

Diss. ETH No. 21922

# Post-yield mechanics and material composition of single trabeculae - a combined experimental and modelling approach

A thesis submitted to attain the degree of  
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH  
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

**Roberto Carretta**

M.Sc. Politecnico di Milano, Milano, Italy

born on 14<sup>th</sup> January, 1983

citizen of Italy

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Ralph Müller, examiner

Dr. Dr. Silvio Lorenzetti, co-examiner

Prof. Dr. Edoardo Mazza, co-examiner

2014

# Summary

Bone is a dynamic organ, which performs a multitude of essential tasks in the physiology of human being. At the microscale, trabecular bone is composed of the so-called trabeculae, that are rod and plate-like structures which build up the trabecular bone network. Each trabecula is composed of bone packets, where collagen, hydroxyapatite crystals and water are the main constituents. The mechanical properties of bone are strictly related to bone material composition even though their relationship in the post-yield region is not yet fully understood. This knowledge is an essential step towards modelling individual's mechanical performance, for instance by mean of finite element microstructural models, as well as improving diagnosis and prevention of diseases. A growing evidence of the importance in the post-yield region of collagen, its structure and the bone matrix organization has been shown in recent research. The general aim of this thesis is to investigate the mechanical properties of trabecular bone at the tissue level, specifically focusing on the inelastic region of the mechanical response, and in the characterization of the effects of the material composition. Three aims were specifically identified: (i) the development and validation of the system to mechanically test single trabeculae in bending and tension and to acquire the material composition data; (ii) the experimental measurement of the compositional and the post-yield and failure properties in bending and tension of human bone tissue and (iii) the statistical modeling of the influence of collagen content on the mechanical properties of a single trabecula.

According to the first aim, a new device for measuring the material composition and the mechanical properties of single trabeculae in the post-yield region for both tensile and bending tests was developed and validated. Material composition was assessed for each single trabecula by calibrated  $\mu$ CT scans (TMD, average tissue mineral density) and Raman spectroscopy (MMR, mineral-to-matrix ratio; CPR, B-type carbonate substitution ratio; CCL, col-

lagen cross-link ratio and total amount of collagen). Mechanical properties were calculated by means of a direct experimental testing on single trabeculae in tension and bending combined with reverse finite element analysis. The newly designed testing setup made use of a new optical strain tracking and real geometry acquisition and was validated by quantifying accuracy error (0.3%) and precision error (2.7%), thus demonstrating high reliability for accurate and reproducible measurements.

The newly designed setup was used to identify material and mechanical parameters of human trabecular bone at the tissue level. Beyond the elastic limit, an exponential hardening law characterised by the yield stress, post-yield hardening stress and exponential hardening exponent was assumed. Absolute values and deviation were investigated at the tissue level up to failure for two different deformation modes, tension and bending and for two donors, a healthy and an osteoporotic one. A complete set of mechanical parameters (elastic modulus, yield stress, yield strain, ultimate stress, ultimate strain, exponential hardening coefficient, post-yield hardening stress, elastic work and post-yield work (PYW)) was reported, that can be used as a reference for modelling trabecular bone human tissue. High within-subject variability was found, for both the healthy and the osteoporotic donor. Nevertheless, the two donors could be separated by ultimate strain and post-yield work, as well as CCL and CPR.

Finally, the knowledge gained in the previous steps was used to statistically evaluate the influence of the physiological intra-donors variation of the material properties on the mechanical performance at the tissue level. By means of hierarchical multivariate regression analysis, for the first time it was reported that both the CCL and CPR are independent predictors of ultimate strain and PYW, explaining a significant amount of their variability. This finding indicates that bone matrix quality (CCL and CPR - mineral and collagen organization) play a dominant role in the determination of the local failure resistance of trabecular bone tissue, while the absolute value of mineral density or collagen concentration is of minor relevance. Principal component analysis (PCA) extracted three independently varying regions that explained 86% of the total variance, representing elastic, yield and ultimate components, named according to the parameters included in each component. PCA showed

that CCL and CPR variation were included in the ultimate component. The high correlation between material properties and ultimate properties and the possibility to separate the mechanical behavior into three regions could allow implementing the results of the regression model as part of a constitutive model when predicting patient-specific bone failure. This finding suggests that a strain-based model could be the most appropriate one to predict tissue failure, modeled as a function of structure of the collagen fibers and the bone matrix composition.

In conclusion, the project presented in this thesis showed that a novel research approach, which makes use of multiple techniques including experimental mechanical testing, FE-reverse modeling and spectroscopy/ $\mu$ CT material analysis, is a promising method to provide the knowledge required for bone tissue constitutive modelling. The combination of these multiple techniques with this novel research approach is expected to provide a deeper understanding of the correlation between material and mechanical properties and to drive towards the implementation into bone failure predictive models.

# Sommario

L'osso è un organo dinamico, che assicura una serie di funzioni essenziali nella fisiologia dell'essere umano. A livello microscopico l'osso trabecolare è composto da trabecole, strutture a forma di aste cilindriche che costituiscono la rete trabecolare. Ogni trabecola è composta da unità ossee di cui collagene, cristalli di idrossiapatite ed acqua sono i principali costituenti. Le proprietà meccaniche dell'osso sono strettamente legate alla composizione del materiale costitutivo, anche se la loro relazione con le proprietà meccaniche nella regione inelastica non è ancora pienamente compresa. L'acquisizione di tale conoscenza rappresenta un passo essenziale verso la modellizzazione delle proprietà meccanica del singolo individuo, ad esempio per mezzo di modelli ad elementi finiti microstrutturali, così come verso il miglioramento della diagnosi e prevenzione delle malattie ossee. La ricerca più recente mostra un'evidenza crescente dell'importanza del collagene, della sua struttura e della matrice ossea nella risposta inelastica del materiale osseo. Lo scopo generale di questa tesi consiste nell'investigare le proprietà meccaniche dell'osso trabecolare a livello del suo tessuto, focalizzandosi nella regione inelastica della risposta meccanica, e nella caratterizzazione degli effetti della composizione del materiale. In particolare sono stati identificati 3 obiettivi: (i) lo sviluppo e la validazione di un sistema meccanico per testare singole trabecole in flessione e tensione, accoppiato ad un sistema per l'acquisizione delle proprietà del materiale; (ii), la misura sperimentale della composizione e delle proprietà meccaniche in flessione a tensione di osso umano nella regione inelastica; (iii) lo sviluppo di un modello statistico dell'influenza delle proprietà materiali legate al collagene sulle proprietà meccaniche della singola trabecola.

Il primo obiettivo è stato raggiunto con lo sviluppo e la validazione di un nuovo strumento per la misura delle proprietà materiali e meccaniche, in tensione e flessione, nella regione inelastica di deformazione. La composizione del material è misurata per ciascuna trabecola per mezzo di una tomografia

computerizzata calibrata (TMD, densità minerale tissutale) e spettroscopia Raman (MMR, rapporto minerale - matrice organica; CPR, rapporto di sostituzione del carbonato tipo-B; CCL, rapporto cross-link del collagene; quantità totale collagene). Le proprietà meccaniche sono calcolate per mezzo di test diretti su singola trabecola accoppiati a modellizzazione ad elementi finiti per il calcolo indiretta dei parametri meccanici. Il setup sperimentale utilizza un nuovo metodo di misura della deformazione e di acquisizione della geometria; è stato validato misurando errore di accuratezza (0.3%) e precisione (2.7%) e dimostrando quindi un'alta affidabilità nell'ottenere misure accurate e riproducibili.

Il setup sviluppato è stato usato per identificare le proprietà meccaniche dell'osso trabecolare umano a livello tissutale. Oltre il limite elastico è stata usata una legge di incrudimento esponenziale caratterizzata da sforzo di snervamento, sforzo di incrudimento ed esponente di incrudimento. I valori sono stati ottenuti in tensione e flessione per due donatori, uno sano ed uno osteoporotico. In questo modo è stato ottenuto un set completo di proprietà meccaniche (modulo elastico, sforzo e deformazione di snervamento, sforzo e deformazione a rottura, sforzo di incrudimento, esponente di incrudimento, lavoro elastico e lavoro inelastico PYW) che possono essere utilizzate come referenza per la modellizzazione dell'osso trabecolare umano. Nei dati è stata riscontrata un'alta variabilità all'interno di ciascun soggetto; nonostante questo è possibile separare statisticamente i due soggetti sulla base dello sforzo a rottura, lavoro inelastico, CCL a CPR.

Utilizzando i data sperimentali ottenuti è stato elaborato un modello statistico per valutare l'influenza della variazione intra-donatore delle proprietà del materiale sulle proprietà meccaniche. Per mezzo di regressione multivariata gerarchica, è stato riportato per la prima volta che CCL a CPR sono predittori indipendenti della deformazione a rottura e del lavoro inelastico, riuscendo a spiegare una quantità significativa della loro varianza. Questa scoperta indica come la qualità della matrice cellulare rivesta un ruolo dominante nella determinazione della resistenza a rottura a livello del tessuto osseo, mentre il valore assoluto di densità minerale e concentrazione di collagene siano di rilevanza minore. Attraverso dell'analisi alle componenti principali (PCA) sono stati identificate 3 regioni indipendenti che spiegano l' 86% della varianza totale,

chiamate componente elastica, di snervamento e di rottura sulla base delle proprietà meccaniche incluse in ciascuna componente. Inoltre, CCL and CPR sono include nella componente di rottura. L'elevata correlazione tra proprietà del materiale e meccaniche a rottura, insieme alla possibilità di separare la risposta meccanica in tre componenti, potrebbe permettere l'implementazione dei risultati del modello di regressione come parti di un modello costitutivo allo scopo di predire la frattura ossea a livello del singolo paziente. I risultati inoltre suggeriscono che un modello basato sulla deformazione potrebbe essere il più appropriato per descrivere le proprietà a rottura del tessuto, modellizzate come funzione della struttura delle fibre di collagene e della composizione della matrice organica.

In conclusione, il progetto presentato in questa tesi mostra come un nuovo approccio di ricerca, facente uso di diverse tecniche sperimentali e di modellizzazione, quali elementi finiti ed analisi spettroscopica, rappresenti un metodo promettente per raccogliere la conoscenza necessaria alla modellizzazione costitutiva del tessuto osseo. La combinazione di queste diverse tecniche all'interno del nuovo approccio di ricerca presentato si prevede di fornire una comprensione più profonda della correlazione tra proprietà dei materiali e meccaniche e di guidare verso l'applicazione di modelli predittivi di frattura ossea.