to know the distribution of load between cortical and trabecular bone in our loading conditions as well as loading conditions seen *in-vivo*. This underlines the necessity of further experimental studies performed beyond the scope of this work and particularly those that utilize finite element analysis (FEA) models which could extend the current experimental observations. Another limitation is that our study did not take in account other factors such as bone tissue composition (i.e., degree of mineralization, collagen maturity and crosslink characteristics, crystal size and perfection) which also contribute to vertebral elastic and plastic mechanical properties (13, 14, 32-34). Finally, our sample included vertebrae from older donors, and it is therefore not known whether these findings would apply in specimens from younger individuals with higher bone mass.

In conclusion, we found marked variation in the post-fracture load-bearing capacity following simulated mild vertebral fracture. Both cortical and trabecular microarchitecture, but not bone mass, was associated with preservation of load-bearing capacity and recovery of vertebral height after an initial deformation. These results provide guidance for identifying those at highest risk for progression of vertebral fracture, and suggest that therapies that prevent bone loss should preserve and enhance bone microarchitecture in order to prevent worsening of prevalent fractures and possibly delay the vertebral fracture cascade.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors thank Mr. Patrice Clerc (Mecanium[®], INSA, Lyon, France) for his contribution to the mechanical testing.

This study was supported in part by an unrestricted research grant from Eli-Lilly to INSERM, and by the National Institute of Arthritis, Musculoskeletal and Skin Diseases (AR053986).

REFERENCES

- 1) Johnell O, Kanis J. Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2005; 16:S3-S7.
- 2) Lindsay R, Silverman SL, Cooper C, Hanley DA, Barton I, Broy SB, Licata A, Benhamou L, Geusens P, Flowers K, Stracke H, Seeman E. Risk of new vertebral fracture in the year following a fracture. *JAMA.* 2001; 285:320-23.
- 3) Klotzbuecher CM, Ross PD, Landsman PB, Abbott TA, Berger M. Patients with prior fractures have an increased risk of future fractures: a summary of the literature and statistical synthesis. *J Bone Miner Res.* 2000; 15:721-39.
- 4) Ross PD, Genant HK, Davis JW, Miller PD, Wasnich RD. Predicting vertebral fracture incidence from prevalent fractures and bone density among non-black, osteoporotic women. *Osteoporos Int.* 1993; 3:120-6.
- 5) Delmas PD, Genant HK, Crans GG, Stock JL, Wong M, Siris E, Adachi JD. Severity of prevalent vertebral fractures and the risk of subsequent vertebral and non vertebral fractures: results from the MORE trial. *Bone.* 2003; 33:522-32.
- 6) Briggs AM, Greig AM, Wark JD. The vertebral fracture cascade in osteoporosis: a review of aetiopathogenesis. *Osteoporos Int.* 2007; 18:575-84.
- 7) Briggs AM, Wrigley TV, van Dieën JH, Phillips B, Kai Lo S, Greig AM, Bennell KL. The effect of osteoporotic vertebral fracture on predicted spinal loads in vivo. *Eur Spine J.* 2006; 15:1785-95.
- 8) Delmas PD, van de Langerijt L, Watts NB, Eastell R, Genant HK, Grauer A and Cahall DL for the IMPACT Study Group. Underdiagnosis of vertebral fractures is a worldwide problem: the IMPACT Study. *J Bone Miner Res.* 2005; 20:557-63.

- Submitted Article
- 9) Alkalay RN, von Stechow D, Torres K, Hassan S, Sommerich R, Zurakowski D. The effect of cement augmentation on the geometry and structural response of recovered osteopenic vertebrae. An anterior-wedge fracture model. *Spine*. 2005;33:1627-36.
 - 10) Martin RB, Sharkey NA 2001 Mechanical effects of post-mortem changes, preservation, and allograft bone treatments. In: Cowin SC (ed.) *Bone Mechanics Handbook*, 2nd ed., CRC Press, Boca Raton FL, USA, pp. 20.1-20.24.
 - 11) Ashman RB, Donofrio M, Cowin SC, van Buskirk WC 1982 Postmortem changes in the elastic properties of trabecular bone. *Trans Orthop Res Soc* 7:63-7.
 - 12) Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1957; 16:494-502.
 - 13) Roux JP, Wegrzyn J, Arlot ME, Guyen O, Chapurlat R, Bouxsein ML. Contribution of trabecular and cortical components to biomechanical behavior of human vertebrae. An ex-vivo study. *J Bone Miner Res*. 2010; 25:356-61.
 - 14) Wegrzyn J, Roux JP, Arlot ME, Stéphanie Boutroy, Nicolas Vilayphiou, Guyen O, Chapurlat R, Bouxsein ML Role of trabecular microarchitecture and its heterogeneity parameters in the mechanical behavior of ex-vivo human L3 Vertebrae. *J Bone Miner Res*. 2010. Accepted article.
 - 15) Genant HK, Wu CY, Van Huijk, Nevitt MC Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res*. 1993; 8:1137-48.
 - 16) Roux C, Fechtenbaum J, Kolta S, Briot K, Girard M. Mild prevalent and incident vertebral fractures are risk factors for new fractures. *Osteoporos Int*. 2007;18:1617-24.
 - 17) Turner CH. Biomechanics of bone: determinants of skeletal fragility and bone quality. *Osteoporos Int*. 2002; 13:97-104.
 - 18) Mc Donnell P, Mc Hugh PE, O'Mahoney D. Vertebral osteoporosis and trabecular bone quality. *Ann Biomed Eng*. 2007; 35:170-89.

- 19) Buxsein ML. Determinants of skeletal fragility. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005; 19:897-911.
- 20) Gibson LJ, Ashby MF. Cancellous Bone. In: *Cellular solids. Structure and properties*, 2nd ed., 1997. Cambridge university Press, Cambridge, UK, pp. 429-452.
- 21) Gibson LJ, Ashby MF. The mechanics of foams: basics results. In: *Cellular solids. Structure and properties*, 2nd ed., 1997. Cambridge university Press, Cambridge, UK, pp. 175-234.
- 22) Turner CH. Bone strength: current concepts. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1068:429-46.
- 23) Borah B, Dufresne TE, Ritman EL, Jorgensen SM, Liu S, Chmielewski PA, Phipps RJ, Zhou X, Sibonga JD, Turner RT. Long-term risedronate treatment normalizes mineralization and continues to preserve trabecular architecture: sequential triple biopsy studies with micro-computed tomography. *Bone.* 2006; 39:345-52.
- 24) Greenspan SL, Perera S, Recker R, Wagner JM, Greeley P, Gomberg BR, Seaman P, Kleerekoper M. Changes in trabecular microarchitecture in postmenopausal women on bisphosphonate therapy. *Bone.* 2010 Jan 4. [Epub ahead of print] PMID: 20051275
- 25) Benhamou CL. Effects of osteoporosis medications on bone quality. *Joint Bone Spine.* 2007; 74:39-47.
- 26) Müller R, Koller B, Hildebrand A, Laib S, Gianolini S, Rüeggsegger P. Resolution dependency of microstructural properties of cancellous bone based on three-dimensional μ -tomography. *Technol Health Care.* 1996; 4:113-9.
- 27) Kothari M, Keaveny TM, Lin JC, Newitt DC, Genant HK, Majumdar S 1998 Impact of spatial resolution on the prediction of trabecular architecture parameters. *Bone* **22**:437-43.
- 28) Cendre E, Mitton D, Roux JP, Arlot ME, Duboeuf F, Burt-Pichat B, Rumelhart C, Peix G, Meunier PJ. High-resolution computed tomography for architectural

characterization of human lumbar cancellous bone: relationships with histomorphometry and biomechanics. *Osteoporos Int.* 1999; 10:353-60.

- 29) Burghardt AJ, Kazakia GJ, Majumdar S 2007 A local adaptive threshold strategy for high resolution peripheral quantitative computed tomography of trabecular bone. *Ann Biomed Eng* **35**:1678-86.
- 30) Liu XS, Zhang XH, Sekhon KK, Adam MF, McMahon DJ, Bilezikian JP, Shane E, Guo XE. High-Resolution Peripheral Quantitative Computed Tomography Can Assess Microstructural and Mechanical Properties of Human Distal Tibial Bone. *J Bone Miner Res.* 2009 Sep 23 [Epub ahead of print] PMID: 19775199.
- 31) Duan Y, Seeman E, Turner CH 2001 The biomechanical basis of vertebral body fragility in men and women. *J Bone Miner Res* **16**:2276-83.
- 32) Follet H, Boivin G, Rumelhart C, Meunier PJ 2004 The degree of mineralization is a determinant of bone strength: a study on human calcanei. *Bone* **34**:783-89.
- 33) Farlay D, Panczer G, Rey C, Delmas PR, Boivin G. Mineral maturity and crystallinity index are distinct characteristics of bone mineral. *J Bone Miner Metab.* 2010; Published online January 22, 2010; doi: 10.1007/s00774-009-0146-7, PMID: 20091325
- 34) Seeman E, Delmas PD 2006 Bone quality – The material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med* **354**:2250-61.

	mean	±	SD	range
DXA measurements				
BMC (g)	6.8	±	1.91	(2.96 - 9.68)
BMD (g/cm ²)	0.62	±	0.12	(0.36 - 0.80)
μCT measurements				
BV/TV (%)	16	±	4.43	(8.78 - 25.85)
DA (#)	0.43	±	0.03	(0.36 - 0.47)
SMI (#)	1.79	±	0.23	(1.26 - 2.15)
Tb.Th* (μm)	241	±	42	(188 - 329)
Ct.Th (μm)	732	±	445	(319 - 1983)
Ct.Curv (mm)	33	±	15	(12 - 70)
Tb.N* (#/mm)	0.76	±	0.16	(0.46 - 1)
Tb.Sp* (μm)	1363	±	332	(972 - 2181)
Tb.Sp*SD (#)	0.53	±	0.16	(0.31 - 1)

Table 1: Descriptive statistics of DXA and microarchitectural parameters.

	Failure load (N)			Stiffness (N/mm)			Work to failure (N.mm)		
Initial	2615	± 1136	(651 – 5481)	2938	± 1585	(663 – 6741)	1730	± 1129	(453 – 4158)
Post-fracture	2285*	± 970	(566 – 4547)	1277*	± 596	(156 – 2357)	3219*	± 1745	(654 – 7524)
Δ (%)	- 11	± 19	(-53 – 21)	- 53	± 18	(-76 – -2)	121	± 104	(-34 – 425)

Table 2: Descriptive statistics of initial and post-fracture mechanical parameters and changes in mechanical parameters (Δ: difference between post-fracture and initial parameters in %) (mean ± SD (range)). The comparisons between initial and post-fracture mechanical parameters were performed using Wilcoxon signed rank tests (*: p < 0.05).

FIGURE LEGENDS:

Figure 1:

Load-displacement curves of a L3 vertebra. The black curve corresponds to the initial mechanical test performed with an initial loading until SQ1 fracture (25%-deformation). The grey curve corresponds to the post-fracture mechanical test performed after a 30 minute-period of relaxation. Vertebral deformation recovery (VDR; %) corresponds to the height recovery with regard to the initial height. Failure-1 corresponds to the initial failure load and failure-2 to the post-fracture failure load.

Figure 2:

Spearman coefficients of correlation between initial mechanical parameters (black blocks), post-fracture mechanical parameters (grey blocks) and microarchitecture. a) Failure load, b) Stiffness and c) Work to failure. a: $p < 0.05$, b: $p < 0.01$, c: $p < 0.0001$.

Figure 3:

Box-plot representations of differences between vertebrae with residual strength < 100% (decrease in post-fracture failure load) and > 100% (increase in post-fracture failure load) (min value, lower quartile, median, upper quartile and max value). The comparisons between the 2 groups were performed using Mann-Whitney tests.

Figure 1:

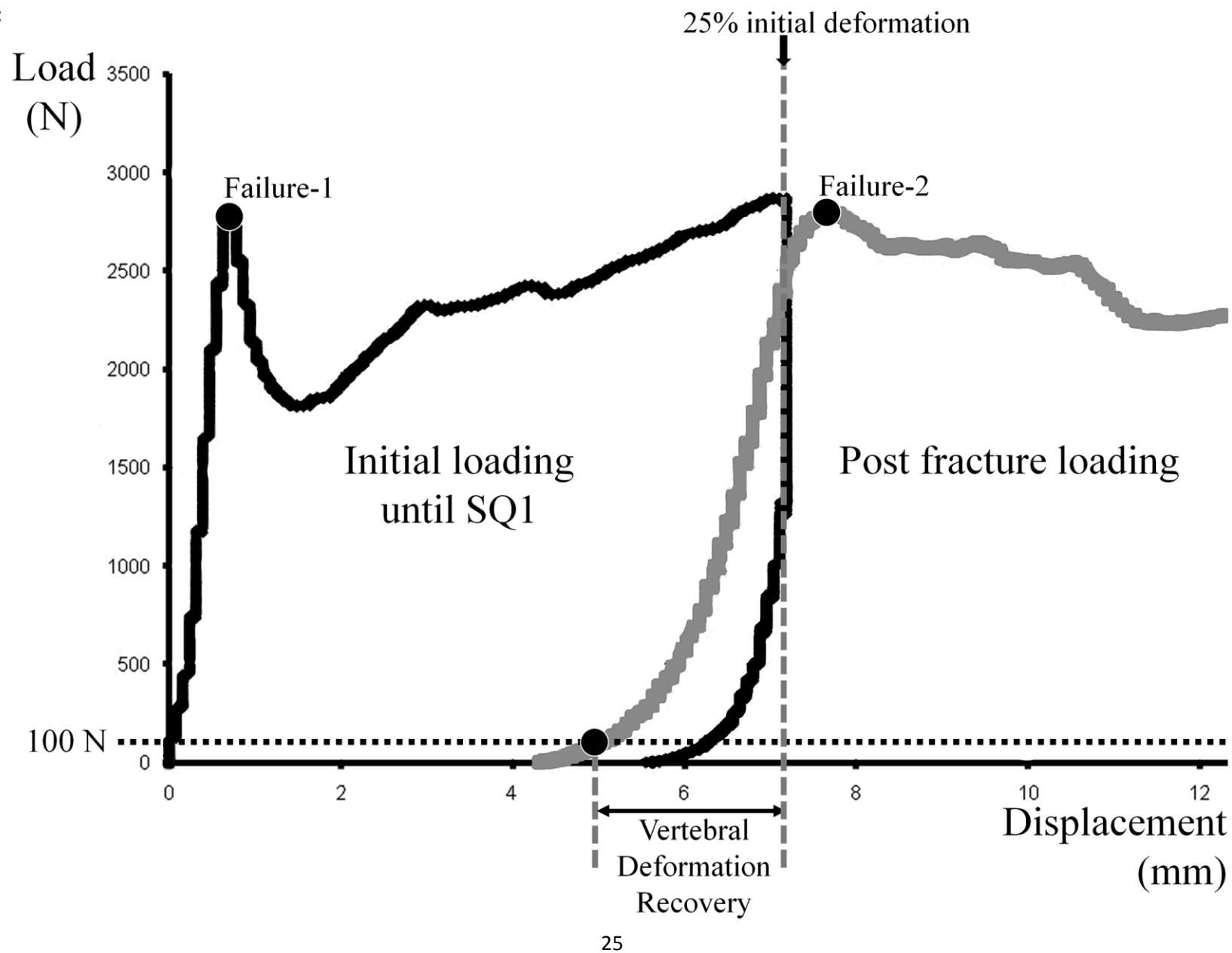


Figure 2:

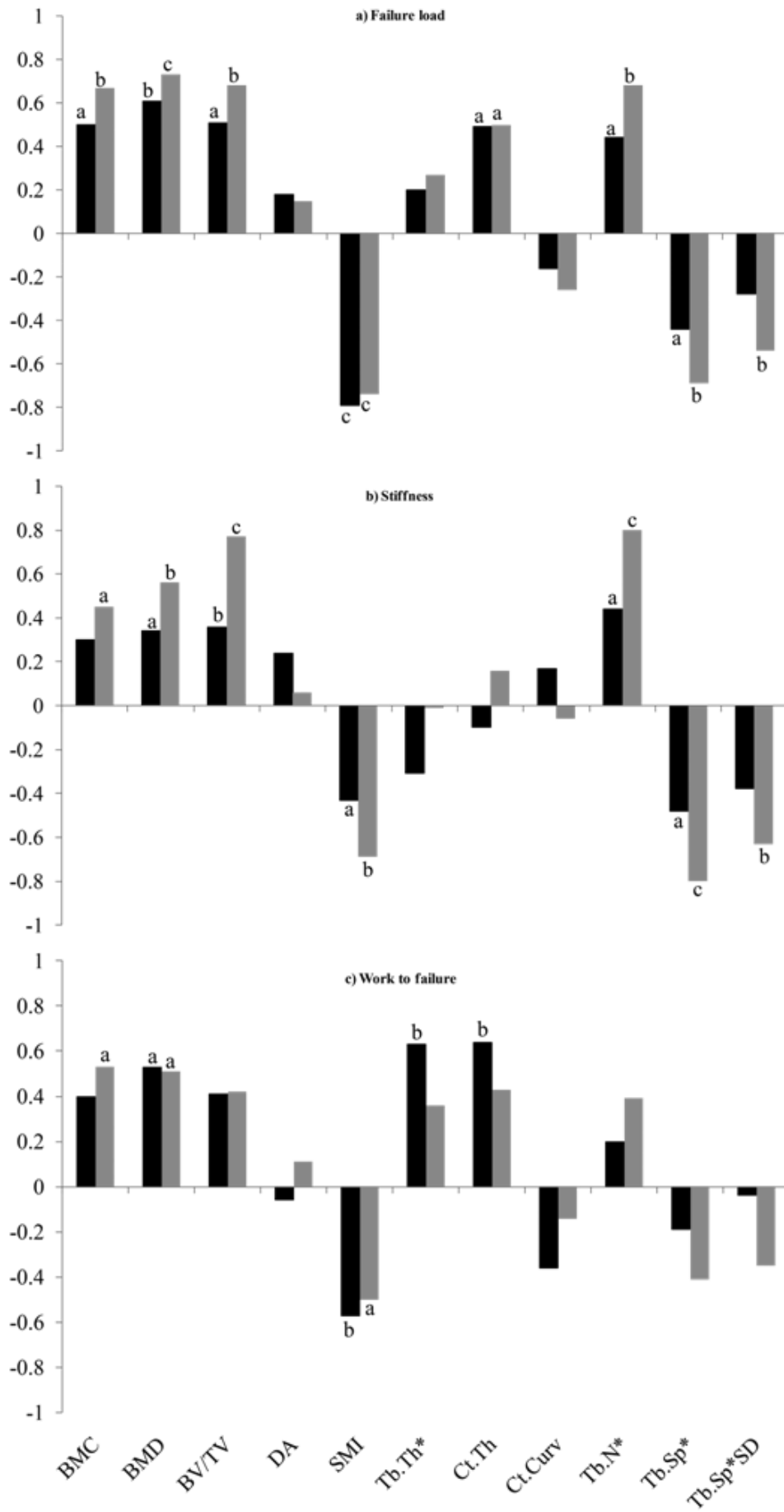
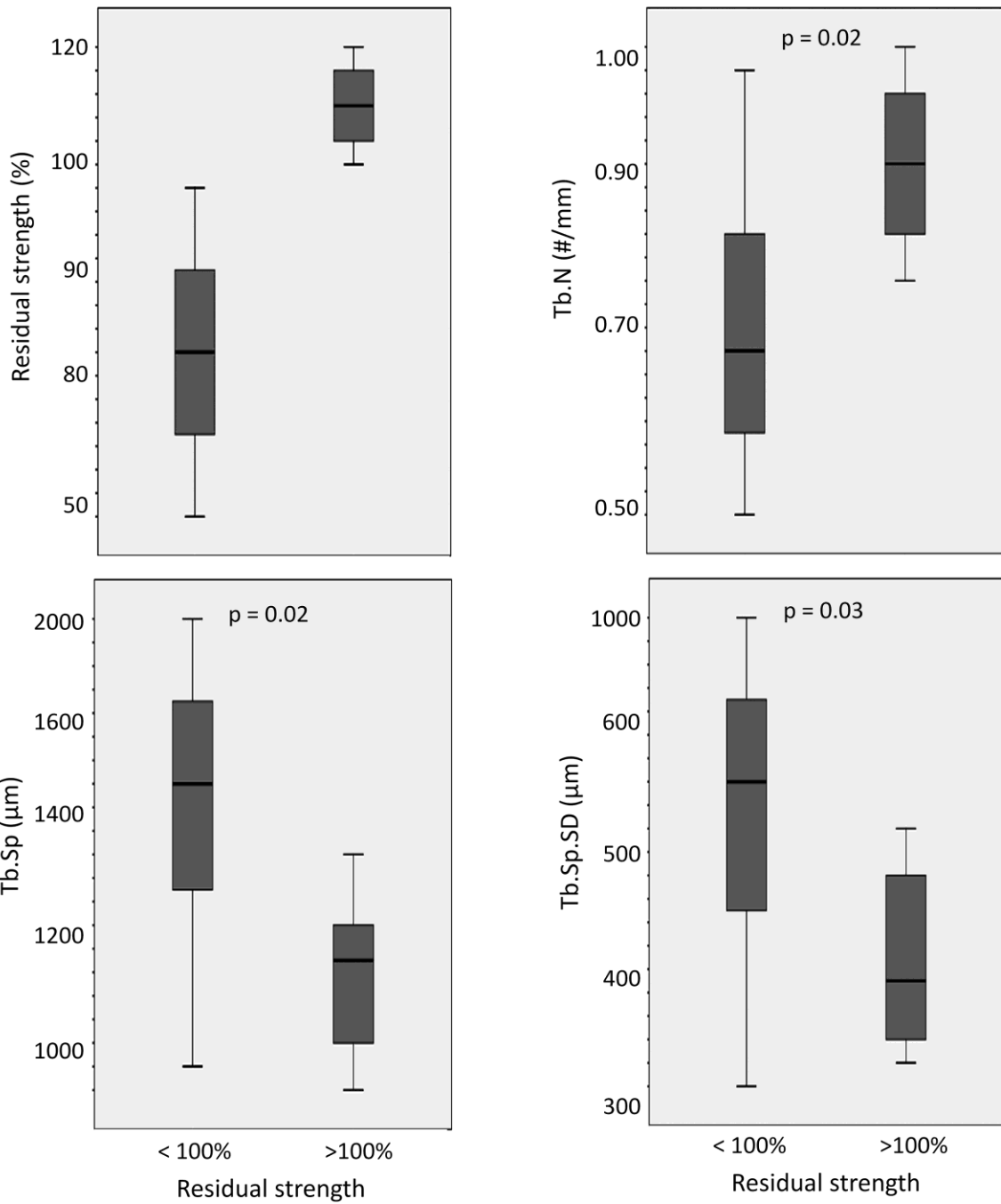


Figure 3:



TROISIEME PARTIE :

CONCLUSIONS

ET

PERSPECTIVES

Situation du problème :

L'ostéoporose est une maladie systémique du squelette liée à l'âge caractérisée par une réduction progressive de la masse osseuse et par une détérioration de la microarchitecture osseuse conduisant à une augmentation du risque de fracture par fragilité. L'ostéoporose constitue un problème majeur de santé publique affectant plus de 200 millions de patients dans le monde dont 80% de femmes ^(45, 46). Aux USA, 28 millions de personnes présentent une ostéoporose et 34 millions sont à risque d'ostéopénie ^(45, 47). Chaque année, 1,5 million de fractures sont directement imputables à l'ostéoporose dont 350 000 fractures de la hanche et 500 000 fractures vertébrales ⁽⁴⁸⁾. En Europe, 480 000 fractures de la hanche étaient attribuées à l'ostéoporose en 1999 et ce nombre pourrait dépasser les 970 000 en 2050 selon les prévisions ^(49, 50). Le coût de l'ostéoporose constitue également en lui-même un problème majeur de santé publique ⁽⁵¹⁾. Les coûts directs en Europe, actuellement de 31 milliards d'euros, devraient atteindre plus de 76 milliards d'euros en 2050 ⁽⁵¹⁾.

En France, cette « *épidémie silencieuse* » est responsable de 150 000 fractures par an dont environ 70 000 intéressent la hanche ^(52, 53). Une femme sur trois et un homme sur cinq de plus de 50 ans présenteront une fracture par fragilité osseuse. Si l'on compare à d'autres pathologies, le risque de présenter une fracture chez la femme de 50 ans est supérieur au risque combiné d'avoir un cancer du sein, de l'ovaire ou de l'utérus ⁽⁵⁴⁾. Pour les hommes, ce risque est plus important que celui d'avoir un cancer de la prostate ⁽⁵⁴⁾. De plus, l'incidence de ces fractures par fragilité devrait être de 2 à 4 fois plus élevée dans les prochaines décennies du fait du vieillissement de la population ⁽⁵³⁾. En effet, si les plus de 65 représentaient 15% de la population d'Europe de l'ouest en 2002, ils en représenteront le quart d'ici 2025... ⁽⁵³⁾

Bien que la résistance osseuse ne puisse par être déterminée directement *in-vivo*, la densité et la microarchitecture osseuses permettent d'expliquer la majeure partie des

variations du comportement mécanique osseux ^(7, 8). Leurs mesures sont donc utilisées comme indicateur et prédicteur de la résistance osseuse et du risque de fracture ^(7, 8). Ainsi, d'une manière générale, les recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS), préconisent que l'ostéoporose soit évaluée, incluant une mesure de la DMO, chez toutes les femmes ménopausées présentant une fracture de fragilité et/ou des facteurs de risque associés. Toutefois, nous avons déjà vu les limites de la prédiction du risque fracturaire par la seule DMO... ⁽³⁾ Cependant, bien que les techniques d'acquisition de la microarchitecture aient montré des résultats prometteurs en permettant d'améliorer la prédiction du risque fracturaire ^(10, 11), la disponibilité des appareils permettant sa mesure est encore malheureusement insuffisante à l'heure actuelle pour en faire un outil de pratique clinique ordinaire.

Les résultats de cette Thèse :

Dans cette Thèse, nous nous étions fixés 3 buts qui étaient d'évaluer, *ex-vivo*, sur des vertèbres humaines L3 :

- a) La contribution respective de la microarchitecture osseuse corticale et trabéculaire au comportement mécanique vertébral,
- b) Le rôle de l'hétérogénéité de la microarchitecture trabéculaire dans la prédiction du comportement mécanique vertébral,
- c) Les déterminants microarchitecturaux du comportement mécanique vertébral post-fracturaire et la description de ce comportement.

La densité minérale était acquise par ostéodensitométrie biphotonique à rayons X. Comme nous l'avons vu, l'ostéodensitométrie ne permet pas de différencier les parts respectives de l'os cortical et de l'os trabéculaire. Elle ne donne qu'une appréciation globale

de la quantité et de la densité minérale osseuse. De plus, la densité minérale osseuse vertébrale peut être surévaluée, pouvant conduire à des faux négatifs, en raison d'une ostéophytose lombaire majeure sur rachis dégénératif, d'une densification vertébrale consécutive à une fracture ancienne ou par des calcifications des tissus mous péri-rachidiens (athérosclérose aortique par exemple).

La microarchitecture était acquise à la fois par un système de HR-pQCT (Scanco Xtreme CT[®]) utilisé en clinique humaine, dans des zones périphériques, avec une taille de voxel isotropique de 82 μm et par un système de μ -CT (Skyscan[®]) avec une taille de voxel isotropique de 36 μm , se rapprochant des conditions idéales pour quantifier les travées osseuses mais non utilisable en clinique humaine (haute irradiation et nécessité d'échantillons de petite taille). Ces techniques permettent de différencier et de sélectionner un volume d'intérêt cortical ou trabéculaire au sein du corps vertébral, de réaliser des biopsies virtuelles mais aussi de permettre des acquisitions pour des analyses par éléments finis ^(43, 44, 55).

Répondant à chacun des 3 objectifs fixés, nos résultats montrent que :

a) ***En ce qui concerne l'acquisition de la microarchitecture corticale*** : la mesure de l'épaisseur de la corticale antérieure et de son rayon de courbure améliore significativement la prédiction du comportement mécanique vertébral – expliquant jusqu'à 82% de sa variation – et donc la prédiction du risque fracturaire.

b) ***En ce qui concerne la détermination de l'hétérogénéité de la microarchitecture trabéculaire*** : la détermination de la variation régionale de la microarchitecture permet d'améliorer la prédiction du risque fracturaire par rapport à la seule détermination de la masse osseuse et/ou de la microarchitecture trabéculaire. En particulier, la variation antéro-postérieure de l'anisotropie, associée à la masse osseuse, explique jusqu'à 86% de la résistance mécanique vertébrale.

c) *En ce qui concerne le comportement mécanique post-fracturaire et ses déterminants* : nos résultats montrent une variation marquée du comportement mécanique vertébral après une fracture de grade 1 de Genant. La microarchitecture osseuse, et non la masse osseuse, explique les propriétés mécaniques vertébrales plastiques et élastiques post-fracturaires.

Nos résultats confirment donc, avec ceux des études précédentes, l'intérêt majeur et la nécessité de déterminer la microarchitecture osseuse afin d'améliorer la prédiction du risque fracturaire ^(7, 8, 10, 11, 12, 16, 43, 44, 55). Une meilleure prédiction de ce risque permettra de dépister plus précocement les patients à risques de fracture de fragilité et d'instaurer une prise en charge thérapeutique plus efficace chez ces patients. Ces paramètres de microarchitecture permettront également de mieux suivre l'efficacité des médicaments anti-résorptives d'autant que nous avons montré la nécessité de préserver la microarchitecture osseuse dans la résistance mécanique osseuse.

Le seul bémol à ces résultats très encourageants est la faible disponibilité de ces appareils en France qui en limite leur usage en pratique clinique quotidienne. De plus, nous avons uniquement réalisé des études *ex-vivo* dans notre thèse et le caractère prédictif du risque fracturaire par la détermination de la microarchitecture osseuse devra être évalué à travers des études épidémiologiques longitudinales. Pour l'instant, seules des études épidémiologiques transversales ont été réalisées et la pertinence des mesures aux sites périphériques pour la prédiction des fractures à la hanche ou à la colonne devra être confirmée ^(10, 11). Cependant, les dernières innovations dans le domaine de l'imagerie médicale et notamment le développement des *high-resolution multi-detector computed tomographs* (MDCT), devraient très probablement permettre, dans un avenir proche, de pouvoir mesurer ces paramètres de microarchitecture au

niveau de la colonne vertébrale et à la hanche sur des scanners utilisés en pratique clinique quotidienne et pour des niveaux d'irradiation faibles^(56, 57).

Perspectives : Pourquoi le Chirurgien Orthopédiste doit-il s'intéresser à l'ostéoporose, à son dépistage et à sa prise en charge ?

La fracture de fragilité est généralement le seul témoin d'une ostéoporose avérée et le chirurgien orthopédiste est souvent le premier, et parfois le seul médecin, à prendre en charge le patient fracturé (exemple typique de la fracture de Pouteau-Colles de la femme de 55 – 60 ans). Le chirurgien orthopédiste peut donc jouer un rôle essentiel dans l'optimisation de la prise en charge du patient, non seulement en traitant la fracture, mais aussi en assurant celui de la cause sous-jacente qui, jusqu'à ces dernières années, était largement négligée^(52, 53, 58, 59).

En pratique, le rôle du chirurgien peut se résumer en 3 grandes étapes^(52, 58):

- ***Evoquer*** systématiquement l'ostéoporose comme un facteur prédisposant lorsqu'un patient présente une fracture de fragilité,
- ***Inform***er qu'une évaluation de l'ostéoporose peut conduire à un traitement susceptible de réduire le risque de nouvelle fracture,
- ***Initier*** une prise en charge adéquate en référent le patient à un circuit de soins pour sa prise en charge diagnostique et thérapeutique, à défaut de le prendre en charge directement.

Cependant, jusqu'à 95% des patients pris en charge pour une fracture de fragilité sortent de leur hospitalisation sans évaluation adéquate d'une ostéoporose sous-jacente^(52, 58).

⁵⁹⁾. En moyenne, moins de 20% des patients ont une prise en charge thérapeutique optimale de leur ostéoporose, avec l'instauration d'un traitement, à leur sortie d'hospitalisation ^(52, 58, 59). Or, il est clairement démontré qu'une fracture de fragilité constitue l'un des facteurs de risque les plus forts de nouvelle fracture de fragilité ⁽⁶⁰⁾. Par exemple, une fracture vertébrale augmente de 2 à 3 fois le risque de présenter une fracture de la hanche ou du poignet et jusqu'à 4 à 5 fois celui de présenter une nouvelle fracture vertébrale, alors que seulement un tiers de ces fractures vertébrales sont correctement diagnostiquées ⁽⁶⁰⁾. De même, les patients ayant comme antécédent une fracture du poignet ont un risque 2 fois plus important de présenter une fracture à la hanche ^(61, 62). Il est bien montré que les fractures du poignet surviennent environ 15 ans plus tôt que les fractures de la hanche et constituent donc un signal d'alarme fort ^(62, 63).

En effet, les fractures de l'extrémité proximale du fémur constituent la principale cause de morbidité et de mortalité associée à l'ostéoporose ⁽⁶⁴⁻⁶⁷⁾. Jusqu'à 4% des patients décèdent au cours de l'hospitalisation initiale et 25% des patients dans l'année suivant leur fracture ^(64, 65). En plus de cette surmortalité, ces fractures s'accompagnent d'une morbidité substantielle : 80% des patients ne retrouvent pas leur niveau d'autonomie initial, 40% sont incapables de marcher sans aide et 30 % deviennent totalement dépendants et requièrent une institutionnalisation ^(64, 66). La mortalité au-delà d'un an reste également très affectée puisque l'espérance de vie est amputée de près de 40% chez les patients ayant présentés une fracture de la hanche ⁽⁶⁷⁾. En plus d'être douloureuses et invalidantes, les fractures chez la personne âgée représentent une charge financière énorme en termes de dépenses de santé directes (hospitalisation, rééducation, soins de longue durée) et indirectes (morbidité post-fracture, escarres, sur-infections, ...), estimée à environ 1 milliards d'euros par an en France ^(52, 53).

Les fractures ostéoporotiques posent également des problèmes techniques au chirurgien, parfois difficiles à résoudre ⁽⁵⁸⁾. Le traitement chirurgical de ces fractures constitue

un réel défi qui doit permettre la consolidation tout en rendant le plus rapidement possible l'autonomie au malade. Au niveau métaphysaire, la qualité très altérée de l'os ostéoporotique rend la tenue des vis conventionnelles médiocres. De plus, d'importantes impactions post-traumatiques de l'os trabéculaire métaphysaire laissent persister des défauts post-réductionnels parfois majeurs. Si le processus de consolidation est quasi normal, sans augmentation du taux de pseudarthrose, les délais sont cependant augmentés. Tous ces facteurs concourent à augmenter le risque d'échec mécanique à l'interface « os – implant » avant que la consolidation soit acquise. Les complications les plus fréquentes sont les effractions intra-articulaires des vis ou des clous cervico-céphaliques (cas des fractures du massif trochantérien), les balayages de vis d'ostéosynthèse par plaque avec expulsion et démontage secondaire qui conduisent à des reprises chirurgicales présentant une morbidité élevée ⁽⁵⁸⁾. C'est dans ce contexte que sont apparues les plaques à vis verrouillées qui offrent une meilleure stabilité dans l'os ostéoporotique grâce des transmissions de contraintes directes de l'os à la plaque, ce qui équivaut mécaniquement à un fixateur externe. Dans le cas de fractures diaphysaires, lorsque cela est possible, il faudra privilégier l'enclouage centro-médullaire qui permet de diminuer les contraintes notamment en flexion par une position plus proche de l'axe mécanique anatomique. Au niveau des grosses articulations (hanche, épaule, coude, genou), l'arthroplastie sera préférée à la synthèse permettant une solution moins aléatoire et permettant une remise en appui plus précoce. On peut en rapprocher la prise en charge des fractures péri-prothétiques ^(52, 68). Leur incidence est d'environ 2%, ce qui correspond à l'incidence des fractures du col du fémur ⁽⁶⁸⁾. De plus, cette pathologie va probablement progresser dans les années à venir compte tenu du nombre croissant des arthroplasties et de l'allongement de l'espérance de vie. Les fractures péri-prothétiques surviennent dans le plus souvent dans un contexte de traumatisme mineur (chute de sa hauteur) sur un os de qualité altérée. Les facteurs de risque sont intimement liés à l'âge, que

ce soit l'âge du patient – pour ce qui est de l'ostéoporose – ou l'âge de la prothèse – en raison de l'ostéolyse associée due aux particules d'usure –. Les objectifs thérapeutiques sont là encore le retour à l'autonomie pré-fracturaire, de permettre une mobilisation immédiate, d'assurer la stabilité de la prothèse sous-jacente ainsi que, il ne faut pas l'oublier, prévenir la survenue d'une nouvelle fracture. La présentation extrêmement polymorphe de ces fractures impose des solutions techniques difficiles et la prise en charge de ces patients reste grevée d'une morbidité et d'une mortalité élevées ^(68, 69). Il est essentiel de tenir compte de l'état pré-opératoire du patient et les méthodes chirurgicales vont dépendre du capital osseux restant et de la stabilité de la prothèse. Les plaques anatomiques à vis verrouillées ont, là encore, montré des résultats très encourageants ^(70, 71). Néanmoins, l'ostéosynthèse n'est pas toujours possible ou souhaitable et la chirurgie de reprise prothétique pontant la fracture est une solution thérapeutique. Le chirurgien se retrouve alors confronté à un problème de traumatologie gériatrique dont l'issue est parfois aléatoire ^(52, 68).

En conclusion, nous cernons mieux tout l'intérêt et la nécessité de dépister à temps une ostéoporose et de prendre en charge ces patients de façon optimale afin de prévenir la survenue d'une fracture de fragilité. Cette prise en charge optimale s'inscrit dans le cadre d'un réseau de soins incluant le Chirurgien Orthopédiste, le Rhumatologue et le Médecin Traitant. Nous concluons ce travail par une citation résumant l'ensemble des points discutés ⁽⁵⁴⁾:

“Fracture care is not enough.

We must strive to prevent fractures

rather than treating them once they occur!”

REFERENCES

- 1) Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. NIH Consensus Statement. 2000 March 27-29;17:1-45.
- 2) US Department of Health and Human Services. Bone health and osteoporosis: a report of the Surgeon General. Rockville, MD: Office of the General Surgeon;2004.
- 3) Siris ES, Chen YT, Abbott TA, Barrett-Connor E, Miller PD, Wehren LE, Berger ML. Bone mineral density thresholds for pharmacological intervention to prevent fractures. Arch Intern Med. 2004;164:1108-12.
- 4) WHO Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Geneva: World Health Organization;1994.
- 5) Delmas P, Seeman E. Changes in bone mineral density explain little of the reduction in vertebral and non vertebral fracture risk with anti-resorptive therapy. Bone. 2004;34:599-604.
- 6) Seeman E, Delmas PD. Bone quality: The material and structural basis of bone strength and fragility. N Engl J Med. 2006;354:2250-61.
- 7) Bouxsein ML. Determinants of skeletal fragility. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2005;19:897-911.
- 8) Bouxsein ML, Seeman E. Quantifying the material and structural determinants of bone strength. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2009;23:741-53.
- 9) Lespessailles E, Chappard C, Bonnet N, Benhamou CL. Imaging techniques for evaluating bone microarchitecture. Joint Bone Spine. 2006;73:254-61.
- 10) Boutroy S, Bouxsein ML, Munoz F, Delmas PD. In vivo assessment of trabecular bone microarchitecture by high-resolution peripheral quantitative computed tomography. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90:6508-15.
- 11) Sornay-Rendu E, Boutroy S, Munoz F, Delmas PD. Alterations of cortical and trabecular architecture are associated with fractures in postmenopausal women,

- partially independent of decreased BMD measured by DXA: the OFELY study. *J Bone Miner Res.* 2007;22:425-33.
- 12) McDonnell P, McHugh PE, O'Mahoney D. Vertebral osteoporosis and trabecular bone quality. *Ann Biomed Eng.* 2007;35:170-89.
- 13) Banse X, Devogelaer JP, Munting E, Delloye C, Cornu O, Grynepas M. Inhomogeneity of human vertebral cancellous bone: systematic density and structure patterns inside the vertebral body. *Bone.* 2001;28:563-71.
- 14) Eastell R, Cedel SL, Wahner HW, Riggs BL, Melton LJ 3rd. Classification of vertebral fractures. *J Bone Miner Res.* 1991;6:207-15.
- 15) Wasnich RD. Vertebral fracture epidemiology. *Bone.* 1996;18:179S-183S.
- 16) Briggs AM, Greig AM, Wark JD. The vertebral fracture cascade in osteoporosis: a review of aetiopathogenesis. *Osteoporos Int.* 2007;18:575-84.
- 17) Delmas PD, Genant HK, Crans GG, Stock JL, Wong M, Siris E, Adachi JD. Severity of prevalent vertebral fractures and the risk of subsequent vertebral and non vertebral fractures: results from the MORE trial. *Bone.* 2003;33:522-32.
- 18) Rouvière H, Delmas A. Anatomie humaine descriptive, topographique et fonctionnelle. Tome 2. 14^{ème} édition, 1997. Masson, France.
- 19) Duan Y, Seeman E, Turner CH. The biomechanical basis of vertebral body fragility in men and women. *J Bone Miner Res.* 2001;16:2276-83.
- 20) Turner CH. Bone strength: current concepts. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1068:429-46.
- 21) Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone.* 1993;14:595-608.
- 22) Roux JP, Follet H, Arlot ME, Merabet Z, Boivin G, Meunier PJ. New methods to measure bone quality. *Rev Med Suisse Romande.* 2004;124:71-2.

- 23) Reilly DT, Burstein AH. The elastic and ultimate properties of compact bone tissue. *J. Biomech.* 1975;8:393-405.
- 24) Turner CH, Cowin SC, Rho JY, Ashman RB, Rice JC. The fabric dependence of the orthotropic elastic constants of cancellous bone. *J. Biomech.* 1990;23:549-61.
- 25) McElhaney J, Fogle J, Byars E, Weaver G. Effect of embalming on the mechanical properties of beef bone. *J Appl Physiol.* 1964;19:1234-6.
- 26) Burstein AH, Currey JD, Frankel VH, Reilly DT. The ultimate properties of bone tissue: the effects of yielding. *J Biomech.* 1972;5:35-44.
- 27) Martin RB, Sharkey NA. Mechanical effects of postmortem changes, preservation and allograft bone treatments. In *Bone Mechanics Handbook*, Cowin SC ed. 2001, CRC Press, Boca Raton, USA, pp 20.1-20.24.
- 28) Ashman RB. Experimental techniques. In *Bone Mechanics Handbook*, Cowin SC ed. 1989, CRC Press, Boca Raton, USA, p 75-95.
- 29) Bonfield W, Li CH. The temperature dependence of the deformation of bone. *J Biomech.* 1968;1:323-29.
- 30) Cheng XG, Nicholson PH, Boonen S, Lowet G, Brys P, Aerssens J, Van der Perre G, Dequeker J. Prediction of vertebral strength in vitro by spinal bone densitometry and calcaneal ultrasound. *J Bone Miner Res.* 1997;12:1721-8.
- 31) Hildebrand T, Rügsegger P. A new method for the model independent assessment of thickness in three dimensional images. *J Microsc.* 1997;185:67-75.
- 32) Laib A, Hildebrand T, Hauselmann HJ, Rügsegger P. Ridge number density: a new parameter for in vivo bone structure analysis. *Bone.* 1997;21:541-6.
- 33) Laib A, Nevitt DC, Lu Y, Majumdar S. New model-independent measures of trabecular bone structure applied to in vivo high resolution MR images. *Osteoporos Int.* 2002;13:130-6.

- 34) Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR. Bone histomorphometry : standardization of nomenclature, symbols and units. *J. Bone Miner Res.* 1987;2:595-610.
- 35) Odgaard A. Three-dimensional methods for quantification of cancellous bone architecture. *Bone.* 1997;20:315-28.
- 36) Ulrich D, van Rietbergen B, Laib A, Rüegegger P. The ability of three-dimensional structural indices to reflect mechanical aspects of trabecular bone. *Bone.* 1999;25:55-60.
- 37) Odgaard A, Gundersen HJ. Quantification of connectivity in cancellous bone architecture. *Bone.* 1993;14:173-82.
- 38) Hildebrand T, Rüegegger P. Quantification of bone microarchitecture with the structure model index. *Comp Meth Biomech Biomed Eng.* 1997;1:15-23.
- 39) Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1957;16:494-502.
- 40) Arcan M, Hashin Z, Voloshin A. A method to produce uniform plane-stress states with applications to fiber-reinforced materials. *Exp Mech.* 1978;18:141-6.
- 41) Ferrar L, Jiang G, Adams J, Eastell R. Identification of vertebral fractures: an update. *Osteoporos Int.* 2005;16:717-28.
- 42) Genant HK, Wu CY, Van Kuijk C, Nevitt MC. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res.* 1993;8:1137-48.
- 43) Roux JP, Wegrzyn J, Arlot ME, Guyen O, Chapurlat R, Bouxsein ML. Contribution of trabecular and cortical components to biomechanical behavior of human vertebrae. An ex-vivo study. *J Bone Miner Res.* 2010; 25:356-61.
- 44) Wegrzyn J, Roux JP, Arlot ME, Stéphanie Boutroy, Nicolas Vilayphiou, Guyen O, Chapurlat R, Bouxsein ML. Role of trabecular microarchitecture and its heterogeneity

parameters in the mechanical behavior of ex-vivo human L3 Vertebrae. J Bone Miner Res. 2010. Accepted article.

- 45) AAOS. Position statement of the American Academy of Orthopaedic Surgeons (#1113). "*Osteoporosis/ Bone health in adults as a national public health priority*". September 2009.
- 46) Riggs BL, Melton LJ III. The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology. Bone. 1995;17(Supp 5):505-11.
- 47) Jordan KM, Cooper C. Epidemiology of osteoporosis. Best Pract Res Clin Rheumatol.2002;16:795-806.
- 48) Cummings SR, Rubin SM, Black D. The future of hip fractures in the United States: numbers, costs, and potential effects of postmenopausal estrogen. Clin Orthop. 1990;252:163-6.
- 49) International Osteoporosis Foundation. Osteoporosis in the European community: a call to action: an audit of policy developments since 1998, 2001. http://www.osteofound.org/advocacy_policy/eu_calltoaction_report.html (accessed 25/05/04).
- 50) Cooper C, Campion G, Melton LJ 3rd. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. Osteoporos Int. 1992;2:285-9.
- 51) Johnell O. The socioeconomic burden of fractures: today and in the 21st century. Am J Med. 1997;103:20-5.
- 52) Féron JM, Thomas T, Roux C, Puget J. Osteoporosis and the orthopaedic surgeon in 2007. Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot. 2008;94:S99-107.
- 53) Dreinhöfer KE, Féron JM, Herrera A, Hube R, Johnell O, Lidgren L, Miles K, Panarella L, Simpson H, Wallace WA. Orthopaedic surgeons and fragility fractures. A

- survey by the Bone and Joint Decade and the International Osteoporosis Foundation. *J Bone Joint Surg Br.* 2004;86:958-61.
- 54) Tosi LL, Lane JM. Osteoporosis prevention and the Orthopaedic Surgeon: When fracture care is not enough. *J Bone Joint Surg Am.* 1998;80:1567-9.
- 55) Vilayphiou N, Boutroy S, Sornay-Rendu E, Van Rietbergen B, Munoz F, Delmas PD, Chapurlat R. Finite element analysis performed on radius and tibia HR-pQCT images and fragility fractures at all sites in postmenopausal women. *Bone.* 2010;46:1030-7.
- 56) Issever AS, Link TM, Kentenich M, Rogalla P, Burghardt AJ, Kazakia GJ, Majumdar S, Diederichs G. Assessment of trabecular bone structure using MDCT: comparison of 64- and 320-slice CT using HR-pQCT as the reference standard. *Eur Radiol.* 2010;20:458-68.
- 57) Issever AS, Link TM, Kentenich M, Rogalla P, Schwieger K, Huber MB, Burghardt AJ, Majumdar S, Diederichs G. Trabecular bone structure analysis in the osteoporotic spine using a clinical in vivo setup for 64-slice MDCT imaging: comparison to microCT imaging and microFE modeling. *J Bone Miner Res.* 2009;24:1628-37.
- 58) Féron JM, Thomas T, Cortet B, Audran M, Cherrier B, Chastanet P, Cotten A, Legrand E. Osteoporosis: an evolving clinical practice. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2010;96:118-26.
- 59) Thomas T, Féron JM, Delmas PD, Kaufman J, Tosi L, Cummings S, Lane J, Johnell O, Bouxsein ML. Optimal management of patients with stress fractures and the role of the orthopedic surgeon in reducing the risk of new fractures. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot.* 2006;92:165-74.

- 60) Klotzbuecher CM, Ross PD, Landsman PB, Abbott TA, Berger M. Patients with prior fractures have an increased risk of future fractures: a summary of the literature and statistical synthesis. *J Bone Miner Res.* 2000; 15:721-39.
- 61) Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, Stone K, Fox KM, Ensrud KE, Cauley J, Black D, Vogt TM. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med.* 1995;332:767-73.
- 62) Mallmin H, Ljunghall S, Persson I, Naessén T, Krusemo UB, Bergström R. Fracture of the distal forearm as a forecaster of subsequent hip fracture: a population-based cohort study with 24 years of follow-up. *Calcif Tissue Int.* 1993;52:269-72.
- 63) Cuddihy MT, Gabriel SE, Crowson CS, Atkinson EJ, Tabini C, O'Fallon WM, Melton LJ 3rd. Osteoporosis intervention following distal forearm fractures: a missed opportunity ? *Arch Intern Med.* 2002;162:421-6.
- 64) Cooper C. The crippling consequences of fractures and their impact on quality of life. *Am J Med.* 1997;103:12S-17S.
- 65) Keene GS, Parker MJ, Pryor GA. Mortality and morbidity after hip fractures. *BMJ.* 1993;307:1248-50.
- 66) Cree M, Soskulne CL, Belseck E, et al. Mortality and institutionalization following hip fracture. *J Am Geriatr Soc.* 2000;48:283-8.
- 67) Trombetti A, Herrmann F, Hoffmeyer P, Schurch MA, Bonjour JP, Rizzoli R. Survival and potential years of life lost after hip fracture in men and age-matched women. *Osteoporos Int.* 2002;13:731-7.
- 68) Bégué T, Thomazeau H. Fractures périprothétiques autour de la hanche et du genou. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot.* 2006;92:29-96.

- 69) Lindahl H, Oden A, Garellick G, Malchau H. The excess mortality due to periprosthetic femur fracture. A study from the Swedish national hip arthroplasty register. *Bone*. 2007;40:1294-8.
- 70) Althausen PL, Lee MA, Finkemeier CG, Meehan JP, Rodrigo JJ. Operative stabilization of supracondylar femur fractures above total knee arthroplasty: a comparison of four treatment methods. *J Arthroplasty*. 2003;18:834-9.
- 71) Chakravarthy J, Bansal R, Cooper J. Locking plate osteosynthesis for Vancouver type B1 and type C periprosthetic fractures of femur: a report on 12 patients. *Injury*. 2007;38:725-33.

ANNEXES

I. ANNEXE 1

Poster présenté au 30^{ème} congrès de l'*American Society for Bone and Mineral Research* en 2008 à Montréal, QC, Canada.

CONTRIBUTIONS OF TRABECULAR AND CORTICAL COMPONENTS TO BIOMECHANICAL PROPERTIES OF HUMAN VERTEBRAE

J.P. Roux¹, J. Wegrzyn^{1,2}, M.E. Arlot¹, Z. Merabet¹, M.L. Bouxsein³, P.D. Delmas¹.

¹ INSERM Research unit 831, Université de Lyon, France. ² Department of Orthopedic Surgery, Pavillon T, Hôpital E. Herriot, Lyon, France.

³ Orthopedic Biomechanics Laboratory, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA.



INTRODUCTION

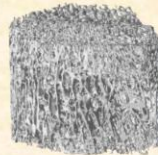
Vertebral fractures are common in elderly persons, yet the mechanisms of injury underlying these fractures remain obscure. Whereas there is clear evidence for a strong influence of the quantity of bone (i.e., bone mass or BMD) on the mechanical behavior of vertebrae, there are less data addressing the relative influence of cortical and trabecular microarchitecture. Thus, the aim of this study was to determine the relative contributions of bone mass, trabecular microarchitecture and cortical thickness and radius of curvature to the mechanical behavior of human lumbar vertebrae.

METHODS

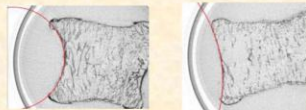
In 31 subjects (15 females, 16 males; aged respectively 76 ± 10 yrs and 75 ± 10 yrs), L3 vertebrae were excised after necropsy, frozen in saline solution at -20°C and bone mineral content (BMC, g), bone mineral density (BMD, g/cm^2) were assessed by lateral DXA (Delphi, Hologic[®]).

Microtomography

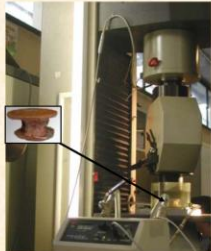
After the posterior elements were removed, the whole vertebral bodies were scanned using micro-CT (Skyscan[®] 1076 microtomograph, Aartselaar, Belgium), reconstructed at $35\mu\text{m}$ voxel size, and the following 3D parameters were measured: bone volume per tissue volume (BV/TV), direct trabecular thickness (Tb.Th), degree of anisotropy (DA) and structure model index (SMI).



Thickness and radius of curvature of anterior cortex (respectively $\text{Ct}_{\text{ant,Th}}$; $\text{Ct}_{\text{ant,curv}}$) were measured on 2D scans using Bone[®] Explora Nova software (La Rochelle, France).



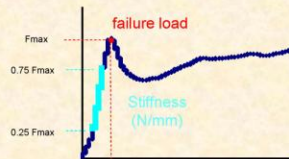
Biomechanical properties



A resin interface was done on each endplate in order to have parallel surfaces. Then, compressive testing was performed on a universal screw-driven machine (Schenck RSA 250) using displacement control (0.5 mm/min). The compressive load and displacement were measured by a 5000 N load cell (TME, F 501 TC) and a displacement transducer mounted directly to the vertebral resin endplates (LaMCoS, Lyon, France). Samples were tested in a saline solution at 37°C .

Measurements :

- failure load (N)
- compressive stiffness (N/mm)
- Work to failure (N.mm)



RESULTS

DXA measurements	Mean	SD	μCT measurements	Mean	SD	Mechanical tests	Mean	SD
BMC (g)	6.60	1.69	BV/TV (%)	15.31	5.05	failure load (N)	2644	1012
BMD (g/cm^2)	0.62	0.11	Tb.Th (μm)	224	44	compressive stiffness (N/mm)	3072	1545
			DA(#)	0.44	0.04	Work to failure (N.mm)	1640	978
			SMI (#)	1.83	0.24			
			$\text{Ct}_{\text{ant,Th}}$ (μm)	641	400			
			$\text{Ct}_{\text{ant,curv}}$ (mm)	33	15			

All parameters had normal distribution, after log transformation for central radius of curvature, thickness of anterior Cortex and compressive work.

Pearson correlation coefficients between mechanical behavior, bone mass, trabecular architecture and cortical indices.

	BMC	BMD	BV/TV	Tb.Th	DA	SMI	$\text{Ct}_{\text{ant,Th}}$	$\text{Ct}_{\text{ant,curv}}$	Failure load	Stiffness
BMD (g)	0.86									
BV/TV (%)	0.34	0.58								
Tb.Th (μm)	0.42	0.35	0.37							
DA (#)	-0.11	-0.18	-0.59	-0.42						
SMI (#)	-0.27	-0.47	-0.80	-0.35	0.21					
$\text{Ct}_{\text{ant,Th}}$ (μm)	0.61	0.46	0.29	0.68	-0.09	-0.35				
$\text{Ct}_{\text{ant,curv}}$	-0.60	-0.50	-0.03	-0.36	0.09	-0.14	-0.41			
Failure load (N)	0.56	0.70	0.47	0.08	0.09	-0.58	0.36	-0.16		
Stiffness (N/mm)	0.45	0.60	0.48	-0.22	-0.02	-0.43	0.01	0.06	0.75	
Work to failure (N.mm)	0.45	0.55	0.27	0.44	0.07	-0.36	0.61	-0.36	0.67	0.14

p < 0.05

- > Except for DA, all trabecular parameters and anterior cortex thickness or curvature were correlated with mechanical behavior.
- > Anterior cortex thickness and curvature were independent of microarchitectural parameters (i.e.; no significant correlation was found with BV/TV, DA and SMI) except with trabecular thickness.

Multiple regression.

$$\text{Failure load} = \text{BMD} + \text{SMI} + \text{Tb.Th} \quad R = 0.80$$

p < 0.0001 p = 0.007 p = 0.04

$$\text{Stiffness} = \text{BMD} + \text{Tb.Th} + \text{Ct}_{\text{curv}} \quad R = 0.82$$

p < 0.0001 p = 0.0026 p = 0.008

$$\text{Work to failure} = \text{Ct}_{\text{ant,Th}} + \text{BMD} \quad R = 0.68$$

p = 0.008 p = 0.04

In addition, the correlation between Work to failure with anterior cortex thickness remains significant after adjustment with BMD (p = 0.005; partial correlation).


CONCLUSIONS

The combination of BMD, SMI and Tb.Th was the best predictor of failure load, explaining 64% of its variability. The combinations of BMD with anterior cortex thickness or curvature significantly improved the prediction of stiffness and work to failure, explaining up to 67%.


Our data imply that measurements of cortical thickness and curvature may enhance predictions of vertebral fragility and that therapies which improve both vertebral cortical as well as trabecular bone properties may provide a greater reduction in fracture risk.

II. ANNEXE 2


Poster présenté au 55^{ème} congrès de l'Orthopaedic Research Society en 2009 à Las Vegas, NV, USA.



Inserm
Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale



UNIVERSITÉ DE LYON





Hôpital de Lyon

CONTRIBUTIONS OF TRABECULAR MICROARCHITECTURE AND ITS HETEROGENEITY TO BIOMECHANICAL BEHAVIOR OF HUMAN L3 VERTEBRAE

Wegrzyn J^{1,2}, Roux JP¹, Arlot ME¹, Boutroy S¹, Vilaythiou N¹, Guyen O², Delmas PD¹, Bouxsein ML³

¹ INSERM unit 831, Université de Lyon, France. ² Department of Orthopedic Surgery – Pavillon T, Hôpital E. Herriot, Lyon, France. ³ Orthopedic Biomechanics Laboratory, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

OBJECTIVES

Low bone mineral density (BMD) is a strong risk factor for vertebral fracture in osteoporosis. However, BMD explains only 40 to 70% of the variation in trabecular bone strength and many fractures occur in patients with normal BMD^{1,2}. Besides BMD, trabecular microarchitecture improves prediction of bone mechanical behavior^{3,4}. Trabecular microarchitecture heterogeneity has been previously described^{5,6}, however there is limited information about its contribution to vertebral fragility.

The aim of this study was to assess the contribution of trabecular microarchitecture and its heterogeneity to mechanical behavior of human lumbar vertebrae.

METHODS

L3 vertebrae were harvested from 21 fresh donors (10 females, 11 males; aged respectively 76 ± 10yrs and 75 ± 10yrs), frozen in saline solution at -20°C.

Bone mineral content (BMC, g), bone mineral density (BMD, g/cm³) were assessed by lateral dual-energy X-ray absorptiometry (DXA, Delphi W[®], Hologic, USA).

Trabecular Microarchitecture and its Heterogeneity

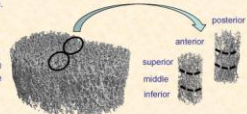
The whole vertebral bodies were analyzed using high resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT; XtremeCT[®], Scanco Medical, Switzerland) with a 82-µm nominal isotropic voxel size.

The following 3D parameters were measured: bone volume per tissue volume (BV/TV), structure model index (SMI), trabecular thickness (Tb.Th^{*}), trabecular separation (Tb.Sp^{*}) and trabecular number (Tb.N^{*}) without model assumption.

Trabecular microarchitecture heterogeneity was assessed using two 8.2 mm diameter vertical biopsies: one anterior and one posterior vertically cored in 3 zones (superior, middle and inferior).

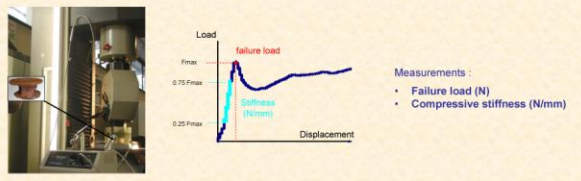
The following parameters were measured:

- The ratio of antero-posterior BV/TV (BV/TV_{ratio})
- The coefficient of variation of the vertical 3 zones BV/TV (BV/TV_{CV})
- The distribution expressed by the standard deviation of Tb.Sp^{*} on vertical biopsies (Tb.Sp^{*}SD_{an} and Tb.Sp^{*}SD_{post}) and on the whole trabecular area (Tb.Sp^{*}SD)



Biomechanical Properties

A resin interface was attached to each endplate in order to create parallel surfaces for load application. Then, compressive testing was performed on a universal screw-driven machine (Schenck RSA 250) using displacement control (0.5 mm/min). The compressive load and displacement were measured by a 5000 N load cell (TME, F 501 TC) and a displacement transducer mounted directly to the vertebral resin endplates (Mecanum, Lyon, France). Samples were tested in a saline solution at 37°C.



Measurements:

- Failure load (N)
- Compressive stiffness (N/mm)

RESULTS

On the whole vertebral bodies, mean values of mechanical parameters were 2615 ± 1136 N for failure load and 2938 ± 1585 N/mm for stiffness. Mean value of lateral BMD was 0.62 ± 0.12 g/cm³.

Although all parameters reflecting trabecular microarchitecture of the whole vertebral body were correlated with mechanical parameters (r = -0.81 to 0.44, p = 0.0001 to 0.047, Pearson correlation), SMI was the most pertinent one (r = -0.81).

Vertebral failure load was mainly explained by microarchitectural parameters of the anterior region as assessed by stepwise regression analyses between anterior and posterior microarchitectural parameters. As a result, we studied vertical heterogeneity on the anterior biopsy.

Trabecular bone heterogeneity (i.e., BV/TV_{ratio} and Tb.Sp^{*}SD_{an}) was significantly correlated with mechanical behavior (i.e., failure load) (r = -0.55 to -0.56, p = 0.01 to 0.009, Pearson correlation).

Heterogeneity of trabecular microarchitectural parameters between anterior and posterior regions (mean (SD))

	Whole Vertebrae	Anterior Biopsy	Posterior Biopsy
BV/TV (%)	13.5 (5.9)	11.4 (6.1) [†]	13.5 (6.7)
SMI (#)	2.61 (0.53)	2.75 (0.65)	2.76 (0.50)
Tb.Sp [*] (µm)	1363 (332)	1368 (382) [†]	1209 (319)
Tb.Th [*] (µm)	308 (43)	288 (64)	293 (42)
Tb.N [*] (#/mm)	0.76 (0.16)	0.76 (0.17) [†]	0.86 (0.20)
Tb.Sp [*] SD (µm)	526 (162)	434 (133)	451 (181)
BV/TV _{ratio}	1.41 (0.70)		
BV/TV _{CV}		0.28 (0.16)	0.31 (0.13)

All parameters had normal distribution, after log transformation for BV/TV_{ratio}. [†] p < 0.05 anterior versus posterior biopsies (Student t-test)

Heterogeneity trabecular microarchitectural parameters between the 3 vertical zones of anterior biopsy (mean (SD))

	Superior	Middle	Inferior
BV/TV (%) [†]	10.8 (7.1)	13.2 (7.3)	10.3 (6.2)
SMI (#) [†]	2.90 (0.68)	2.47 (0.76)	2.91 (0.7)
Tb.Sp [*] (µm)	1354 (451)	1285 (335)	1301 (314)
Tb.Th [*] (µm) [†]	281 (77)	289 (60)	266 (48)
Tb.N [*] (#/mm)	0.78 (0.19)	0.81 (0.19)	0.80 (0.17)
Tb.Sp [*] SD (µm)	436 (172)	407 (112)	392 (115)

[†] p < 0.05 (Friedman test)

Bivariate Pearson correlation analysis

Correlations with Failure load (N):

- Lateral BMD (g/cm³): r = 0.67, p = 0.001
- SMI (#): r = -0.81, p < 0.0001
- BV/TV_{ratio}: r = -0.55, p = 0.01
- Tb.Sp^{*}SD_{an}: r = -0.56, p = 0.009

Multiple regression analysis

Failure load =	BMD	+	anterior BV/TV _{CV}	R = 0.83
	p < 0.0001		p = 0.0011	
Stiffness =	BMD	+	anterior BV/TV _{CV}	R = 0.74
	p = 0.0006		p = 0.0058	

In addition, the correlations between failure load and stiffness with anterior BV/TV_{CV} remained significant after adjustment with BMD (respectively, p = 0.001 and 0.005, partial correlation).

CONCLUSIONS

Bone mass parameters in combination with trabecular microarchitecture heterogeneity were independent predictors of vertebral mechanical behavior, together explaining up to 74% of the variability in the prediction of vertebral fragility.

Our data imply that the measurement of trabecular microarchitecture heterogeneity enhance prediction of vertebral fracture risk.

¹McDonnell P et al. Ann Biomed Eng 2007. ²Delmas PD et al. J Bone Miner Res 2005. ³Hulme PA et al. Bone 2007. ⁴Buckley JM et al. Bone 2007. ⁵Banase X et al. Bone 2001. ⁶Boutroy S et al. J Clin Endocrinol Metab 2005. This study was supported in part by a research grant from Eli-Lilly[®] to INSERM.

III. ANNEXE 3

Abstract soumis pour le 32^{ème} congrès de l'*American Society for Bone and Mineral Research* en octobre 2010 à Toronto, ON, Canada.

Contribution of Trabecular Microarchitecture and its Heterogeneity to the Mechanical Behavior of Human L3 Vertebrae

Julien Wegrzyn^{1,2,4}, Jean-Paul Roux^{1,4}, Monique E. Arlot¹, Stéphanie Boutroy¹, Nicolas Vilayphiou¹, Olivier Guyen², Pierre D. Delmas¹, Roland Chapurlat¹, Mary L. Bouxsein³

¹ INSERM Research Unit 831, Université de Lyon, Lyon, France

² Department of Orthopedic Surgery, Pavillon T, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

³ Orthopedic Biomechanics Laboratory, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

⁴ These authors contributed equally to this work

Low BMD is a strong risk factor for vertebral fracture, though many fractures occur in people with moderately decreased BMD. Along with BMD, trabecular microarchitecture influences vertebral strength, although there is little information about the contribution of microarchitecture heterogeneity to vertebral fragility. Our aim was to assess the influence of microarchitecture and its heterogeneity on the mechanical behavior of human L3 vertebrae.

21 L3 vertebral bodies (75±10 years) were obtained fresh-frozen, analyzed for BMD by DXA and for microarchitecture by HR-pQCT (82 µm voxel size, XTreme CT Scanco®), and then tested in axial compression. The following microarchitectural parameters were measured: BV/TV, SMI, Tb.Sp*, Tb.Th* and Tb.N*. Heterogeneity was assessed using 2 vertically oriented virtual biopsies (anterior (Ant) and posterior (Post)) – each divided into 3 zones (superior, middle and inferior), and using the whole trabecular volume for Tb.Sp*SD (Figure 1). Heterogeneity parameters were defined as 1) ratios of Ant/Post microarchitecture parameters and 2) the coefficient of variation (CV) of microarchitecture from the 3 vertical zones.

BMD ($r = 0.66$, $p = 0.001$) and microarchitecture were significantly correlated with failure load ($|r| = 0.44 - 0.81$, $p = 0.04 - <0.0001$), with parameters of the Ant biopsy being the best predictors of mechanical behavior ($r = 0.56 - 0.74$, $p = 0.009 - <0.0001$). Using stepwise regression, the combination of BMD (3rd step, $p = 0.004$), SMI (1st step, $p < 0.0001$) and DA_{ratio} (2nd step, $p = 0.001$), was strongly associated with failure load ($R = 0.93$, $p < 0.0001$). Also, the combination of BV/TV ($p = n.s.$), SMI (2nd step, $p = 0.008$) and DA_{ratio} (1st step, $p = 0.003$) was correlated to failure load ($R = 0.89$, $p < 0.0001$).

In conclusion, BMD alone explained up to 44% of the variability in vertebral mechanical behavior, BV/TV up to 53% and microarchitecture up to 66%. Importantly, the combination of bone mass (BMD or BV/TV) with microarchitecture and its heterogeneity improved the prediction of vertebral mechanical behavior, together explaining up to 86% of the variability in vertebral failure load. Our data indicate that regional variation of microarchitecture assessment expressed by heterogeneity parameters may enhance prediction of vertebral fracture risk.

IV. ANNEXE 4

Abstract soumis pour le 32^{ème} congrès de l'*American Society for Bone and Mineral Research* en octobre 2010 à Toronto, ON, Canada.

DETERMINANTS OF THE MECHANICAL BEHAVIOR OF HUMAN LUMBAR VERTEBRAE AFTER SIMULATED MILD FRACTURE

Jean-Paul Roux^{1,4}, Julien Wegrzyn^{1,2,4}, Monique E. Arlot¹, Stéphanie Boutroy¹, Nicolas Vilayphiou¹, Olivier Guyen², Pierre D. Delmas¹, Roland Chapurlat¹, Mary L. Bouxsein³

¹ INSERM Research Unit 831, Université de Lyon, Lyon, France

² Department of Orthopedic Surgery, Pavillon T, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

³ Center for Advanced Orthopaedic Studies, Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, MA, USA

⁴ These authors contributed equally to this work

After sustaining an initial vertebral fracture, up to 20% of women will experience another fracture within a year. The ability of a vertebra to carry load after initial deformation and the determinants of this post-fracture (post-frx) load-bearing capacity are critical, but poorly understood. Our study aimed to determine the mechanical behavior of vertebra after simulated SQ1 fracture (grade 1 of Genant's SQ scale) and to identify the determinants of this post-fracture behavior.

We obtained 21 fresh frozen L3 vertebral bodies (10 women and 11 men, 75 ± 10 years) and assessed bone mass by DXA, and trabecular (Tb) and cortical microarchitecture by μ CT (Skyscan[®] 1076 and Scanco[®] Xtreme CT). Mechanical testing was performed in 2 phases: initial compression of the vertebra to 25% deformity (SQ1), followed by 30 min of unloading, and then compression to failure, to assess the post-frx behavior. We measured: 1) initial and post-frx failure load and stiffness, 2) changes in mechanical behavior, and 3) post-frx elastic behavior, assessed by recovery of vertebral height during the unloaded phase.

Post-frx stiffness and failure load were $53 \pm 18\%$ and $11 \pm 19\%$ lower, respectively than initial values ($p < 0.0001$), with 49 to 77% of the variation in the post-frx mechanical behavior explained by the initial values. Both initial and post-frx mechanical behaviors were significantly correlated with bone mass ($r = 0.49$ to 0.77) and microarchitecture ($r = 0.47$ to 0.83 ; $p = 0.03$ to < 0.0001). Post-frx changes in mechanical parameters were independent of bone mass, but were related to trabecular and cortical microarchitecture ($r = -0.46$ to -0.52 , $p = 0.04$ to 0.02). Vertebral height recovery averaged $31 \pm 7\%$ (range: 20 to 46%) and was associated with trabecular thickness ($r = 0.54$), cortical thickness ($r = 0.64$), and trabecular heterogeneity ($r = 0.44$) ($p < 0.05$ for all).

In summary, we found marked variation in the post-fracture load-bearing capacity following simulated mild vertebral fractures. Bone microarchitecture, but not bone mass, was associated with the post-frx change in mechanical properties and recovery of vertebral height. These results provide guidance for identifying those at highest risk for progression of vertebral fragility, and suggest that therapies that prevent bone loss and enhance bone microarchitecture may prevent worsening of prevalent fractures, and possibly delay the vertebral fracture cascade.

RESUME

L'ostéoporose est une maladie du squelette caractérisée par une dégradation de la qualité osseuse conduisant à une majoration du risque fracturaire. Le seul examen permettant actuellement de prédire ce risque est l'ostéodensitométrie à double rayonnement X (DXA) par la mesure de la densité minérale osseuse (DMO). Cependant, la DMO seule ne rend compte que de 40 à 70% de la variation de la résistance mécanique osseuse. Les 3 buts ce travail étaient : 1/ d'évaluer les rôles respectifs de la microarchitecture corticale et trabéculaire dans le comportement mécanique vertébral, 2/ d'évaluer le rôle propre de l'hétérogénéité de la microarchitecture trabéculaire et 3/ de décrire le comportement mécanique vertébral post-fracturaire et d'en identifier les déterminants. Nous montrons que la mesure de l'épaisseur de la corticale antérieure et de son rayon de courbure ainsi que la détermination de la variation régionale de la microarchitecture trabéculaire améliorent significativement la prédiction du risque fracturaire. Il existe une variation marquée du comportement mécanique vertébral après une fracture de grade 1 de Genant. La microarchitecture osseuse, et non la masse osseuse, explique les propriétés mécaniques vertébrales plastiques et élastiques post-fracturaires.

TITLE

The relative contribution of bone microarchitecture and its heterogeneity to mechanical behavior of human L3 vertebrae: An *ex-vivo* study

SUMMARY

Osteoporosis is characterized by altered bone quality and compromised bone strength leading to increased fracture risk. Measurement of areal bone mineral density (BMD) using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) is the most widely used index of bone strength. However, BMD alone can only account for 40 to 70% of the variation of bone strength. This study aimed to determine: 1/ the respective role of cortical and trabecular microarchitecture to vertebral mechanical behavior, 2/ the role of trabecular microarchitecture heterogeneity and 3/ the mechanical behavior of a vertebra after simulated mild fracture and its determinants. Our data imply that measurements of cortical thickness and curvature as well as determination of trabecular microarchitecture heterogeneity enhance prediction of vertebral fragility. We found marked variation in the post-fracture load-bearing capacity following simulated mild vertebral fractures. Bone microarchitecture, but not bone mass, was associated with post-fracture mechanical behavior of vertebrae.

DISCIPLINE

Biomécanique

MOTS CLEFS

Ostéoporose, biomécanique, fracture vertébrale, masse osseuse, microarchitecture, HR-pQCT, μ -CT

LABORATOIRE

INSERM U 831 « *Ostéoporose et Qualité Osseuse* »
IFR 62 – Faculté de Médecine RTH Laennec – Lyon Est
7-11, rue Guillaume Paradin
69372 Lyon Cedex 08
Web : ifr62.univ-lyon1.fr