



**HAL**  
open science

# Elastographie quantitative des tumeurs du sein et de la réponse au traitement

Foucauld Chamming'S

► **To cite this version:**

Foucauld Chamming'S. Elastographie quantitative des tumeurs du sein et de la réponse au traitement. Imagerie médicale. Université Sorbonne Paris Cité, 2015. Français. NNT : 2015USPCB152 . tel-01661595

**HAL Id: tel-01661595**

**<https://theses.hal.science/tel-01661595v1>**

Submitted on 12 Dec 2017

**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.

## Thèse de Doctorat

Ecole Doctorale Médicament Toxicologie Chimie Imageries 563

Université Paris Descartes

Laboratoire de Recherche en Imagerie UMR 970 PARCC

Soutenue le 22 juin 2015

Par :

**Foucauld Chamming's**

Elastographie quantitative des tumeurs du sein et de  
la réponse au traitement

**Composition du Jury :**

Mme le Docteur FOURNIER Laure, **Directeur de thèse**

M. le Professeur GRENIER Nicolas, **Rapporteur**

M. le Professeur TAOUREL Patrice, **Rapporteur**

M. Le Professeur LECURU Fabrice

M. le Professeur DE BAZELAIRE Cédric

M. le Docteur TANTER Mickael

## REMERCIEMENTS

*...A Laure Fournier mon directeur de thèse. Merci pour ta rigueur, ta patience, ta disponibilité et ton soutien. Mon cheminement professionnel, scientifique mais aussi personnel te doit tant.. Sois assurée de mon amitié respectueuse et fidèle.*

*...A Patrice Taourel et Nicolas Grenier merci d'avoir accepté la lourde tâche d'être rapporteur de ce travail.*

*...A Fabrice Lécuru, Cédric de Bazelaire et Mickael Tanter merci de me faire l'honneur d'être membre du jury de cette thèse.*

*...A Olivier Clément, Bertrand Tavitian, Charles-André Cuénod et Nathalie Siauve pour votre aide et vos conseils précieux.*

*...A Marie-Aude Le Frère-Belda merci pour ton aide et ton expertise.*

*...A Jean-Luc Gennisson merci pour ton aide et amitié. J'espère que nous aurons l'occasion de travailler régulièrement ensemble à l'avenir*

*...A Miguel Bernal merci pour tes explications et ta disponibilité*

*...A Laetitia Pidial merci pour ton aide si précieuse.*

*...A Daniel Balvay and Gwennaëlle Autret pour leurs nombreux conseils et leur expertise*

*...A Gabriel Rahmi, Marianne Alison, Eléonore Blondiaux, Sophie Espinosa, Benjamin Deloison, Nathalie Faye, Gihad Chalouhi, Charlotte Lepoutre, Olivier Pellerin avec qui j'ai partagé ce long chemin de la thèse.*

*...A Franck Assayag, Julie Gachet, Jean Paul Duong et Gilles Renault merci pour votre aide.*

*...A Guy Fria et Dominique Vadrot merci pour vos conseils pleins de sagesse*

*...A Caroline Rousseau, Camille Bourillon, Audrey Iacan-Melki, Kim Dang-Tran, Céline Couvidat, Marie Brisa, Lamya Meziti merci d'avoir accepté de m'accompagner dans l'aventure de l'imagerie mammaire à l'HEGP.*

*...A Anne-Sophie Bats, Chérazade Bensaïd, Charlotte Ngô merci pour votre confiance dès le commencement et votre amitié.*

*...A Damien Bouda, Alexandre Bellucci, Edouard Hérin, Souhail Bennani, Chloé Hangard, Pauline Durand, Georges Hayek, Mehdi Bouaboula merci d'avoir été des internes patients et motivés*

*...A Emmanuelle merci pour ton amour et ta patience pendant toutes ces années. Rien de tout cela ne serait possible sans toi. Sois assurée de mon amour et de ma reconnaissance.*

*...A Charlotte, Côme, Joséphine et Maximilien. Vous êtes la lumière de ma vie. Je vous aime.*

*...A mes parents merci pour votre aide et votre accompagnement sans faille depuis toujours*

*...A mes beaux-parents merci pour votre aide et pour la confiance que vous m'accordez.*

*...A mes sœurs et à leurs conjoints merci pour votre amitié.*

*...A ma grand-mère*

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>3</b>
<b>CONTEXTE.....</b>	<b>5</b>
<b>PRINCIPES TECHNIQUES .....</b>	<b>9</b>
<b>1. Principe de l'élasticité (dureté) des tissus .....</b>	<b>9</b>
<b>2. Les différentes approches d'élastographie .....</b>	<b>10</b>
a. Elastographie statique .....	11
b. Elastographie par ondes de cisaillement .....	14
c. Représentation des images d'élastographie.....	16
<b>APPLICATIONS ET Performances cliniques.....</b>	<b>18</b>
<b>1. Application validée : la caractérisation des lésions mammaires.....</b>	<b>18</b>
a. Performances de l'élastographie statique.....	19
b. Performances de l'élastographie par ondes de cisaillement (élastographie shear wave – ESW).....	22
<b>2. Applications cliniques potentielles.....</b>	<b>25</b>
a. Echographie de « second look » : caractérisation des lésions et guidage des biopsies. 25	
b. Envahissement ganglionnaire axillaire des cancers du sein.....	26
c. La dureté comme facteur pronostique des cancers du sein.....	28
d. Elastographie et réponse à la chimiothérapie .....	29
<b>LIMITES ET NECESSITE DE VALIDATION TECHNIQUE DE L'ESW .....</b>	<b>31</b>
<b>TRAVAIL PERSONNEL.....</b>	<b>36</b>
<b>1. Evaluation des caractéristiques histologiques pouvant expliquer la dureté (Annexe2) .....</b>	<b>36</b>
<b>2. Evaluation des modifications de dureté sous traitement des tumeurs du sein et des caractéristiques histologiques sous-jacentes (Annexe 2).....</b>	<b>38</b>
<b>3. Evaluation du rôle de la compression manuelle pour la caractérisation des lésions mammaires en élastographie shear wave. (Annexe 3) .....</b>	<b>40</b>
<b>4. Mise au point et étude de faisabilité de la quantification <i>in vivo</i> du module de non linéarité des lésions mammaires : (annexe 4). .....</b>	<b>42</b>
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>46</b>
<b>1. Que mesure l'élastographie ?.....</b>	<b>46</b>
<b>2. Comment mesurer en élastographie ?.....</b>	<b>48</b>
<b>3. Au-delà de l'élasticité.....</b>	<b>51</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>52</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>53</b>

## INTRODUCTION

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent et la première cause de mortalité par cancer chez les femmes dans le monde (1). L'imagerie joue un rôle essentiel aux différentes étapes de la prise en charge du cancer du sein. L'élastographie est une nouvelle technique d'imagerie permettant d'évaluer quantitativement la dureté des lésions mammaires. L'élastographie regroupe en fait plusieurs techniques différentes, parmi lesquelles l'élastographie par onde de cisaillement (shear wave) qui donne une valeur quantitative de la dureté des tissus. Cette technique qui mesure des valeurs de dureté plus élevées pour les cancers que pour les tumeurs bénignes (2), permet en association à d'autres critères, d'améliorer la caractérisation des lésions mammaires en échographie (3). En l'espace de quelques années, l'élastographie shear wave (ESW) est passée de la mise au point en laboratoire à une utilisation courante en imagerie mammaire. Comme souvent en imagerie clinique, la démonstration d'un intérêt clinique a conduit à la mise en pratique rapide d'une nouvelle technologie alors que les étapes théoriques nécessaires à sa validation ne sont pas franchies. En effet, il existe des étapes de validation pré-clinique (phase 0), puis cliniques (phases 1-4) pour un « test diagnostique » (4,5), similaires à celles des agents thérapeutiques, permettant de valider : 1) le phénomène biologique quantifié par la technique, 2) les performances techniques (conditions d'acquisition, reproductibilité, répétabilité, robustesse, ...) et 3) la performance clinique (sensibilité, spécificité, valeurs prédictives...). Les performances cliniques de l'ESW ont été largement étudiées mais il y a peu de données dans la littérature concernant les deux premières étapes de validation de cette technique. En

effet, il s'agit d'une technique encore en évolution, et qui n'a pas encore atteint sa « maturité ». Il en résulte que les phénomènes biologiques quantifiés par l'ESW et sous-tendant l'image et les mesures quantitatives ne sont qu'incomplètement compris. Les éventuelles limites techniques de l'ESW en pratique clinique ne sont pas non plus bien cernées. Par conséquent, les limites de validité des paramètres quantitatifs mesurés par l'ESW en clinique restent encore à définir.

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés aux deux premières étapes de validation :

1) La validation technique pré clinique en appliquant cette technique dans un modèle biologique contrôlé afin de comprendre les phénomènes biologiques pouvant expliquer les mesures observées et

2) la validation technique dans les conditions cliniques, et en particulier les conditions d'acquisition nécessaires à une mesure quantitative fiable.

Il s'agit d'un projet de recherche transversale effectué sous la direction du Docteur Laure Fournier. Deux études pré-cliniques effectuées au Laboratoire de Recherche en Imagerie (Inserm U970) dirigé par le professeur Olivier Clément, Faculté de Paris Descartes (Paris V), ont permis d'étudier les éléments histologiques qui sous-tendent la dureté mesurée par ESW sur un modèle petit animal. Une étude clinique, effectuée dans le pôle d'imagerie du sein du service de Radiologie du Professeur Philippe Halimi à l'Hôpital Européen Georges Pompidou, s'est intéressée aux conditions d'acquisition et en particulier l'influence de la compression manuelle dans la caractérisation de lésions mammaires en ESW. A la suite des résultats de cette dernière étude, nous avons réalisé une étude clinique translationnelle pour évaluer un nouveau paramètre issu de l'ESW : le module de non linéarité.

## CONTEXTE

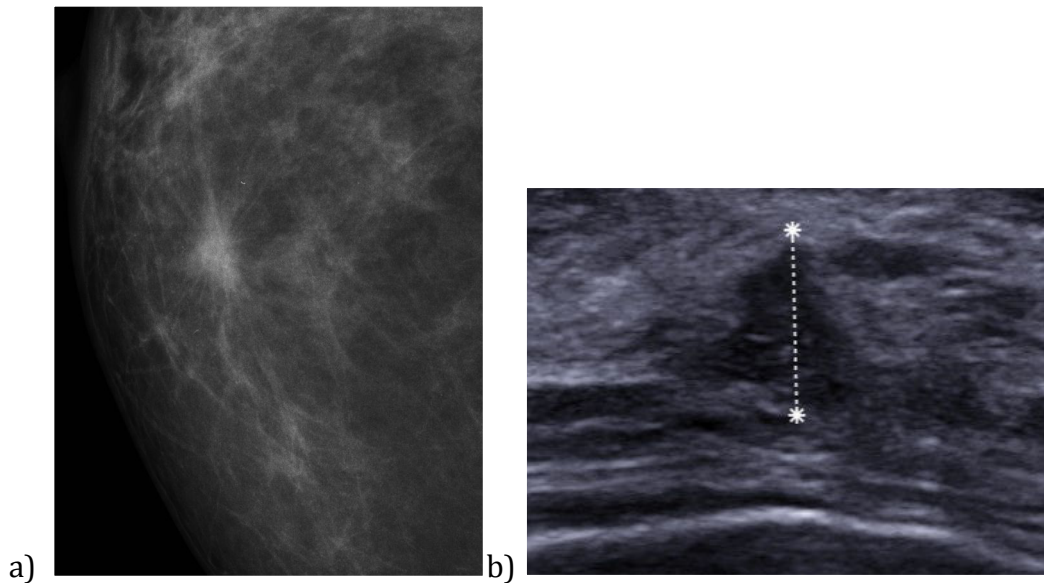
En 2012 en France, 48763 femmes ont déclaré un cancer du sein et 11886 en sont décédées selon les données recueillies par l'INCA. Malgré une nette augmentation de l'incidence dans le monde de 1980 à 2005, la mortalité par cancer du sein est restée stable. On considère que cette diminution du taux de mortalité spécifique du cancer du sein est due en partie à l'amélioration des traitements mais aussi, bien que cela soit parfois débattu, à leur détection plus précoce grâce au dépistage par imagerie. En permettant de détecter des anomalies infracliniques donc de plus petite taille, on estime que l'imagerie entraîne une diminution de la mortalité d'environ 20 à 30% (6,7). L'imagerie joue donc un rôle central dans la prise en charge du cancer du sein. Elle intervient à de nombreuses étapes de la prise en charge des patientes :

- le dépistage ;
- le diagnostic, incluant la caractérisation des anomalies mammaires et la réalisation des biopsies ;
- le bilan pré-opératoire d'un cancer du sein ;
- le repérage pré-opératoire des cancers non palpables ;
- l'évaluation de l'efficacité d'un traitement néo-adjuvant ;
- le suivi des patientes après traitement d'un cancer du sein.

Pour faire face à ces différentes situations, le radiologue a plusieurs techniques d'imagerie à sa disposition. La mammographie est la première des techniques à avoir été utilisée et reste aujourd'hui l'examen de première intention dans la majorité des cas en imagerie mammaire. Elle est l'examen de base pour le dépistage du cancer du sein et

reste la seule technique capable de détecter certaines anomalies comme les microcalcifications. Toutefois, si la sensibilité globale de la mammographie est bonne (70-90%) (8-11), elle est beaucoup plus faible chez les patientes aux seins denses (30-48%) chez qui les cancers peuvent être masqués par la superposition de tissu glandulaire (12,13). Chez ces patientes, l'échographie est proposée afin de détecter des cancers occultes en mammographie (14). L'échographie est aussi indiquée, en première intention ou en complément de la mammographie, pour évaluer le degré de suspicion d'une anomalie. En effet, lorsqu'une anomalie mammaire est détectée à l'imagerie, il faut la caractériser, c'est à dire évaluer le risque qu'il s'agisse d'un cancer. Classiquement, cette évaluation repose sur des critères morphologiques, en fonction desquels les anomalies seront classées dans l'une des cinq catégories du lexique BI-RADS (Breast Imaging - Reporting and Data System) de l'American College of Radiology (catégories ACR 1 à 5) en fonction de son degré de suspicion, c'est à dire de la Valeur Prédictive Positive (VPP) de cancer qui lui est associé (15) (figure 1). Ce degré de risque de cancer en fonction de la classification permet de proposer une prise en charge adaptée.





**Figure 1 :** Image suspecte découverte à la mammographie de dépistage chez une patiente asymptomatique. (a) La mammographie montre une masse dense, irrégulière, spiculée. (b) L'échographie mode B confirme l'existence d'une masse hypoéchogène, irrégulière, mal limitée de grand axe vertical. Selon ses caractéristiques morphologiques, cette image est classée dans la catégorie 5 de la classification BI-RADS (taux de cancer supérieur à 95%). La biopsie a confirmé le diagnostic de cancer (carcinome canalaire infiltrant).

La catégorie 1 correspond à l'absence d'anomalie. Certaines anomalies présentent un aspect morphologique typique, soit de bénignité (classées ACR2, VPP = 0%), soit de malignité (classées ACR5, VPP > 95%). Pour d'autres, très probablement bénignes (classées ACR3, VPP < 2%), une simple surveillance est recommandée. Cependant, les critères morphologiques ne permettent pas de caractériser efficacement toutes les anomalies. Certaines resteront indéterminées (classées ACR 4, VPP entre 2 et 95 %) et nécessiteront une biopsie dont la majorité sera finalement négative (47 à 84% dans la littérature) (16–20). D'autre part, certains cancers, dont les cancers de haut grade - les plus agressifs - peuvent paradoxalement présenter des caractéristiques morphologiques évocatrices de bénignité, comme une forme ovale et/ou des contours bien limités (21) qui peuvent être considérées à tort comme rassurantes. En complément de ces deux techniques, l'IRM, très bon outil de détection grâce à sa grande sensibilité, a peu de place

pour la caractérisation des lésions mammaires en raison de sa faible spécificité et ne permet donc pas de diminuer le nombre de biopsies négatives des anomalies indéterminées en écho/mammographie (22,23).

C'est dans ce contexte que l'élastographie, qui apporte un paramètre supplémentaire, s'est développée en sénologie avec comme premier objectif d'améliorer la caractérisation des lésions mammaires.

# PRINCIPES TECHNIQUES

## 1. Principe de l'élasticité (dureté) des tissus

Notons qu'en élastographie, les termes dureté et élasticité sont synonymes et que nous utiliserons, pour plus de clarté, préférentiellement dans ce manuscrit le mot dureté.

Les caractéristiques mécaniques des tissus dépendent de leur composition moléculaire, de leur organisation tissulaire microscopique et macroscopique et de leur environnement (24). Ainsi certains tissus sont intrinsèquement plus « durs » que d'autres. De même, les modifications pathologiques des tissus, associées à des changements de leur structure micro et macroscopiques, vont entraîner des changements de dureté.

Hippocrate avait ainsi déjà observé en 400 avant JC que les lésions « *douloureuses, dures et grandes indiquaient un danger de mort rapide, mais celles qui étaient molles, indolores et cédaient sous la pression des doigts évoluaient de façon plus chronique.* ». Sur le plan des phénomènes physiques, la palpation manuelle d'un tissu en pratique clinique correspond à une « évaluation qualitative à basse fréquence de la dureté des tissus ». La pression appliquée par la main de l'examineur (stress) va entraîner une déformation du tissu (strain) dépendante de la dureté du tissu. La modélisation mathématique de ces propriétés mécaniques des tissus biologiques est complexe. Toutefois, elle peut être simplifiée si certaines hypothèses sont satisfaites. La première hypothèse repose sur le fait que les tissus ont une organisation structurale hiérarchique et qu'en choisissant l'échelle de taille de l'échantillon de tissu étudié, on peut considérer que le tissu biologique exploré se comporte comme un matériel isotrope. La réponse mécanique à

un stress peut alors être décrite par seulement deux constantes: le module d'Young et le rapport de Poisson (25,26). Le module d'Young ou module d'élasticité (ou de dureté), peut être évalué selon l'équation suivante :

$$E = S/\sigma$$

*où E est le module d'Young, S est la compression externe et  $\sigma$  la déformation du tissu due à la compression.*

Notons cependant que certains tissus tel que le muscle sont anisotropiques, ce qui rend plus complexe la modélisation de leur propriétés mécaniques (27).

La deuxième hypothèse concerne la linéarité de la réponse des tissus. Il a effectivement été observé que la relation entre le stress appliqué et la déformation qui en résulte n'était pas linéaire. Cependant, Fung a formulé la théorie de la visco-élasticité linéaire, selon laquelle pour des oscillations de faible amplitude autour d'un point d'équilibre, on peut considérer que la relation contrainte/déformation est linéaire (24). Les différentes techniques d'élastographie utilisées en clinique actuellement reposent sur ces deux hypothèses: que les tissus se comportent de manière isotrope et que les conditions d'application de la linéarité des tissus sont satisfaites.

## **2. Les différentes approches d'élastographie**

Au cours des dernières années, plusieurs techniques basées sur les ultrasons (28,29) et l'IRM (30) ont été développées par différentes équipes de recherche pour évaluer la réponse mécanique des tissus à une force externe. Toutes les approches proposées

repose sur une méthode à 3 phases : (a) un tissu est soumis à une pression mécanique qu'elle soit interne ou externe, (b) le déplacement du tissu en réponse à cette force est évalué en imagerie (échographie ou IRM) et (c) les propriétés élastiques du tissu sont estimées quantitativement ou qualitativement à partir du déplacement mesuré de ce tissu (31). Différentes techniques d'élastographie ont ainsi été développées en fonction des modalités d'imagerie, utilisant divers modes de stimulation et générant différents paramètres de déplacement des tissus. On peut distinguer deux types d'approches : l'élastographie statique (ou quasi-statique) et l'élastographie dynamique qui fait intervenir les ondes de cisaillements. Historiquement, l'élastographie statique, qui repose sur l'évaluation de la déformation des tissus sous l'effet d'une compression manuelle, a été développée en premier, suivie quelques années plus tard par l'élastographie par onde de cisaillement.

Nous nous limiterons dans cet exposé aux techniques d'élastographie par échographie.

#### a. Elastographie statique

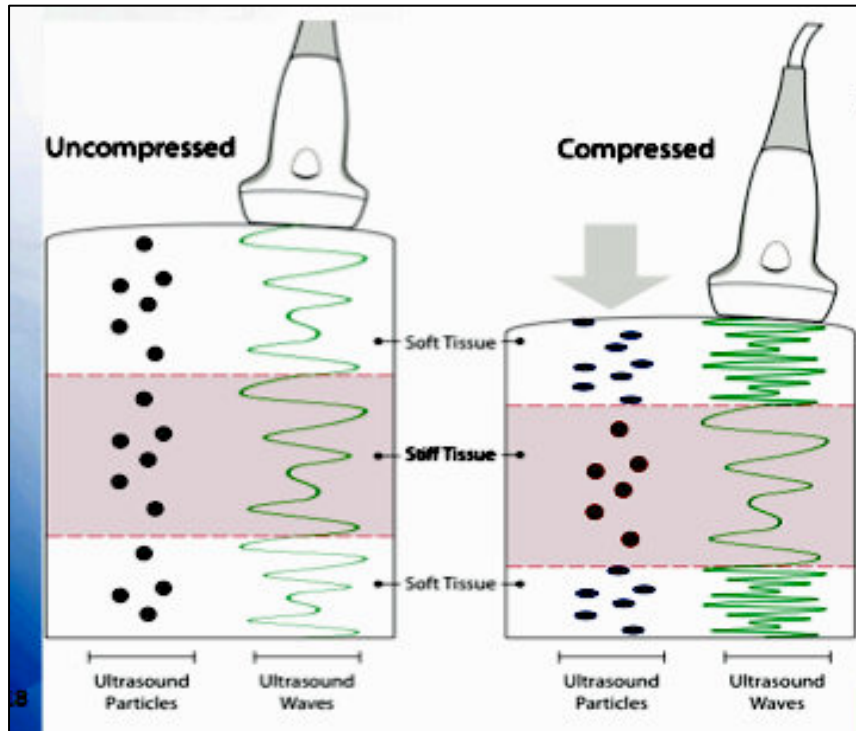
Il s'agit d'une méthode d'élastographie échographique permettant l'évaluation relative de la dureté des tissus à partir d'une image semi-quantitative. Une compression est appliquée sur le tissu par un opérateur et la dureté est évaluée à partir de la déformation qui en résulte. Elle est basée sur les hypothèses suivantes : la compression appliquée peut être considérée comme statique (la compression est considérée comme constante pendant la durée de l'acquisition); et la déformation du tissu est très faible. L'équation est ainsi considérée comme linéaire. Lorsqu'un milieu élastique est comprimé par une force uni-axiale constante, cela entraîne un certain degré de déformation longitudinale de tous les points du milieu, principalement selon l'axe de la

compression. Si un élément a des paramètres de dureté différents des autres, le degré de déformation sera plus ou moins élevé. Ainsi, un tissu dur sera moins déformé qu'un tissu moins dur (figure 2). La déformation obtenue est estimée à partir de l'analyse du signal ultrasonore. Ceci est effectué par l'acquisition de deux images échographiques du tissu d'intérêt : l'une sans compression, et l'autre après compression du tissu par l'application d'une faible pression avec la sonde. La déformation axiale locale peut être estimée par l'équation :

$$e = (t_{1b} - t_{1a}) - (t_{2b} - t_{2a}) / t_{1b} - t_{1a}$$

où  $t_{1a}$  est le temps d'arrivée de l'écho pré compression de la zone proximale,  $t_{1b}$  est le temps d'arrivée de l'écho pré compression de la zone distale,  $t_{2a}$  est le temps d'arrivée de l'écho post compression de la zone proximale et  $t_{2b}$  est le temps d'arrivée de l'écho post compression de la zone distale.

Le sein est un organe de choix pour cette technique parce qu'il est facilement accessible à la compression avec une sonde d'échographie. Une limitation importante est que cette technique ne fournit pas de mesure quantitative absolue de la dureté locale. En effet le lien entre la déformation et la dureté du tissu dépend fortement du stress appliqué, lui-même dépendant de l'opérateur.



**Figure 2:** Principe technique de l'élastographie statique. Soumis à une compression manuelle, la déformation des tissus est liée à leur dureté. Un « élastogramme » est généré en mesurant le déplacement relatif des tissus, fournissant des résultats semi-quantitatifs. Courtoisie : SuperSonic Imagine® (SSI).

## b. Elastographie par ondes de cisaillement

L'élastographie dynamique est basée sur la génération dans le milieu d'ondes de cisaillement. Dans les milieux biologiques, quasi incompressibles, la vitesse des ondes de cisaillement (typiquement 1 à 10 mètres par seconde) est proportionnelle au module d'Young d'après l'équation :

$$E = 3\rho C_s^2$$

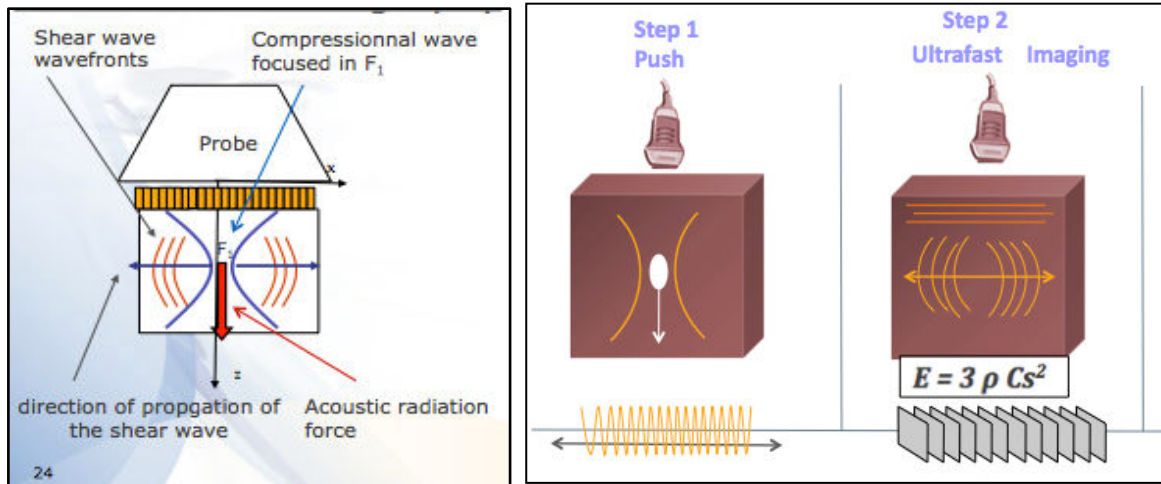
où  $E$  est le module d'Young,  $\rho$  la densité du milieu et  $C_s$  la vitesse des ondes de cisaillement.

En élastographie dynamique, que ce soit en échographie ou en IRM, les ondes de cisaillement sont générées directement dans le tissu à l'aide d'un vibreur basse fréquence externe, positionné au contact de la peau. L'avantage de l'élastographie dynamique est de permettre une évaluation quantitative et de fournir des cartes d'élasticité avec une meilleure résolution que l'élastographie statique (32). Cependant l'utilisation des ondes de cisaillements requiert un système plus complexe capable de générer et de mesurer les petits déplacements liés aux ondes de cisaillement. En outre, l'élastographie dynamique souffre de la présence dans le milieu à la fois d'ondes de compression et d'ondes de cisaillement, ce qui peut diminuer la qualité des mesures. La technique est aussi très sensible aux effets de bords, car les ondes sont réfléchies par les interfaces. Finalement, la nécessité d'un vibreur externe rend cette approche difficilement utilisable en pratique clinique courante.

Plus récemment, des systèmes basés sur la « force de radiation ultrasonore » correspondant à une onde de compression générée directement par le système dans le



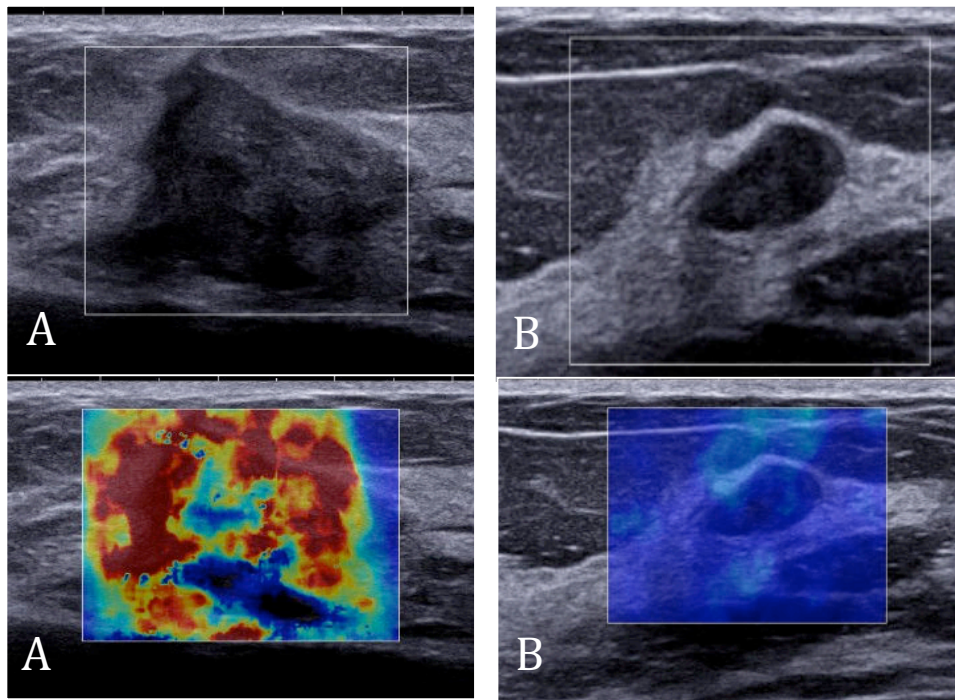
milieu ont été développés (33). Cette technique appelée « transient elastography » ou « élastographie impulsionnelle », permet la génération d'ondes de cisaillement au sein des tissus en focalisant une onde ultrasonore pendant presque 100ms. Au point de focalisation, une « force de radiation ultrasonore » est créée qui vient « pousser » les tissus localement. Ceci génère des ondes de cisaillement qui se propagent perpendiculairement au plan de la sonde. En mesurant la vitesse de déplacement de l'onde de cisaillement, la dureté du tissu peut être estimée quantitativement. Deux types de systèmes d'élastographie sont basés sur ce principe. Dans le système ARFI, développé par Siemens®, la vitesse des ondes de cisaillement est évaluée à partir du temps d'arrivée de l'onde en différents points situés à distance du point de génération de l'onde. Le système Aixplorer®, développé par Supersonic Imagine, permet de suivre en temps réel le déplacement de l'onde de cisaillement grâce à une imagerie « ultra-rapide » (offrant une cadence pouvant aller jusqu'à 20,000 images par seconde). En imagerie ultra-rapide, une image est générée à partir d'une onde plane unique alors que les échographes traditionnels créent une image ultrasonore à partir d'un grand nombre d'ondes (en général au moins 128) générées successivement, chacune par un des cristaux piézo-électriques de la sonde. Cette approche « supersonique », permet l'application d'une vibration mécanique interne et l'imagerie « ultra rapide » des ondes de cisaillements qui en résultent à partir d'une même sonde d'échographie, fournissant des mesures quantitatives de la dureté des tissus (figure 3). L'ensemble du processus étant effectué automatiquement par le système, la compression manuelle n'est théoriquement pas nécessaire et la technique serait alors indépendante de l'expérience de l'opérateur.



**Figure 3** : Elastographie par onde de cisaillement. La sonde d'échographie génère une onde de compression «acoustic radiation force». Le déplacement des tissus produit une onde de cisaillement, perpendiculaire à l'onde de compression, dont la vitesse est proportionnelle à la dureté du tissu selon l'équation  $E = 3\rho Cs^2$ , où  $E$  est le module d'Young,  $\rho$  la densité du milieu et  $Cs$  la vitesse des ondes de cisaillement. Courtoisie SSI.

### c. Représentation des images d'élastographie

La dureté du tissu est affichée le plus souvent selon une carte paramétrique où la dureté est représentée pixel par pixel selon une échelle de gris, ou pour les techniques les plus récentes selon une échelle colorimétrique. Chez les constructeurs asiatiques, pour qui le rouge est synonyme de félicité, la dureté maximale plus suspecte est affichée en bleu alors que chez les occidentaux, elle est représentée en rouge (figure 4).



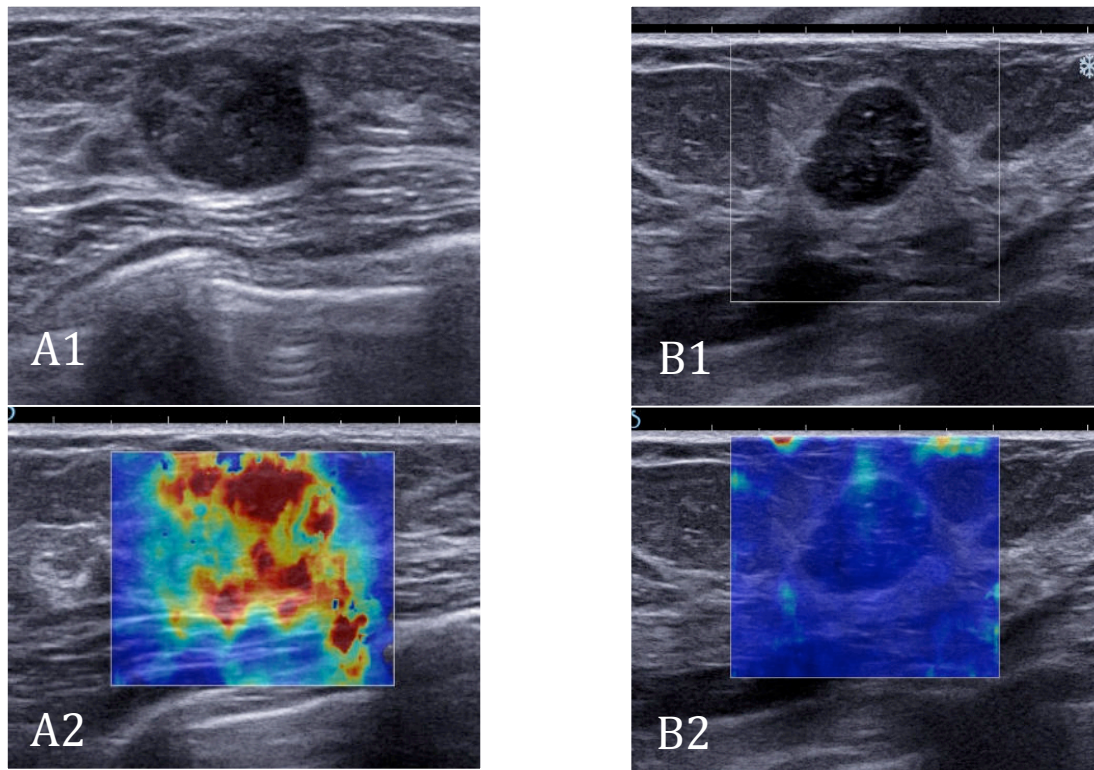
**Figure 4 :** Aspects typiques d'un cancer (a) et d'une tumeur bénigne (b) en échographie mode B (1) et en élastographie par onde de cisaillement (2). Le cancer (carcinome canalaire infiltrant) présente des caractéristiques morphologiques suspectes (forme irrégulière, contours mal limités) et un aspect dur (rouge) et hétérogène en élastographie. La tumeur bénigne (fibroadénome) est de forme ovale avec des contours bien limités et un aspect mou (bleu) et homogène en élastographie.

# APPLICATIONS ET PERFORMANCES CLINIQUES

## 1. Application validée : la caractérisation des lésions mammaires

Comme nous l'avons souligné ci-dessus, un paramètre supplémentaire serait utile pour améliorer la caractérisation des lésions mammaires classées comme indéterminées selon les critères morphologiques et diminuer le nombre de biopsies « inutiles ». Le paramètre de « dureté » de la lésion est utilisé au quotidien lors de l'examen clinique. Lors de la découverte d'une masse mammaire à la palpation, l'examineur estime son degré de suspicion en fonction de plusieurs critères, dont la mobilité, les limites et la dureté. En effet, les lésions malignes sont typiquement plus dures que les tumeurs bénignes. Cependant, cette évaluation clinique de la dureté reste subjective, et de plus n'est pas évaluable par définition pour les masses non palpables. C'est dans ce contexte que les chercheurs et les industriels ont développé des techniques d'élastographie permettant d'évaluer à distance en imagerie, en échographie et en IRM, la dureté (ou élasticité) des tissus.

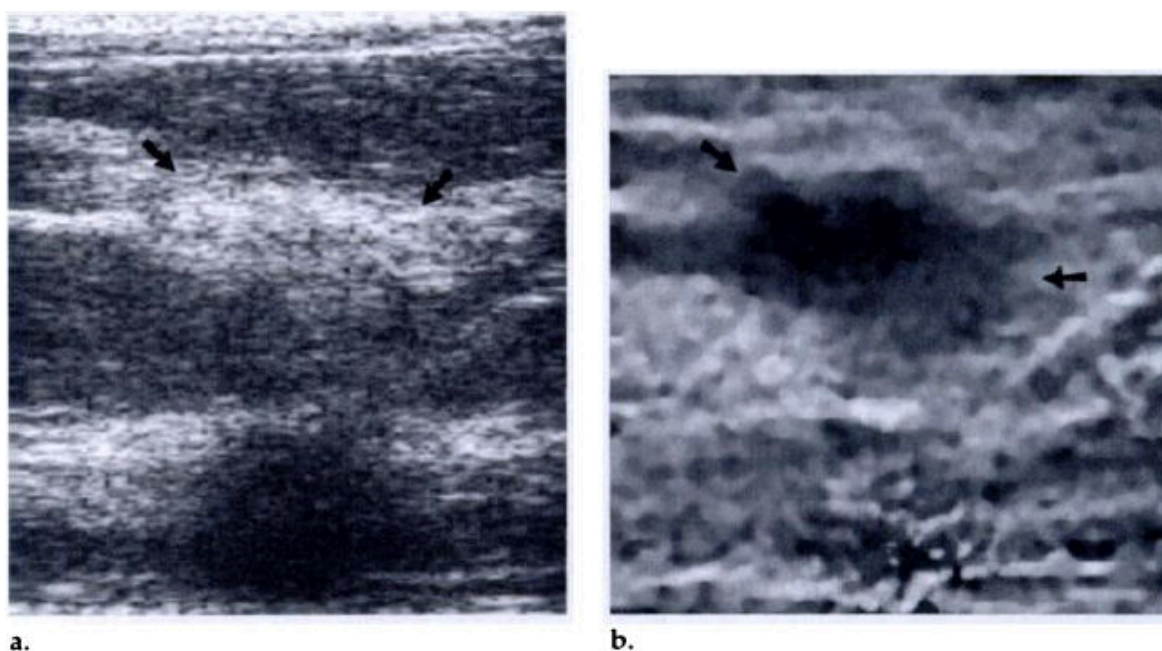
En apportant un paramètre supplémentaire, l'élastographie pourrait donc améliorer la caractérisation des images dont les caractéristiques morphologiques sont indéterminées avec pour objectif de ne pas « rater » des cancers atypiques (améliorer la sensibilité et la VPP), tout en diminuant le nombre de biopsies inutiles (améliorer la spécificité et la VPN) (Figure 5).



**Figure 5 :** Carcinome canalaire infiltrant de haut grade (A) et fibroadénome bénin (B). Les deux tumeurs ont des caractéristiques morphologiques proches en échographie mode B (A1 et B1) : forme ovale, contours circonscrits, microlobulés par endroit, soit une catégorie ACR 4 pour les deux lésions. Elles sont très bien différenciées en élastographie shear wave, par contre, est très différent : aspect dur (rouge) et hétérogène pour la lésion cancéreuse (A2) et mou (bleu) et homogène pour la lésion bénigne (B2).

#### a. Performances de l'élastographie statique

En 1997, Garra et al. ont étudié l'aspect en élastographie statique de 46 lésions mammaires (34) et ont observé que l'élastogramme, affiché en échelle de gris, apparaissait hypoéchogène pour les cancers et hyperechogène pour les lésions bénignes. Ils ont également observé que la « taille élastographique » des lésions malignes était supérieure à leur taille échographique, ce qui n'était pas le cas des tumeurs bénignes (figure 6).

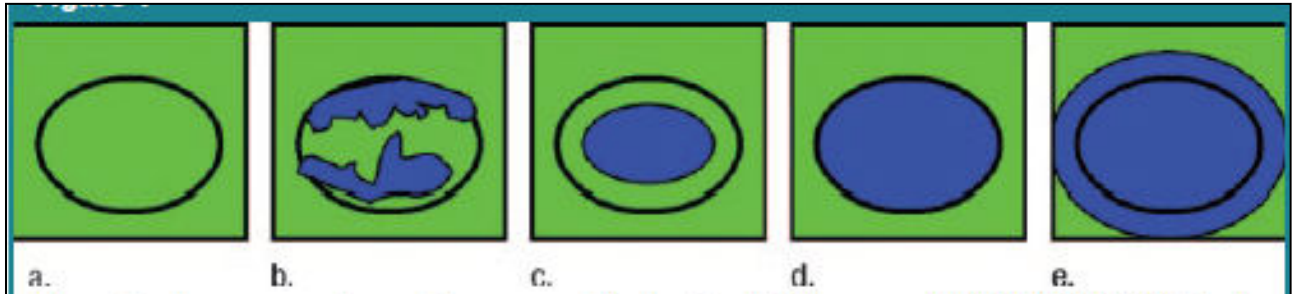


**Figure 6 :** Image d'élastographie statique montrant un carcinome canalaire infiltrant. (a) le sonogramme (échographie mode B) montre une région hyperéchogène (flèches) avec un cône d'ombre postérieur (b) L'élastogramme montre une masse irrégulière dure (sombre) (35).

Alors que Garra et al. avaient utilisé un bras motorisé pour tenir la sonde, ce qui est difficilement utilisable en pratique clinique courante, Hiltawsky et al. ont testé l'apport de l'élastographie statique avec une technique « main-libre », c'est à dire que la sonde d'échographie comprimant les tissus était tenue par la main de l'opérateur (36). Cependant, comme l'image d'élastographie n'était pas obtenue en temps réel (calculateur hors-ligne), les performances obtenues étaient médiocres. Le retour visuel en temps réel semble en effet essentiel pour obtenir une image d'élastographie de bonne qualité (37).

En 2006, Itoh et al ont évalué les performances d'une technique d'élastographie statique en temps réel, à partir de l'analyse d'une carte couleur, représentant pixel par pixel le degré relatif de dureté des tissus (38). En se basant sur un score à 5 niveaux (figure 7), qui sera ensuite repris dans de nombreuses publications, les auteurs de ce travail ont montré que la sensibilité de l'élastographie était un peu supérieure à celle de

l'échographie mode B, avec une différence significative de spécificité et de précision diagnostique: sensibilité 86,5%, spécificité 89,8% et précision diagnostique 88,3%).



**Figure 7:** Aspect des lésions mammaires selon le score de Itoh de degré de suspicion croissante. (a) score 1, correspondant à une déformation homogène de l'ensemble de la lésion (aspect vert homogène de la cartographie); (b) score 2, correspondant à une déformation homogène de la majorité de la lésion avec quelques zones non déformées (cartographie verte avec quelques zones de bleu); (c) score 3, indiquant une déformation périphérique épargnant le centre de la lésion (vert à la périphérie de la lésion et bleu au centre); (d) score 4, indiquant une absence de déformation de l'ensemble de la lésion mais épargnant la zone péri-tumorale (bleu sur l'ensemble de la lésion mais ne s'étendant pas en péri-tumoral) et (e) score 5, indiquant une absence de déformation de la lésion et de l'espace péri-tumoral (bleu homogène dépassant de la lésion). Le cercle noir indique les limites en mode B de la lésion hypoéchogène (c'est à dire la limite entre la lésion et le tissu mammaire environnant) (39).

Plusieurs autres études cliniques ont ensuite confirmé les bonnes performances de l'élastographie statique pour la différenciation des lésions mammaires bénignes et malignes (40–45). Park a montré en 2014 que la concordance inter-observateur du score de Itoh, bien que moyenne (Kappa = 0,59) était meilleure que pour les critères morphologiques du score BI-RADS (46). Pourtant, afin d'obtenir une technique plus reproductible et moins dépendante de l'opérateur, certains auteurs ont suggéré d'utiliser une approche semi-quantitative basée sur le calcul du ratio entre l'index de dureté de la lésion et celui du tissu mammaire environnant (47–50). La supériorité de l'une ou l'autre de ces deux stratégies - qualitative ou semi-quantitative - n'a finalement été montré dans la littérature (51–54). Quoiqu'il en soit, les performances de l'élastographie statique seule, bien que bonnes, ne sont pas clairement meilleures que

celles de l'échographie mode B seule (55,56). C'est pourquoi les auteurs ont proposé de combiner les deux techniques en intégrant les résultats de l'élastographie au score BI-RADS pour aider à analyser les lésions indéterminées (BI-RADS 3 et 4) afin d'améliorer la spécificité (57–62) de l'échographie, en particulier pour les images de petite taille (<2cm) (44,63,64).

#### b. Performances de l'élastographie par ondes de cisaillement (élastographie shear wave – ESW)

En 2003, Bercoff et al. ont étudié la visibilité de masses mammaires, majoritairement des adénocarcinomes, chez 11 patientes à l'aide d'une technique d'élastographie dynamique (65). Des ondes de cisaillement étaient générées à l'aide d'un vibreur mécanique vibrant à 60Hz, relié à une sonde linéaire. Six lésions apparaissaient comme dures, montrant la faisabilité de cette technique. Toutefois, l'utilisation large de cette technique en clinique était limitée par la nécessité d'utiliser un vibreur mécanique externe. Tanter et al. ont eux évalué un nouveau système (qui allait donner naissance à l'appareil Aixplorer®), sur 15 lésions mammaires (11 bénignes et 4 malignes) (31), montrant des différences significatives de dureté entre lésions bénignes et malignes. Ces résultats ont ensuite été confirmés par Athanasiou et al. (66). En choisissant un seuil de 50 kPa, Evans et al. ont montré de bonnes performances de cette technique pour la caractérisation de 53 lésions mammaires (sensibilité 97%, spécificité 83%, VPP 88%, VPN 95% et précision diagnostique 91%), ce qui n'était toutefois pas significativement différent des performances de l'échographie mode B (67). Dans une méta-analyse, Chen et al. ont observé une sensibilité de 93% et une spécificité de 81% pour l'ESW (68). Alors que les premières études cliniques sur l'ESW se sont basées sur des seuils



quantitatifs en kPa, plusieurs auteurs se sont ensuite intéressés aux performances de l'analyse qualitative de la carte couleur d'élastographie en se basant notamment sur un score à 4 niveaux proposé par Tozaki et al. (69) avec de bonnes performances également (70–73). Yoon et al. ont, eux, montré une bonne corrélation entre analyses qualitative et quantitative (74).

Comme pour l'élastographie statique, les performances de l'ESW seule ne sont pas supérieures à celles de l'échographie mode B et de meilleurs résultats pourraient être obtenus en associant les deux approches (75). L'apport de l'association de l'élastographie shear wave à l'aspect morphologique en échographie mode B a été évalué dans l'étude multicentrique internationale BE1 (Breast Elastography 1) incluant plus de 900 masses mammaires (3). Dans cette étude, Berg et al. ont évalué plusieurs algorithmes décisionnels basés sur différentes méthodes d'évaluation de la dureté - quantitatives avec mesures de la dureté maximale (E<sub>max</sub>) ou de la dureté moyenne (E<sub>mean</sub>), mais aussi qualitative en fonction de l'aspect visuel de l'image - et sur différentes stratégies de modifications de la classification BI-RADS en fonction des résultats d'ESW. A partir de l'analyse qualitative de la cartographie couleur, et en choisissant une stratégie selon laquelle les images ACR3 « dures » en élastographie étaient reclassés ACR4a et les images ACR4a « molles » reclassées ACR3, cette étude a montré une augmentation de la spécificité de 61,1% pour l'échographie mode B seule à 78,5% pour l'approche combinée, sans modification significative de la sensibilité qui passait respectivement de 97,2% à 98,6%. Des résultats similaires étaient obtenus en choisissant une approche quantitative basée sur la valeur de E<sub>max</sub> avec un seuil de 80kPa. En se basant sur la valeur moyenne d'élasticité dans une région d'intérêt de 2mm positionnée sur la zone la plus dure de l'image, qu'elle soit intra- ou péri-lésionnelle, et avec un seuil diagnostique de 50 kPa, Evans et al. ont montré une sensibilité (100%) et

une valeur prédictive négative (100%) de la combinaison de l'ESW et échographie mode B chez 175 patientes, supérieure à chacune de ces techniques prises séparément (76). En revanche, la spécificité de la combinaison n'était pas meilleure dans cette étude. L'ESW serait donc indiquée en complément du mode B et aurait un intérêt pour les images indéterminées, en particulier pour les lésions de catégorie BI-RADS 4. En ajoutant le critère de dureté à l'analyse de lésions classées ACR4a (<10% de cancer) et ACR4b (10 à 50% de cancer environ selon la classification BI-RADS), Youk et al. ont montré que l'ESW permettait de mieux stratifier cette catégorie 4 en individualisant un groupe de lésions très peu suspectes et un groupe de lésion à risque plus important (71). L'apport de l'ESW a aussi été montré pour un sous-groupe d'images échographiques, les « non-masses » - correspondant à des plages hypoéchogènes sans réelle masse individualisable - le plus souvent classées ACR4 (77). En choisissant de reclasser ACR3 les lésions non masses ACR4a si leur aspect était bénin en élastographie, la spécificité de l'imagerie peut être améliorée de 17 à 62% sans perte de sensibilité (91,7%) (78).

L'ensemble de ces résultats confirment qu'en changeant le degré de suspicion d'une image échographique, l'ESW peut modifier les stratégies de prise en charge et permettrait de diminuer le nombre de biopsies inutile sans « rater » plus de cancers (79-81).

En ce qui concerne la technique ARFI, plusieurs études ont montré son intérêt et ses bonnes performances pour la caractérisation des lésions mammaires, que ce soit à partir d'une analyse quantitative (82-85) ou qualitative (86). Comme pour les autres méthodes d'élastographie, la technique ARFI affiche de meilleures performances lorsqu'elle est utilisée en complément de l'analyse morphologique en mode B pour les images non typiques et en particulier les lésions ACR4 (87,88).

Les performances de l'élastographie sont cependant variables en fonction de plusieurs facteurs : type de cancer, type de sein et localisation des lésions. Les cancers de petites tailles, de bas grade, détectés au cours d'un dépistage systématique d'une part, et les carcinomes intra-canalaire d'autre part, seraient ainsi plus souvent responsables de résultats faussement négatifs (89). Il en est de même pour les lésions profondes ou dans des seins volumineux (90). La profondeur, l'épaisseur du sein, la faible qualité de l'image et une grande taille lésionnelle seraient pour leur part, plus souvent pourvoyeurs de faux positifs (90).

## 2. Applications cliniques potentielles

Plusieurs autres applications potentielles de l'élastographie en sénologie ont été rapportées dans la littérature, mais leur niveau de preuve reste faible.

### a. Echographie de « second look » : caractérisation des lésions et guidage des biopsies.

L'échographie est parfois réalisée de façon ciblée à la suite d'une autre technique d'imagerie pour tenter de détecter a posteriori une image suspecte. Ces échographies de « second look » ont pour but d'apporter des critères supplémentaires pour la caractérisation de ces images et de les prélever si possible sous guidage échographique. Etant donné qu'elles n'ont en général pas été détectées lors d'une première échographie « non ciblée », il s'agit souvent d'images subtiles donc difficiles à caractériser. Comme nous l'avons vu, l'évaluation en élastographie de la dureté de ces images subtiles peut

améliorer leur caractérisation et donc améliorer la rentabilité des prélèvements en sélectionnant mieux les lésions nécessitant un prélèvement. Le ciblage des biopsies de ces images peut aussi s'avérer compliqué car elles sont souvent de petite taille et mal visibles. Comme nous l'avons vu, l'évaluation en élastographie de la dureté de ces images subtile peut améliorer leur caractérisation et donc améliorer la rentabilité des prélèvements. Grâce à une image dynamique en temps réel, l'ESW pourrait aussi aider au ciblage lors de la réalisation des biopsies en mettant mieux en évidence les anomalies.

L'apport de l'ESW en « second look » de l'IRM a bien été montré par Plecha et al. (91). Dans leur article, incluant 96 lésions ACR 4 ou 5 détectées en IRM, l'ESW améliorait la détection ou le ciblage de 23% des cancers vu en échographie de « second look ». L'apport de l'élastographie a aussi été suggéré pour la caractérisation de foyers de microcalcifications découverts en mammographie (92). Dans une étude comprenant 77 foyers de calcifications suspects détectés en mammographie, les auteurs ont montré que la dureté évaluée par un score de déformation en élastographie statique était différente entre foyers de microcalcifications bénins et malins. Si l'expérience clinique pratique va dans le sens de ces résultats, d'autres données sont toutefois nécessaires pour confirmer l'intérêt de l'élastographie en échographie de « second look ».

#### b. Envahissement ganglionnaire axillaire des cancers du sein

L'évaluation du statut ganglionnaire axillaire des cancers du sein, c'est à dire l'existence ou non de métastases ganglionnaires au moment du diagnostic, est cruciale pour en déterminer la prise en charge. Classiquement, l'extension ganglionnaire axillaire est déterminée au cours de la chirurgie grâce à la technique du ganglion sentinelle. Cette

technique permet, grâce à l'injection dans le sein d'un traceur radioactif (technétium <sup>99m</sup>) et d'un colorant bleu, de détecter le premier relai de la chaîne ganglionnaire. Si celui-ci est indemne de tout envahissement tumoral à l'analyse histologique, le risque d'envahissement des autres ganglions est très faible et ceux-ci ne seront pas retirés, évitant ainsi les complications liées au curage. En revanche, si le ganglion sentinelle est envahi, il y a une indication à effectuer un curage ganglionnaire. Lors du bilan initial d'un cancer du sein, il est recommandé d'effectuer systématiquement une exploration du creux axillaire en échographie, afin de détecter d'éventuels ganglions présentant des caractéristiques morphologiques suspectes (épaississement cortical focal ou de plus de 3mm, disparition du hile graisseux...). La détection de tels ganglions permet, en effectuant un prélèvement ciblé sous contrôle échographique, de faire le diagnostic en pré-opératoire d'envahissement ganglionnaire et donc d'effectuer un curage d'emblée. Toutefois les critères morphologiques en échographie sont peu performants pour différencier les ganglions sains de ceux qui sont atteints. Certains auteurs ont donc étudié l'apport de l'élastographie pour l'évaluation du statut ganglionnaire axillaire des cancers du sein. Concernant l'élastographie statique, les résultats des quelques études publiées sur le sujet sont contradictoires, certaines montrant un bénéfice de l'élastographie (93,94), tandis qu'une autre n'observe pas d'amélioration des performances par rapport à l'échographie mode B (95). Une seule étude a été publiée concernant l'ESW, suggérant un intérêt potentiel de cette technique pour l'évaluation du creux axillaire (96). Toutefois, il y a à l'heure actuelle trop peu de données dans la littérature pour pouvoir conclure sur le rôle de l'élastographie pour l'évaluation de l'extension ganglionnaire axillaire en pré-thérapeutique d'un cancer du sein

### c. La dureté comme facteur pronostique des cancers du sein

L'agressivité des cancers du sein dépend de leur profil génétique. Les cancers les plus agressifs auront un risque de récurrence plus élevé, un taux de métastases au moment du diagnostic plus important et une plus forte mortalité. Le profil d'agressivité est un élément crucial pour poser l'indication d'une chimiothérapie adjuvante, qui sera administrée en complément du traitement chirurgical pour diminuer le risque de récurrence des cancers agressifs. Le séquençage génique des tumeurs est coûteux et difficile à effectuer en pratique courante. On évalue donc en pratique le pronostic des cancers du sein à partir de l'expression phénotypique des gènes. L'expression ou non des récepteurs hormonaux en immunohistochimie est ainsi considérée comme un biomarqueur pronostique des cancers du sein. Les cancers n'exprimant ni les récepteurs aux œstrogènes, ni les récepteurs à la progestérone, ni Her2 (une protéine membranaire), appelés cancers triples négatifs ont par exemple tendance à être plus agressifs et devront bénéficier d'une chimiothérapie adjuvante. L'imagerie est elle aussi une expression phénotypique et la génomique sous-jacente des cancers (97). En reflétant la dureté, liée à la nature et à l'organisation microscopique des tumeurs, l'élastographie fait partie des techniques d'imagerie fonctionnelle et certains auteurs suggèrent qu'elle pourrait aussi jouer un rôle pour l'évaluation pronostique non invasive des cancers du sein. Grajo et Barr ont observé en élastographie statique que le ratio taille en élastographie/taille en mode B était corrélée au type histologique et au grade de cancer du sein (98). Plusieurs autres auteurs ont montré en élastographie shear wave que les cancers de plus mauvais pronostic étaient les plus durs (99-101). La dureté en élastographie a aussi été associée au risque d'envahissement ganglionnaire des cancers du sein au moment du diagnostic (102). Toutefois, dans une étude récente, Ganau et al.

n'ont quant à eux pas montré de différences de dureté entre les différents sous types de cancers invasifs (103).

#### d. Elastographie et réponse à la chimiothérapie

L'élastographie a aussi été proposée pour l'évaluation précoce de la réponse tumorale à la chimiothérapie. Dans le cas de cancers localement avancés, une chimiothérapie néo-adjuvante est le traitement de référence pour faire diminuer la taille de la tumeur et permettre une chirurgie conservatrice (104). Cependant, la réponse à la chimiothérapie est variable et son évaluation précoce est cruciale pour éviter de poursuivre un traitement lourd peu efficace et pour proposer une prise en charge adaptée le plus précocement possible. La diminution de la taille tumorale, à l'examen clinique et à l'imagerie, qui est la référence pour l'évaluation de la réponse au traitement, peut être retardée (105). Cependant, il est probable des modifications biologiques microscopiques précèdent les changements anatomiques macroscopiques (106). Ainsi, l'imagerie fonctionnelle pourrait apporter de nouveaux critères pour l'évaluation précoce de la réponse au traitement (107,108). La dureté pourrait être un paramètre intéressant pour l'évaluation des tissus traités, puisque la réponse au traitement entraîne une mort cellulaire et donc des modifications des propriétés bio-mécaniques des tumeurs. Deux études, l'une pour l'élastographie statique, l'autre pour l'ESW, ont suggéré que la dureté initiale des tumeurs pourrait être un facteur prédictif de la réponse au traitement (109,110). Quelques études ont étudié les modifications en élastographie pour l'évaluation précoce de la réponse à la chimiothérapie dans le cancer du pancréas (111) et du rectum (112), mais une seule s'est intéressée au traitement néo-adjuvant du cancer du sein (113). Dans cette étude, Falou et al. ont suggéré que l'élastographie

statique aurait le potentiel d'être un bon marqueur précoce de la réponse à la chimiothérapie des cancers du sein. Si ces résultats sont encourageants, d'autres études sont nécessaires pour confirmer l'intérêt et la place de l'élastographie pour l'évaluation de la réponse en pratique clinique.

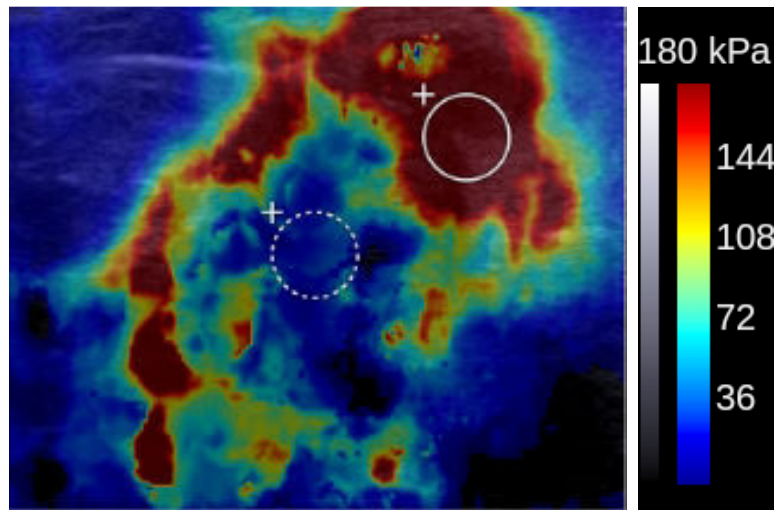


# LIMITES ET NECESSITE DE VALIDATION TECHNIQUE DE L'ESW

Comme nous l'avons mentionné précédemment, la validation d'une nouvelle technique diagnostique est un processus long et complexe. Parmi les premières étapes de ce processus, il y a 1) la validation pré-clinique sur modèle biologique contrôlé, qui permet d'étudier et de comprendre les phénomènes biologiques qui sous-tendent l'image de dureté et 2) la validation technique dans les conditions cliniques permettant d'étudier les artéfacts, les limites et la variabilité lors de l'utilisation chez des patients. Le rôle de ces deux premières étapes est de définir les conditions d'utilisation et d'établir les limites des champs d'applications dans lesquelles la technique pourra être considérée comme valide et le ou les paramètres quantitatifs qu'elle fournit, fiables.

Cependant, en raison du réel bénéfice clinique qu'elles apportent, certaines techniques passent dans la pratique courante sans que ce processus de validation ne soit complètement formalisé. Il en est ainsi par exemple de la séquence de diffusion en IRM, aujourd'hui largement utilisée en imagerie neurologique et cancérologique malgré la compréhension imparfaite des phénomènes biologiques sous-tendant l'image et la grande variabilité des mesures quantitatives du coefficient de diffusion. L'élastographie shear wave fait aussi partie de ces techniques qui sont passées très rapidement du laboratoire à la pratique sans passer par ces étapes de validation fondamentale. Or, les théories de déplacement et d'enregistrement des ondes établies en laboratoire ne sont probablement pas vérifiées dans le contexte clinique, ce qui peut expliquer pourquoi certaines images d'ESW obtenues en pratique peuvent paraître surprenantes ou inattendues. Par exemple, on observe pour certains cancers une image de dureté

périphérique associée à une zone apparemment molle ou à un vide de signal au centre de l'image (figure 8). Il a été initialement suggéré que cette image traduisait une zone de nécrose centrale, mais les études anatomo-pathologiques montrent que la nécrose centrale est rare dans les cancers du sein (114). Lee et al. ont bien montré que cette zone était en fait associée dans la majorité des cas à des zones de fibrose riches en collagène dures (115). L'image serait donc en fait la résultante de phénomènes physiques artéfactuels liés à la fois à la nature des lésions et à leur environnement anatomique (116). Comme certains artéfacts en échographie (par exemple, le « speckling ») ou en IRM (par exemple, le déplacement chimique), on peut imaginer que ces « artéfacts » pourraient avoir une utilité diagnostique. Zhou et al. ont ainsi montré que le « stiff ring » sign, correspondant à l'association d'une zone dure périphérique (rouge) et d'un centre noir ou bleu foncé, était très évocateur de cancer (117). Ces artéfacts doivent par contre être pris en compte pour toute analyse quantitative de l'image, dont la valeur du paramètre mesuré ne sera plus alors le reflet des seules caractéristiques biologiques et histologiques des tissus mais aussi de contingences techniques. Sans une bonne connaissance des limites des mesures de dureté effectuées, des résultats aberrants peuvent être obtenus. Ainsi, il a été rapporté dans une étude que les carcinomes mucineux étaient plus durs que les lobulaires, eux-mêmes plus durs que les canaux, allant à l'encontre des constatations de la palpation clinique et des pièces histologiques après résection (75).



**Figure 8 :** Carcinome canalaire infiltrant du sein, présentant un aspect annulaire en élastographie avec une anneau périphérique dur (rouge) et un centre « mou » ( noir et bleu foncé, ici pour une échelle de 0 à 180 kpa (« stiff ring » sign).. Bien qu'il ait été suggéré que la zone centrale correspondait à de la nécrose, elle est en fait associée dans la plupart des cas à des fibres de collagène.

Il existe aussi des interrogations concernant la méthode d'analyse de l'image d'ESW. L'analyse quantitative peut se faire à partir de plusieurs valeurs obtenues dans une région d'intérêt (ROI) positionnée sur la carte paramétrique : la valeur d'élasticité maximale, ( $E_{max}$ ), d'élasticité moyenne ( $E_{mean}$ ) ou l'écart type des valeurs (SD). Si on positionne deux ROI sur deux zones de la carte, le système calcul aussi un rapport entre les deux ( $E_{ratio}$ ). Pour certains auteurs,  $E_{max}$  semble être la valeur la plus intéressante (3,118) mais d'autres ont montré une supériorité des performances de  $E_{ratio}$  (119). En outre, la taille de la ROI utilisée et son positionnement dans l'image sont laissés au libre choix de l'utilisateur. Ainsi la plupart des auteurs déclarent utiliser une ROI de 2 ou 3 mm de diamètre positionnée sur la zone la plus dure visuellement de l'image (3,75–77), tandis que d'autres utilisent une ROI englobant l'ensemble de la lésion et de la zone dure (73,120). Si les  $E_{max}$  obtenus doivent être sensiblement identiques avec ces deux

techniques, les valeurs de Emean ne seront pas les mêmes, la zone de l'image mesurée étant différente.

Une dernière limite de l'analyse quantitative est la nécessité d'utiliser un seuil diagnostic, au-dessus duquel l'examen sera considéré comme positif et en dessous duquel il sera négatif. Il n'y a pas encore de seuil consensuel, les seuils proposés dans la littérature allant de 55 à 93,8 kPa pour Emax et de 35 à 74,1 kPa pour Emean en fonction des publications.

Devant ces limites de l'analyse quantitative, d'autres auteurs ont mis en avant une analyse uniquement qualitative de l'image. Mais là aussi plusieurs méthodes d'analyses sont proposées. Par exemple, Berg propose de s'intéresser à la couleur correspondant à la dureté maximale de l'image, tandis que Tozaki (69) propose un score à 4 niveaux. D'autres ont défini des signes correspondant à la répartition des couleurs de la carte paramétrique (117).

Ces interrogations tant sur la manière d'acquérir l'image, que la manière de l'interpréter, soulignent bien que cette technique est encore en cours d'évolution, et il faudra certainement plusieurs années pour qu'elle atteigne son niveau de maturité et se stabilise.

Le travail personnel effectué au cours de cette thèse s'inscrit dans cette démarche de validation technique avec pour objectif de répondre à certaines de ces questions. Dans une première partie, effectuée au Laboratoire de Recherche en Imagerie et ayant donné lieu à deux articles (un article publié – Annexe 1 et un article soumis - Annexe 2), nous nous sommes intéressés aux éléments histologiques sous-tendant l'image d'ESW sur un modèle biologique animal. Une deuxième partie de notre travail s'est intéressée aux conditions cliniques d'acquisition de l'ESW. Où nous avons alors étudié les conséquences de l'application d'une compression manuelle lors de l'acquisition de l'image d'ESW et la

reproductibilité inter observateur de la technique. Ce travail a donné lieu à un troisième article (article soumis - Annexe 3). Enfin, les résultats obtenus au cours de l'étude sur le rôle de la compression ont été à l'origine d'un travail collaboratif mené avec M. Bernal (Post doctorant) de l'Institut Langevin Ondes et Images, de l'Ecole Supérieure de Physique et de Chimie industrielles (ESPCI), sur un nouveau paramètre quantitatif : le module de non linéarité. Nous avons effectué les premières acquisitions en échographie mammaire chez des patientes (article soumis – Annexe 4).

# TRAVAIL PERSONNEL

## 1. Evaluation des caractéristiques histologiques pouvant expliquer la dureté (Annexe1)

### *Shear wave elastography of tumour growth in a human breast cancer model with pathological correlation*

Foucauld Chamming's ; H. Latorre-Ossa ; M. A. Le Frère-Belda ; V. Fitoussi ; T. Quibel ; F. Assayag ; E. Marangoni ; G. Autret ; D. Balvay ; L. Pidial ; J. L. Gennisson ; M. Tanter ; C.A. Cuenod ; O.Clément ; L. S. Fournier.

Travail publié, European Radiology 2013 (121).

Dans une première étude chez le petit animal, nous avons implanté un modèle de cancer du sein humain chez la souris afin d'étudier les modifications de dureté au cours de la croissance tumorale et les anomalies histologiques sous-jacentes pouvant expliquer les valeurs observées.

Afin d'obtenir un modèle biologique contrôlé, nous avons choisi un modèle de cancer du sein humain (carcinome canalaire infiltrant), sélectionné dans la banque de tumeurs du Laboratoire d'Investigation Préclinique de l'Institut Curie, que nous implanté en sous cutané dans le Fat pad de souris nues. Lorsque la tumeur devenait palpable, on effectuait chaque semaine une échographie en mode B avec mesure du diamètre tumoral maximal et une acquisition en élastographie avec mesure de la dureté moyenne des tumeurs. Le protocole expérimental avait été défini afin de limiter au maximum les éléments artéfactuels de l'image liés à l'environnement anatomique. Les acquisitions

étaient réalisées avec l'Aixplorer® à l'aide d'une sonde superficielle fixée à un support pour limiter les mouvements. La tumeur était recouverte de gel, de manière à éviter toute compression. Pour valider les mesures effectuées dans nos conditions d'expérimentation in vivo, des mesures ont été faites pour 7 tumeurs chez la souris puis après exérèse dans un gel solide (ex vivo). Une analyse histologique des tumeurs prélevées à différents stades de la croissance sur des lames numérisées ont permis de quantifier manuellement la proportion de fibrose, de nécrose et de tissu cellulaire.

Nous avons tout d'abord observé une augmentation progressive de la dureté des tumeurs au cours de la croissance tumorale. L'absence de différence observée entre les mesures in vivo et ex vivo nous a confirmé que l'environnement anatomique de la tumeur implantée n'avait pas d'influence significative sur les mesures. Concernant les caractéristiques histologiques, nous avons pu établir pour notre modèle une très bonne corrélation entre la dureté et le taux de fibrose ( $r=0,83$  ;  $P<0,0001$ ) et une corrélation inverse avec le taux de nécrose ( $r= -0,76$  ;  $P= 0,0004$ ).

Cette première étude a permis de vérifier, dans des conditions contrôlées, que l'ESW reflète bien une réalité biologique. La dureté serait ainsi liée essentiellement à la présence de fibrose, alors que la nécrose serait plutôt molle. Ces résultats ont apporté des éléments importants pour la compréhension et donc l'interprétation des images d'ESW en imagerie mammaire clinique.

## 2. Evaluation des modifications de dureté sous traitement des tumeurs du sein et des caractéristiques histologiques sous-jacentes (Annexe 2)

### *Stiffness reflects pathological changes of breast tumors under therapy*

F. Chamming's ; M. A. Le Frère-Belda ; H. Latorre-Ossa ; V. Fitoussi ; A ; Redheuil ;  
F. Assayag ; L. Pidial ; J. L. Gennisson ; M. Tanter ; C. A. Cuénod ; L. S. Fournier.

Soumis, European Journal of Radiology

Dans ce second travail effectué chez le petit animal, nous avons voulu confirmer les liens entre dureté en ESW et son substratum biologique, dans d'autres conditions. Nous avons donc étudié les modifications de dureté d'un modèle de cancer sous traitement et les changements histologiques sous-jacents.

Les conditions d'expérimentations validées dans notre première étude ont été reproduites. Après deux semaines de croissance spontanée, 22 souris ont été réparties en deux groupes équivalents dont l'un (groupe traitement) a été traité pendant 24 jours par un anti-angiogénique oral (Everolimus®) et l'autre (groupe contrôle) par du sérum glucosé à 5%. Le traitement a été choisi pour son efficacité démontrée précédemment sur notre modèle par l'équipe du Laboratoire d'Investigation Prélinique (LIP) L'analyse histologique, utilisant la même méthodologie que dans notre première étude, a été effectuée en cours (J12, N=4) et à la fin du traitement (J24, N=16).

Sous traitement par Everolimus®, nous avons bien observé une diminution progressive du volume des tumeurs traitées jusqu'à la fin de notre étude. Contrairement à notre



première étude, la dureté mesurée en ESW n'était pas strictement corrélée à la taille. Nous avons observé une phase initiale de ramollissement, parallèle à la diminution en taille, suivie d'une deuxième phase de durcissement des tumeurs, alors que la taille continuait à diminuer. Le ramollissement des tumeurs traitées correspondait sur l'analyse histologique réalisée à J12 à de larges plages de nécroses, qui n'étaient pas observées à ce stade dans les tumeurs non traitées du groupe contrôle. Les tumeurs devenues plus dures au cours de la deuxième partie du traitement étaient associées en histologie à une régression du taux de nécrose.

Le premier intérêt de ce travail est de compléter notre première étude en confirmant que la dureté mesurée en ESW reflète bien une réalité biologique, en l'occurrence les caractéristiques histologiques, y compris sous traitement.

En montrant que les modifications de dureté liées à la réponse peuvent changer au cours du temps, en lien avec les remaniements histologiques, notre étude apporte d'autre part des informations importantes pour la pratique clinique en soulignant que le délai choisi pour évaluer l'efficacité d'un traitement pourrait modifier les résultats observés.

### **3. Evaluation du rôle de la compression manuelle pour la caractérisation des lésions mammaires en élastographie shear wave.**

**(Annexe 3)**

*Manual compression has a role in breast lesion characterization using shear wave elastography.*

F. Chamming's ; C. Hangard ; A. S. Bats ; M. A. Le Frère-Belda ; J. L. Gennisson ; C. A. Cuenod ; L. S. Fournier.

Soumis, Radiology

Lorsqu'une image est acquise en élastographie, l'opérateur exerce naturellement une compression sur le sein en rapport avec ses habitudes d'acquisition en mode B. Ceci entraine en contradiction avec nos études chez le petit animal, où une absence totale de compression était appliquée. Dans cette étude clinique, nous avons évalué s'il était possible d'éviter toute compression en ESW clinique et les conséquences d'une compression manuelle sur les mesures de dureté et les performances diagnostiques de la technique.

Cette étude a été effectuée dans le service de radiologie de l'Hôpital Européen Georges Pompidou, chez des patientes porteuses de masses mammaires classées ACR3, ACR4 et ACR5. La nature bénigne ou maligne de ces lésions était ensuite déterminée par biopsie, ou pour les moins suspectes par une surveillance échographique d'un an. Des mesures d'élastographie ont été effectuées en appliquant quatre niveaux de compression reflétant la pratique clinique: aucune, faible, modérée et forte. Nous avons testé la

reproductibilité de ces niveaux de compression à partir des mesures effectuées par deux opérateurs chez 18 patientes. Les performances de l'élastographie pour la caractérisation des lésions mammaires étaient évaluées pour chaque niveau de compression.

A partir des résultats obtenus sur 60 masses (26 bénignes et 34 malignes), nous avons montré qu'une compression manuelle devrait être recommandée pour l'acquisition des images d'élastographie, puisqu'en l'absence de compression la plupart des masses malignes apparaissaient molles (bleues) et qu'il n'y avait pas de différence significative avec les lésions bénignes ( $P > 0.99$ ). Lorsqu'une compression était appliquée, on obtenait au contraire de bonnes performances diagnostiques (AUC de la courbe ROC entre 0,77 et 0,84). Nous avons aussi montré que le paramètre quantitatif de dureté mesuré augmentait avec le degré de compression et que pour une compression forte, même les masses bénignes pouvaient apparaître dures en ESW.

Enfin, bien que le calcul du coefficient de corrélation Intra classe ait montré une très bonne concordance entre les deux opérateurs, il existait dans notre étude un biais systématique entre les deux opérateurs, l'un obtenant des valeurs un peu plus élevées que l'autre ( $p < 0,001$ ).

Nous pouvons tirer plusieurs enseignements des résultats de cette étude. Tout d'abord, elle permet d'établir des recommandations pour la pratique clinique en précisant le niveau optimal de compression à utiliser. Ensuite, ce travail montre que le degré de compression manuelle appliqué influence les mesures quantitatives observées. Finalement, notre travail montre que l'ESW est dépendante de l'opérateur, mettant en lumière le rôle de l'apprentissage et de l'expertise.

#### 4. Mise au point et étude de faisabilité de la quantification in vivo du module de non linéarité des lésions mammaires : (annexe 4).

*In vivo quantification of the non linear shear modulus in breast lesions: a feasibility study*

M. Bernal ; F. Chamming's ; M. Couade ; J. Bercoff ; M. Tanter ; J. L. Gennisson.

Soumis, IEEE

Dans l'étude précédente, nous avons montré qu'il était important d'appliquer un minimum de compression manuelle pour l'acquisition en ESW du sein, et aussi que les valeurs mesurées étaient dépendantes du degré de compression appliquée. Ce changement de dureté mesurée en rapport avec la compression est lié à l'hypothèse non vérifiée de linéarité de la réponse des tissus au stress. Ce travail a donc donné lieu à un travail de recherche fondamental en physique par un post-doctorant de l'équipe de Mickael Tanter, sur un nouveau paramètre quantitatif associé à la relation entre la compression et la déformation des tissus, le module de non linéarité.

Dans les milieux quasi incompressibles, le rapport entre la contrainte et la déformation d'un tissu biologique est une fonction non linéaire propre à chaque tissu biologique et caractérisée par une constante, le module de cisaillement non linéaire ( $A$ ).

Dans les milieux quasi incompressibles, l'énergie de déformation ( $e$ ) peut être simplifiée et être exprimée comme suit :

$$e = \mu I_2 + \frac{A}{3} I_3 + D' I_2^2 \quad (1)$$

Où  $\mu$  est le module de cisaillement,  $A$  le module de cisaillement non linéaire de troisième

ordre,  $D'$  le module de non linéarité de quatrième ordre et  $I_{2,3}$  des constantes du tenseur de déformation.

Dans un matériel isotropique, où l'axe de compression uni-axiale est parallèle à la polarisation des ondes de cisaillement et dans lequel une onde de cisaillement plane et de faible amplitude se propage, l'équation d'onde dérivée de (1) s'écrit :

$$\rho \frac{\partial^2 u_z^D}{\partial t^2} = \frac{\partial^2 u_x^D}{\partial z^2} \left[ \mu + 2\mu \left( \frac{\partial u_x^S}{\partial x} + 2 \frac{\partial u_z^S}{\partial z} \right) + \frac{A}{2} \left( \frac{\partial u_x^S}{\partial x} + \frac{\partial u_z^S}{\partial z} \right) \right] \quad (2)$$

Où  $u_{x,z}^D$  et  $u_{x,z}^S$  sont les déplacements liés aux ondes de cisaillement et à la contrainte statique uni-axiale ( $\sigma_z$ ) respectivement. Dans le cas de déplacements liés aux ondes de cisaillement plus petits que ceux dus à la compression statique et en appliquant la loi de Hooke permettent de quantifier la contrainte, l'équation élastodynamique non linéaire peut s'écrire :

$$\rho V_s^2 = \mu_0 - \sigma_z \left( \frac{A}{12\mu_0} \right) \quad (3)$$

Où  $\mu_0$  est le module de cisaillement en l'absence de toute compression.

Ainsi, en quantifiant la vitesse des ondes de cisaillement en fonction de la contrainte appliquée, on peut extraire  $A$

En résumé, selon la théorie de l'acousto-élasticité dans les milieux quasi incompressibles, le rapport entre la contrainte et la déformation d'un tissu biologique est une fonction non linéaire propre à chaque tissu biologique dont  $A$  est une constante.

Nous avons donc réalisé la première étude clinique quantifiant le paramètre  $A$ , en

combinant les principes de l'élastographie statique et de l'élastographie shear wave. Alors qu'une compression manuelle progressive est appliquée sur le milieu,  $A$  peut être obtenu à partir de la relation entre la contrainte (déduite des cartes de déformation) et le module de cisaillement (module d'Young). Nous avons appliqué ce nouveau paramètre pour la caractérisation des lésions mammaires.

La première partie de l'étude a été effectuée à l'Institut Langevin Ondes et Images. La technique y a été mise au point sur cinq fantômes non linéaires fabriqués avec des inclusions de tissu biologique (foie de porc) immergées dans un gel solide (agar-gélatine). Pour l'étude clinique préliminaire, des acquisitions ont été effectuées dans le service de Radiologie de l'Hôpital Européen Georges Pompidou chez 11 patientes, sur le tissu mammaire normal pour trois d'entre elles et sur des masses mammaires (quatre bénignes et quatre malignes) chez les huit autres. L'histologie a été obtenue par biopsie pour les huit lésions. Une compression manuelle d'intensité progressivement croissante était appliquée par palier sur le milieu (le fantôme pour l'étude préliminaire en laboratoire et le sein chez les patientes). A chaque niveau de compression, la contrainte appliquée et le module de cisaillement étaient mesurés par le système et  $A$  était déterminé à partir de l'ensemble de ces mesures.

Dans l'étude in vitro, alors que le module de cisaillement  $E$  de l'inclusion de foie de porc et du gel solide était très proches (3,7 et 3,4 kPa respectivement), le paramètre  $A$  permettait de bien différencier les deux milieux avec des valeurs moyennes de 114,1 et de 34,7 kPa respectivement. In vivo, les valeurs mesurées de  $A$  étaient de -95 kPa pour le tissu normal, -619 kPa pour les masses bénignes et - 806 kPa pour les masses malignes, mais il existait une grande variabilité des mesures.

Cette étude a permis d'appliquer la théorie de l'acousto-élasticité dans les milieux quasi incompressibles en utilisant un système commercial pour quantifier le module de

cisaillement non linéaire  $A$  en échographie mammaire. D'autres études cliniques portant sur un plus grand nombre de patientes et intégrant des améliorations du système - en particulier la possibilité d'afficher des cartes de non linéarité en temps réel - seront nécessaires pour démontrer si ce paramètre apporte un bénéfice supplémentaire aux techniques existantes, en particulier pour différencier les lésions bénignes des lésions malignes.

## DISCUSSION

Dans deux études pré-cliniques effectuées sur petit animal, nous avons établi une relation entre la dureté mesurée en ESW et les caractéristiques histologiques sous-jacentes d'un modèle de cancer du sein humain, que ce soit au cours de sa croissance spontanée ou sous l'effet d'un traitement. Nous avons ainsi montré la corrélation entre fibrose et dureté élevée alors que la nécrose était associée à une dureté moindre. Dans une étude clinique translationnelle, nous avons montré qu'une compression manuelle minimale était requise en ESW pour la caractérisation des lésions mammaires. A partir de ce constat, nous avons montré que le paramètre d'élasticité ne permettait pas d'expliquer tous les phénomènes observés et nous avons donc réalisé la première étude clinique utilisant un nouveau paramètre de non linéarité en échographie mammaire.

Les questions soulevées par ces travaux peuvent se décliner en trois interrogations : 1) que mesure l'élastographie ? ; 2) comment mesurer en élastographie ? ; et 3) l'élastographie suffit-elle à décrire les réponses des tissus ?

### 1. Que mesure l'élastographie ?

Selon les principes physiques de la technique, l'ESW permet d'évaluer quantitativement la dureté des tissus. Il est connu depuis longtemps que les cancers sont plus durs que les tumeurs bénignes, ce qui faisait de la caractérisation de lésions une application de choix de l'élastographie, en particulier dans les tumeurs du sein.

Cependant, les caractéristiques histologiques expliquant les mesures d'ESW étaient mal connues. Nous avons donc mis en place le premier travail de cette thèse pour répondre à



cette question. Nous avons choisi un modèle de carcinome canalaire infiltrant humain qui conservait les caractéristiques biologiques et moléculaires des tumeurs d'origine après implantation (122) permettant de considérer que les liens entre histologie et dureté observés illustreraient bien les phénomènes existant chez les patientes. De plus, nous avons voulu travailler dans des conditions contrôlées : mesures réalisées en l'absence de compression manuelle (en interposant une couche de gel), sonde fixée sur un support pour éviter les mouvements, implantation sous-cutanée pour s'affranchir de l'environnement.

Nous avons mis en évidence que la dureté de ces cancers était liée à la présence de fibrose, alors que la nécrose était associée à une dureté beaucoup plus faible. Ces résultats étaient encore vérifiés lorsque notre modèle tumoral était traité par un anti-angiogénique.

Nos résultats sont à l'origine d'une remise en questions de certaines images obtenues en élastographie dans les cancers en pratique clinique.

En effet, comme nous l'avons mentionné précédemment, une image annulaire constituée d'un centre noir ou bleu foncé et un anneau périphérique rouge (« stiff ring sign ») est fréquemment observée dans les cancers. La zone centrale dans cette image était expliquée jusque-là comme correspondant à une plage de nécrose très molle. La littérature anatomo-pathologique (114) vient contredire cette hypothèse, puisque la nécrose est très rare au centre des cancers du sein. De plus, une étude réalisée chez la femme par Lee et al. a montré que les tumeurs qui présentaient ce type d'image étaient riches en collagène (115). En montrant que la fibrose est associée à une dureté élevée, nos résultats permettent d'émettre l'hypothèse que cette zone centrale n'est pas le reflet de l'histologie mais correspond en fait à un artéfact dans une zone où la dureté est difficile à quantifier (dureté trop élevée ? Cône d'ombre ultrasonore ?).

Il est intéressant de noter que ces images d'artéfact central n'étaient pas observées dans notre modèle tumoral. Nous nous sommes donc interrogés sur les différences entre notre modèle et les conditions cliniques pouvant l'expliquer. Premièrement, nous n'avons pas atteint dans notre modèle des valeurs de dureté aussi élevées que dans les cancers chez la femme. Ensuite, notre modèle étant implanté en sous-cutané, il ne présentait pas le même type d'environnement péri-tumoral que les cancers observés chez la femme. Dans un sein, la présence de tissu glandulaire péri-tumoral pourrait jouer un rôle dans les mesures obtenues. Au contraire, dans notre modèle animal, l'environnement ne semblait pas influencer les mesures obtenues in vivo puisqu'elles étaient comparables aux mesures ex vivo acquises sur une tumeur explantée incluse dans un gel solide.

Une des limites essentielles de ce travail sur la validation biologique du paramètre mesuré en ESW est l'unique modèle tumoral utilisé. En effet, il n'est pas possible de généraliser nos résultats à d'autres modèles, ou d'autres traitements. Ainsi, il est toujours possible que le substratum biologique du paramètre de dureté observé dans notre étude (en l'occurrence nécrose et fibrose) soit spécifique à ce modèle. De plus, la diversité des cancers du sein observés en clinique n'est pas représentée dans notre étude.

## **2. Comment mesurer en élastographie ?**

Comme nous l'avons souligné dans le chapitre « Limites et nécessité de validation technique de l'ESW », plusieurs facteurs peuvent avoir de l'influence sur les résultats d'élastographie des lésions mammaires : la structure anatomique du sein, la localisation

et le type histologique de la lésion. Les résultats seront aussi dépendants de la technique d'acquisition des images et de la méthode de traitement d'image ou d'interprétation par l'opérateur.

Dans la littérature plusieurs auteurs se sont intéressés aux conditions d'acquisition de l'image d'ESW et leur influence sur les performances de la technique. Si l'axe d'orientation de la sonde d'échographie ne semble pas avoir d'influence significative sur les mesures de dureté en ESW (123), les performances obtenues avec des images acquises dans deux plans différents pourraient être supérieures à celles obtenues à partir d'un seul plan (124). Le rôle du type de sonde fait aussi débat. Pour Youk et al. les performances de la sonde 3D sont inférieures à celle de la sonde 2D (125) tandis que Lee et al. n'ont pas observé de différence significative entre les deux approches (126). Le rôle de la compression manuelle a aussi été discuté, en particulier par Barr et al. (127).

L'intérêt de notre travail personnel est d'apporter une réponse à la question jusque-là non résolue : faut-il appliquer une compression manuelle, c'est à dire appuyer sur le sein avec la sonde lors de l'ESW ou au contraire faut-il l'éviter pour rester dans les conditions théoriques d'utilisation ? Contrairement aux conditions de notre étude sur modèle animal, où l'image était obtenue en l'absence de toute compression, notre étude clinique montre l'incapacité du système à différencier lésions bénignes et malignes si aucune pression n'est appliquée sur le sein. Ce constat est à l'origine de plusieurs enseignements. On peut en premier lieu, à partir de nos résultats, mettre à jour les recommandations concernant les modalités pratiques d'utilisation de la machine : contrairement à ce qui est classiquement proposé, il est nécessaire d'appliquer une compression minimale pour obtenir de bonnes performances en ESW. Ensuite, l'hypothèse selon laquelle l'image serait acquise selon un processus complètement automatisé, et donc indépendante de l'opérateur, n'est plus remplie. L'ESW, comme

l'échographie mode B, devient donc dépendante de l'opérateur. Par conséquent, il existe une courbe d'apprentissage de l'ESW, en particulier pour apprendre à gérer la compression au moment de l'acquisition. La technique sera donc probablement plus performante dans des mains expérimentées, ce qui met en lumière l'importance de la formation et le rôle des experts. Enfin, cela implique que les résultats quantitatifs d'ESW seront influencés par la force de la pression appliquée par l'opérateur, qui, elle, n'est pas quantifiable, ce qui pose la question de leur reproductibilité. Dans la littérature, les concordances inter-observateurs rapportées sont bonnes, voire excellentes. (72,128). Cependant les concordances sont meilleures pour l'analyse à posteriori par deux lecteurs d'images acquise par un seul opérateur que lorsque l'image était acquise par deux opérateurs différents (76). Dans l'étude princeps sur la reproductibilité de l'ESW (129), la bonne concordance inter observateur était ainsi obtenue à partir de l'analyse rétrospective d'une image d'ESW acquise par un seul opérateur, ce qui ne permet donc pas d'évaluer la variabilité liée à l'acquisition. Dans notre étude où les images sont acquises par deux opérateurs différents pour différents niveaux de compression définis a priori, nous avons aussi montré une très bonne concordance inter-observateur. Deux observateurs sont en effet quasiment toujours d'accord quand il s'agit de déterminer si une image est dure ou molle. En revanche, en montrant un biais systématique dans les résultats quantitatifs obtenus, nous avons aussi montré que les différences dans les mesures effectuées par les deux opérateurs pouvaient aller pour certaines masses jusqu'à plusieurs dizaines de KPa.

### 3. Au-delà de l'élasticité

Nous avons donc démontré qu'en pratique clinique, il existait une influence du degré de compression sur la mesure de dureté. Ce constat nous a poussé à étudier un nouveau paramètre quantitatif prenant en compte la compression des tissus le module de cisaillement non linéaire ( $A$ ).

Ce qui pouvait ainsi apparaître initialement comme une limite, l'influence de la compression sur les résultats quantitatifs d'élasticité mesurés, a finalement été à l'origine d'un nouveau développement de cette technique. Nos résultats préliminaires montrent cependant qu'il y aura également pour ce nouveau paramètre une phase importante de compréhension de la biologie sous-tendant les mesures, et des conditions d'acquisition des mesures. Ce nouvel outil se heurte aux mêmes difficultés que l'ESW à ses débuts, c'est à dire à la complexité de l'environnement péri-lésionnel (le tissu mammaire), la variabilité histologique des lésions et l'adaptation technologique d'un nouvel outil à un système commercial. L'absence de contrôle du processus d'acquisition par une image en temps réel à l'heure actuelle pourrait être responsable de la qualité moyenne des données initiales obtenues in vivo. La question de sa contribution exacte par rapport aux techniques existantes restera à déterminer.

## CONCLUSION

Ce travail de thèse, centré sur un projet de recherche transversale effectué à la fois en laboratoire sur le petit animal et dans un service clinique d'imagerie mammaire apporte des informations importantes pour le processus de validation de l'Elastographie Shear Wave (ESW) en sénologie: Les résultats obtenus à partir de l'étude d'un modèle biologique contrôlé au cours de sa croissance spontanée et sous traitement, nous ont permis d'établir des liens entre dureté et histologie et sont à l'origine d'une remise en question de l'image d'élastographie shear wave des cancers du sein en clinique. Notre travail clinique met en lumière les conditions de réalisation de l'examen en montrant le rôle de la compression manuelle et son influence sur les valeurs quantitatives d' ESW du sein. Nos observations cliniques ont aussi entraîné la mise au point d'un nouveau paramètre diagnostique : le module de cisaillement non linéaire  $A$ , dont nous avons montré la faisabilité en échographie mammaire.

## BIBLIOGRAPHIE

1. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin.* janv 2014;64(1):52-62.
2. Athanasiou A, Tardivon A, Tanter M, Sigal-Zafrani B, Bercoff J, Deffieux T, et al. Breast lesions: quantitative elastography with supersonic shear imaging--preliminary results. *Radiology.* juill 2010;256(1):297-303.
3. Berg WA, Cosgrove DO, Dore CJ, Schafer FKW, Svensson WE, Hooley RJ, et al. Shear-wave elastography improves the specificity of breast US: the BE1 multinational study of 939 masses. *Radiology.* févr 2012;262(2):435-49.
4. Wagner RF, Metz CE, Campbell G. Assessment of medical imaging systems and computer aids: a tutorial review. *Acad Radiol.* juin 2007;14(6):723-48.
5. Sackett DL, Haynes RB. The architecture of diagnostic research. *BMJ.* 2 mars 2002;324(7336):539-41.
6. Autier P, Boniol M, La Vecchia C, LaVecchia C, Vatten L, Gavin A, et al. Disparities in breast cancer mortality trends between 30 European countries: retrospective trend analysis of WHO mortality database. *BMJ.* 2010;341:c3620.
7. Tabár L, Vitak B, Chen TH-H, Yen AM-F, Cohen A, Tot T, et al. Swedish two-county trial: impact of mammographic screening on breast cancer mortality during 3 decades. *Radiology.* sept 2011;260(3):658-63.
8. Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, Fryback DG, Clarke L, Zelen M, et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *N Engl J Med.* 27 oct 2005;353(17):1784-92.
9. Tabár L, Fagerberg CJ, Gad A, Baldetorp L, Holmberg LH, Gröntoft O, et al. Reduction in mortality from breast cancer after mass screening with mammography. Randomised trial from the Breast Cancer Screening Working Group of the Swedish National Board of Health and Welfare. *Lancet.* 13 avr 1985;1(8433):829-32.
10. Tabar L, Yen M-F, Vitak B, Chen H-HT, Smith RA, Duffy SW. Mammography service screening and mortality in breast cancer patients: 20-year follow-up before and after introduction of screening. *Lancet.* 26 avr 2003;361(9367):1405-10.
11. Hellquist BN, Duffy SW, Abdsaleh S, Björneld L, Bordás P, Tabár L, et al. Effectiveness of population-based service screening with mammography for women ages 40 to 49 years: evaluation of the Swedish Mammography Screening in Young Women (SCRY) cohort. *Cancer.* 15 févr 2011;117(4):714-22.
12. Kerlikowske K, Grady D, Barclay J, Sickles EA, Ernster V. Effect of age, breast density, and family history on the sensitivity of first screening mammography. *JAMA.* 3 juill 1996;276(1):33-8.
13. Mandelson MT, Oestreicher N, Porter PL, White D, Finder CA, Taplin SH, et al. Breast density as a predictor of mammographic detection: comparison of interval- and screen-detected cancers. *J Natl Cancer Inst.* 5 juill 2000;92(13):1081-7.
14. Leconte I, Feger C, Galant C, Berlière M, Berg BV, D'Hoore W, et al. Mammography and subsequent whole-breast sonography of nonpalpable breast cancers: the importance of radiologic breast density. *AJR Am J Roentgenol.* juin 2003;180(6):1675-9.
15. D'Orsi C. Breast Imaging Reporting And Data System: ACR BI-RADS-

- Mammography. 2003;4th ed. Reston VA: American College of Radiology.
16. Zonderland HM, Pope TL, Nieborg AJ. The positive predictive value of the breast imaging reporting and data system (BI-RADS) as a method of quality assessment in breast imaging in a hospital population. *Eur Radiol.* oct 2004;14(10):1743-50.
  17. Orel SG, Kay N, Reynolds C, Sullivan DC. BI-RADS categorization as a predictor of malignancy. *Radiology.* juin 1999;211(3):845-50.
  18. Liberman L, Abramson AF, Squires FB, Glassman JR, Morris EA, Dershaw DD. The breast imaging reporting and data system: positive predictive value of mammographic features and final assessment categories. *AJR Am J Roentgenol.* juill 1998;171(1):35-40.
  19. Kim E-K, Ko KH, Oh KK, Kwak JY, You JK, Kim MJ, et al. Clinical application of the BI-RADS final assessment to breast sonography in conjunction with mammography. *AJR Am J Roentgenol.* mai 2008;190(5):1209-15.
  20. Hamy A-S, Giacchetti S, Albiter M, de Bazelaire C, Cuvier C, Perret F, et al. BI-RADS categorisation of 2,708 consecutive nonpalpable breast lesions in patients referred to a dedicated breast care unit. *Eur Radiol.* janv 2012;22(1):9-17.
  21. Lamb PM, Perry NM, Vinnicombe SJ, Wells CA. Correlation between ultrasound characteristics, mammographic findings and histological grade in patients with invasive ductal carcinoma of the breast. *Clin Radiol.* janv 2000;55(1):40-4.
  22. Boné B, Aspelin P, Bronge L, Isberg B, Perbeck L, Veress B. Sensitivity and specificity of MR mammography with histopathological correlation in 250 breasts. *Acta Radiol Stockh Swed* 1987. mars 1996;37(2):208-13.
  23. Stomper PC, Herman S, Klippenstein DL, Winston JS, Edge SB, Arredondo MA, et al. Suspect breast lesions: findings at dynamic gadolinium-enhanced MR imaging correlated with mammographic and pathologic features. *Radiology.* nov 1995;197(2):387-95.
  24. Fung Y. *Biomechanical Properties of Living Tissues* Springer-Verlag, New York, 1981, Chapter 7. 1981;
  25. Krouskop TA, Dougherty DR, Vinson FS. A pulsed Doppler ultrasonic system for making noninvasive measurements of the mechanical properties of soft tissue. *J Rehabil Res Dev.* 1987;24(2):1-8.
  26. Sarvazyan AP. Ultrasonic velocimetry of biological compounds. *Annu Rev Biophys Biophys Chem.* 1991;20:321-42.
  27. Levinson SF. Ultrasound propagation in anisotropic soft tissues: the application of linear elastic theory. *J Biomech.* 1987;20(3):251-60.
  28. Ophir J, Céspedes I, Ponnekanti H, Yazdi Y, Li X. Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason Imaging.* avr 1991;13(2):111-34.
  29. Bercoff J, Chaffai S, Tanter M, Sandrin L, Catheline S, Fink M, et al. In vivo breast tumor detection using transient elastography. *Ultrasound Med Biol.* oct 2003;29(10):1387-96.
  30. Sinkus R, Lorenzen J, Schrader D, Lorenzen M, Dargatz M, Holz D. High-resolution tensor MR elastography for breast tumour detection. *Phys Med Biol.* juin 2000;45(6):1649-64.
  31. Tanter M, Bercoff J, Athanasiou A, Deffieux T, Gennisson JL, Montaldo G, et al. Quantitative assessment of breast lesion viscoelasticity: initial clinical results using supersonic shear imaging. *Ultrasound Med Biol.* sept 2008;34(9):1373-86.



32. Gennisson J-L, Deffieux T, Fink M, Tanter M. Ultrasound elastography: principles and techniques. *Diagn Interv Imaging*. mai 2013;94(5):487-95.
33. Sandrin L, Tanter M, Catheline S, Fink M. Shear modulus imaging with 2-D transient elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*. avr 2002;49(4):426-35.
34. Garra BS, Cespedes EI, Ophir J, Spratt SR, Zuurbier RA, Magnant CM, et al. Elastography of breast lesions: initial clinical results. *Radiology*. janv 1997;202(1):79-86.
35. Garra BS, Cespedes EI, Ophir J, Spratt SR, Zuurbier RA, Magnant CM, et al. Elastography of breast lesions: initial clinical results. *Radiology*. janv 1997;202(1).
36. Hiltawsky KM, Kruger M, Starke C, Heuser L, Ermert H, Jensen A. Freehand ultrasound elastography of breast lesions: clinical results. *Ultrasound Med Biol*. nov 2001;27(11):1461-9.
37. Hall TJ, Zhu Y, Spalding CS. In vivo real-time freehand palpation imaging. *Ultrasound Med Biol*. mars 2003;29(3):427-35.
38. Itoh A, Ueno E, Tohno E, Kamma H, Takahashi H, Shiina T, et al. Breast disease: clinical application of US elastography for diagnosis. *Radiology*. mai 2006;239(2):341-50.
39. Itoh A, Ueno E, Tohno E, Kamma H, Takahashi H, Shiina T, et al. Breast disease: clinical application of US elastography for diagnosis. *Radiology*. mai 2006;239(2):341-50.
40. Chung SY, Moon WK, Choi JW, Cho N, Jang M, Kim KG. Differentiation of benign from malignant nonpalpable breast masses: a comparison of computer-assisted quantification and visual assessment of lesion stiffness with the use of sonographic elastography. *Acta Radiol Stockh Swed* 1987. févr 2010;51(1).
41. Zhi H, Xiao XY, Yang HY, Wen YL, Ou B, Luo BM, et al. Semi-quantitating stiffness of breast solid lesions in ultrasonic elastography. *Acad Radiol*. nov 2008;15(11):1347-53.
42. Moon WK, Huang CS, Shen WC, Takada E, Chang RF, Joe J, et al. Analysis of elastographic and B-mode features at sonoelastography for breast tumor classification. *Ultrasound Med Biol*. nov 2009;35(11):1794-802.
43. Raza S, Odulate A, Ong EM, Chikarmane S, Harston CW. Using real-time tissue elastography for breast lesion evaluation: our initial experience. *J Ultrasound Med*. avr 2010;29(4):551-63.
44. Lee JH, Kim SH, Kang BJ, Choi JJ, Jeong SH, Yim HW, et al. Role and clinical usefulness of elastography in small breast masses. *Acad Radiol*. janv 2011;18(1).
45. Tan SM, Teh HS, Mancner JF, Poh WT. Improving B mode ultrasound evaluation of breast lesions with real-time ultrasound elastography--a clinical approach. *Breast*. juin 2008;17(3):252-7.
46. Park HY, Han KH, Yoon JH, Moon HJ, Kim MJ, Kim EK. Intra-observer reproducibility and diagnostic performance of breast shear-wave elastography in Asian women. *Ultrasound Med Biol*. juin 2014;40(6):1058-64.
47. Thomas A, Degenhardt F, Farrokh A, Wojcinski S, Slowinski T, Fischer T. Significant differentiation of focal breast lesions: calculation of strain ratio in breast sonoelastography. *Acad Radiol*. mai 2010;17(5):558-63.
48. Zhi H, Xiao XY, Yang HY, Ou B, Wen YL, Luo BM. Ultrasonic elastography in breast cancer diagnosis: strain ratio vs 5-point scale. *Acad Radiol*. oct 2010;17(10):1227-33.

49. Farrokh A, Wojcinski S, Degenhardt F. [Diagnostic value of strain ratio measurement in the differentiation of malignant and benign breast lesions]. *Ultraschall Med Stuttg Ger* 1980. août 2011;32(4):400-5.
50. Kumm TR, Szabunio MM. Elastography for the characterization of breast lesions: initial clinical experience. *Cancer Control J Moffitt Cancer Cent.* juill 2010;17(3):156-61.
51. Yerli H, Yilmaz T, Kaskati T, Gulay H. Qualitative and semiquantitative evaluations of solid breast lesions by sonoelastography. *J Ultrasound Med.* févr 2011;30(2):179-86.
52. Gong X, Xu Q, Xu Z, Xiong P, Yan W, Chen Y. Real-time elastography for the differentiation of benign and malignant breast lesions: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* nov 2011;130(1):11-8.
53. Sadigh G, Carlos RC, Neal CH, Dwamena BA. Accuracy of quantitative ultrasound elastography for differentiation of malignant and benign breast abnormalities: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* août 2012;134(3):923-31.
54. Zhao QL, Ruan LT, Zhang H, Yin YM, Duan SX. Diagnosis of solid breast lesions by elastography 5-point score and strain ratio method. *Eur J Radiol.* nov 2012;81(11):3245-9.
55. Schaefer FKW, Heer I, Schaefer PJ, Mundhenke C, Osterholz S, Order BM, et al. Breast ultrasound elastography--results of 193 breast lesions in a prospective study with histopathologic correlation. *Eur J Radiol.* mars 2011;77(3):450-6.
56. Cho N, Moon WK, Kim HY, Chang JM, Park SH, Lyou CY. Sonoelastographic strain index for differentiation of benign and malignant nonpalpable breast masses. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med.* janv 2010;29(1).
57. Zhu QL, Jiang YX, Liu JB, Liu H, Sun Q, Dai Q, et al. Real-time ultrasound elastography: its potential role in assessment of breast lesions. *Ultrasound Med Biol.* août 2008;34(8):1232-8.
58. Leong LCH, Sim LSJ, Lee YS, Ng FC, Wan CM, Fook-Chong SMC, et al. A prospective study to compare the diagnostic performance of breast elastography versus conventional breast ultrasound. *Clin Radiol.* nov 2010;65(11):887-94.
59. Yi A, Cho N, Chang JM, Koo HR, La Yun B, Moon WK. Sonoelastography for 1,786 non-palpable breast masses: diagnostic value in the decision to biopsy. *Eur Radiol.* mai 2012;22(5):1033-40.
60. Mansour SM, Omar OS. Elastography ultrasound and questionable breast lesions: does it count? *Eur J Radiol.* nov 2012;81(11):3234-44.
61. Alhabshi SMI, Rahmat K, Abdul Halim N, Aziz S, Radhika S, Gan GC, et al. Semi-quantitative and qualitative assessment of breast ultrasound elastography in differentiating between malignant and benign lesions. *Ultrasound Med Biol.* avr 2013;39(4):568-78.
62. Kim MY, Cho N, Yi A, Koo HR, Yun BL, Moon WK. Sonoelastography in distinguishing benign from malignant complex breast mass and making the decision to biopsy. *Korean J Radiol.* juill 2013;14(4):559-67.
63. Farrokh A, Wojcinski S, Degenhardt F. Evaluation of real-time tissue sonoelastography in the assessment of 214 breast lesions: limitations of this method resulting from different histologic subtypes, tumor size and tumor localization. *Ultrasound Med Biol.* déc 2013;39(12):2264-71.
64. Zhi H, Xiao XY, Ou B, Zhong WJ, Zhao ZZ, Zhao XB, et al. Could ultrasonic elastography help the diagnosis of small (. *Eur J Radiol.* nov

- 2012;81(11):3216-21.
65. Bercoff J, Chaffai S, Tanter M, Sandrin L, Catheline S, Fink M, et al. In vivo breast tumor detection using transient elastography. *Ultrasound Med Biol.* oct 2003;29(10):1387-96.
  66. Athanasiou A, Tardivon A, Tanter M, Sigal-Zafrani B, Bercoff J, Deffieux T, et al. Breast lesions: quantitative elastography with supersonic shear imaging--preliminary results. *Radiology.* juill 2010;256(1).
  67. Evans A, Whelehan P, Thomson K, McLean D, Brauer K, Purdie C, et al. Quantitative shear wave ultrasound elastography: initial experience in solid breast masses. *Breast Cancer Res BCR.* 2010;12(6).
  68. Chen L, He J, Liu G, Shao K, Zhou M, Li B, et al. Diagnostic performances of shear-wave elastography for identification of malignant breast lesions: a meta-analysis. *Jpn J Radiol.* oct 2014;32(10):592-9.
  69. Tozaki M, Fukuma E. Pattern classification of ShearWave™ Elastography images for differential diagnosis between benign and malignant solid breast masses. *Acta Radiol Stockh Swed* 1987. 1 déc 2011;52(10):1069-75.
  70. Kim H, Youk JH, Gweon HM, Kim J-A, Son EJ. Diagnostic performance of qualitative shear-wave elastography according to different color map opacities for breast masses. *Eur J Radiol.* août 2013;82(8):e326-31.
  71. Youk JH, Gweon HM, Son EJ, Han KH, Kim JA. Diagnostic value of commercially available shear-wave elastography for breast cancers: integration into BI-RADS classification with subcategories of category 4. *Eur Radiol.* oct 2013;23(10):2695-704.
  72. Gweon HM, Youk JH, Son EJ, Kim J-A. Clinical application of qualitative assessment for breast masses in shear-wave elastography. *Eur J Radiol.* nov 2013;82(11):e680-5.
  73. Gweon HM, Youk JH, Son EJ, Kim J-A. Visually assessed colour overlay features in shear-wave elastography for breast masses: quantification and diagnostic performance. *Eur Radiol.* mars 2013;23(3):658-63.
  74. Yoon JH, Ko KH, Jung HK, Lee JT. Qualitative pattern classification of shear wave elastography for breast masses: how it correlates to quantitative measurements. *Eur J Radiol.* déc 2013;82(12):2199-204.
  75. Chang JM, Moon WK, Cho N, Yi A, Koo HR, Han W, et al. Clinical application of shear wave elastography (SWE) in the diagnosis of benign and malignant breast diseases. *Breast Cancer Res Treat.* août 2011;129(1).
  76. Evans A, Whelehan P, Thomson K, Brauer K, Jordan L, Purdie C, et al. Differentiating benign from malignant solid breast masses: value of shear wave elastography according to lesion stiffness combined with greyscale ultrasound according to BI-RADS classification. *Br J Cancer.* 10 juill 2012;107(2):224-9.
  77. Ko KH, Jung HK, Kim SJ, Kim H, Yoon JH. Potential role of shear-wave ultrasound elastography for the differential diagnosis of breast non-mass lesions: preliminary report. *Eur Radiol.* févr 2014;24(2):305-11.
  78. Lee SH, Chang JM, Kim WH, Bae MS, Seo M, Koo HR, et al. Added value of shear-wave elastography for evaluation of breast masses detected with screening US imaging. *Radiology.* oct 2014;273(1):61-9.
  79. Li G, Li DW, Fang YX, Song YJ, Deng ZJ, Gao J, et al. Performance of shear wave elastography for differentiation of benign and malignant solid breast masses. *PLoS One.* 2013;8(10):e76322.

80. Klotz T, BouSSION V, Kwiatkowski F, Dieu-de Fraissinette V, Bailly-Glatre A, Lemery S, et al. Shear wave elastography contribution in ultrasound diagnosis management of breast lesions. *Diagn Interv Imaging*. sept 2014;95(9):813-24.
81. Balu-Maestro C, Caramella T. [Can breast elastography change our strategies? Technology, impact and limitations]. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. janv 2015;43(1):71-7.
82. Tozaki M, Isobe S, Fukuma E. Preliminary study of ultrasonographic tissue quantification of the breast using the acoustic radiation force impulse (ARFI) technology. *Eur J Radiol*. nov 2011;80(2):e182-7.
83. Bai M, Du L, Gu J, Li F, Jia X. Virtual touch tissue quantification using acoustic radiation force impulse technology: initial clinical experience with solid breast masses. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med*. févr 2012;31(2):289-94.
84. Zhou J, Zhan W, Chang C, Zhang J, Yang Z, Dong Y, et al. Role of acoustic shear wave velocity measurement in characterization of breast lesions. *J Ultrasound Med*. févr 2013;32(2):285-94.
85. Li Z, Sun J, Zhang J, Hu D, Wang Q, Peng K. Quantification of acoustic radiation force impulse in differentiating between malignant and benign breast lesions. *Ultrasound Med Biol*. févr 2014;40(2):287-92.
86. Tozaki M, Isobe S, Sakamoto M. Combination of elastography and tissue quantification using the acoustic radiation force impulse (ARFI) technology for differential diagnosis of breast masses. *Jpn J Radiol*. oct 2012;30(8):659-70.
87. Ianculescu V, Ciolovan LM, Dunant A, Vielh P, Mazouni C, Delalogue S, et al. Added value of Virtual Touch IQ shear wave elastography in the ultrasound assessment of breast lesions. *Eur J Radiol*. mai 2014;83(5):773-7.
88. Jin ZQ, Li XR, Zhou HL, Chen JX, Huang X, Dai HX, et al. Acoustic radiation force impulse elastography of breast imaging reporting and data system category 4 breast lesions. *Clin Breast Cancer*. déc 2012;12(6):420-7.
89. Vinnicombe SJ, Whelehan P, Thomson K, McLean D, Purdie CA, Jordan LB, et al. What are the characteristics of breast cancers misclassified as benign by quantitative ultrasound shear wave elastography? *Eur Radiol*. avr 2014;24(4):921-6.
90. Yoon JH, Jung HK, Lee JT, Ko KH. Shear-wave elastography in the diagnosis of solid breast masses: what leads to false-negative or false-positive results? *Eur Radiol*. sept 2013;23(9):2432-40.
91. Plecha DM, Pham RM, Klein N, Coffey A, Sattar A, Marshall H. Addition of shear-wave elastography during second-look MR imaging-directed breast US: effect on lesion detection and biopsy targeting. *Radiology*. sept 2014;272(3):657-64.
92. Cho N, Moon WK, Park J-S. Real-time US elastography in the differentiation of suspicious microcalcifications on mammography. *Eur Radiol*. juill 2009;19(7):1621-8.
93. Taylor K, O'Keeffe S, Britton PD, Wallis MG, Treece GM, Housden J, et al. Ultrasound elastography as an adjuvant to conventional ultrasound in the preoperative assessment of axillary lymph nodes in suspected breast cancer: a pilot study. *Clin Radiol*. nov 2011;66(11):1064-71.
94. Choi JJ, Kang BJ, Kim SH, Lee JH, Jeong SH, Yim HW, et al. Role of sonographic elastography in the differential diagnosis of axillary lymph nodes in breast cancer. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med*. avr 2011;30(4):429-36.

95. Park YM, Fornage BD, Benveniste AP, Fox PS, Bassett RL Jr, Yang WT. Strain elastography of abnormal axillary nodes in breast cancer patients does not improve diagnostic accuracy compared with conventional ultrasound alone. *AJR Am J Roentgenol.* déc 2014;203(6):1371-8.
96. Tourasse C, Dénier JF, Awada A, Gratadour A-C, Nessah-Bousquet K, Gay J. Elastography in the assessment of sentinel lymph nodes prior to dissection. *Eur J Radiol.* nov 2012;81(11):3154-9.
97. Boisserie-Lacroix M, Bullier B, Hurtevent-Labrot G, Ferron S, Lippa N, Mac Grogan G. Correlation between imaging and prognostic factors: molecular classification of breast cancers. *Diagn Interv Imaging.* févr 2014;95(2):227-33.
98. Grajo JR, Barr RG. Strain elastography for prediction of breast cancer tumor grades. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med.* janv 2014;33(1):129-34.
99. Choi WJ, Kim HH, Cha JH, Shin HJ, Kim H, Chae EY, et al. Predicting prognostic factors of breast cancer using shear wave elastography. *Ultrasound Med Biol.* févr 2014;40(2):269-74.
100. Chang JM, Park IA, Lee SH, Kim WH, Bae MS, Koo HR, et al. Stiffness of tumours measured by shear-wave elastography correlated with subtypes of breast cancer. *Eur Radiol.* sept 2013;23(9):2450-8.
101. Evans A, Whelehan P, Thomson K, McLean D, Brauer K, Purdie C, et al. Invasive breast cancer: relationship between shear-wave elastographic findings and histologic prognostic factors. *Radiology.* juin 2012;263(3):673-7.
102. Evans A, Rauchhaus P, Whelehan P, Thomson K, Purdie CA, Jordan LB, et al. Does shear wave ultrasound independently predict axillary lymph node metastasis in women with invasive breast cancer? *Breast Cancer Res Treat.* janv 2014;143(1):153-7.
103. Ganau S, Andreu FJ, Escribano F, Martín A, Tortajada L, Villajos M, et al. Shear-wave elastography and immunohistochemical profiles in invasive breast cancer: Evaluation of maximum and mean elasticity values. *Eur J Radiol.* 12 janv 2015;
104. Giordano SH. Update on locally advanced breast cancer. *Oncologist.* 2003;8(6):521-30.
105. Fournier LS, Oudard S, Thiam R, Trinquart L, Banu E, Medioni J, et al. Metastatic renal carcinoma: evaluation of antiangiogenic therapy with dynamic contrast-enhanced CT. *Radiology.* août 2010;256(2):511-8.
106. Ah-See ML, Makris A, Taylor NJ, Harrison M, Richman PI, Burcombe RJ, et al. Early changes in functional dynamic magnetic resonance imaging predict for pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in primary breast cancer. *Clin Cancer Res.* 15 oct 2008;14(20):6580-9.
107. O'Flynn EA, DeSouza NM. Functional magnetic resonance: biomarkers of response in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2011;13(1):204.
108. Park SH, Moon WK, Cho N, Song IC, Chang JM, Park IA, et al. Diffusion-weighted MR imaging: pretreatment prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Radiology.* oct 2010;257(1):56-63.
109. Hayashi M, Yamamoto Y, Ibusuki M, Fujiwara S, Yamamoto S, Tomita S, et al. Evaluation of tumor stiffness by elastography is predictive for pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Ann Surg Oncol.* sept 2012;19(9):3042-9.

110. Evans A, Armstrong S, Whelehan P, Thomson K, Rauchhaus P, Purdie C, et al. Can shear-wave elastography predict response to neoadjuvant chemotherapy in women with invasive breast cancer? *Br J Cancer*. 26 nov 2013;109(11):2798-802.
111. Alvarez R, Musteanu M, Garcia-Garcia E, Lopez-Casas PP, Megias D, Guerra C, et al. Stromal disrupting effects of nab-paclitaxel in pancreatic cancer. *Br J Cancer*. 20 août 2013;109(4):926-33.
112. Rafaelsen SR, Vagn-Hansen C, Sorensen T, Lindebjerg J, Ploen J, Jakobsen A. Ultrasound elastography in patients with rectal cancer treated with chemoradiation. *Eur J Radiol*. juin 2013;82(6):913-7.
113. Falou O, Sadeghi-Naini A, Prematilake S, Sofroni E, Papanicolau N, Iradji S, et al. Evaluation of neoadjuvant chemotherapy response in women with locally advanced breast cancer using ultrasound elastography. *Transl Oncol*. févr 2013;6(1).
114. Yu L, Yang W, Cai X, Shi D, Fan Y, Lu H. Centrally necrotizing carcinoma of the breast: clinicopathological analysis of 33 cases indicating its basal-like phenotype and poor prognosis. *Histopathology*. août 2010;57(2):193-201.
115. Lee SH, Moon WK, Cho N, Chang JM, Moon HG, Han W, et al. Shear-wave elastographic features of breast cancers: comparison with mechanical elasticity and histopathologic characteristics. *Invest Radiol*. mars 2014;49(3):147-55.
116. Barr RG. Shear wave imaging of the breast: still on the learning curve. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med*. mars 2012;31(3):347-50.
117. Zhou J, Zhan W, Chang C, Zhang X, Jia Y, Dong Y, et al. Breast lesions: evaluation with shear wave elastography, with special emphasis on the « stiff rim » sign. *Radiology*. juill 2014;272(1):63-72.
118. Lee EJ, Jung HK, Ko KH, Lee JT, Yoon JH. Diagnostic performances of shear wave elastography: which parameter to use in differential diagnosis of solid breast masses? *Eur Radiol*. juill 2013;23(7):1803-11.
119. Au FW-F, Ghai S, Moshonov H, Kahn H, Brennan C, Dua H, et al. Diagnostic performance of quantitative shear wave elastography in the evaluation of solid breast masses: determination of the most discriminatory parameter. *AJR Am J Roentgenol*. sept 2014;203(3):W328-36.
120. Wang ZL, Li JL, Li M, Huang Y, Wan WB, Tang J. Study of quantitative elastography with supersonic shear imaging in the diagnosis of breast tumours. *Radiol Med*. juin 2013;118(4):583-90.
121. Chamming's F, Latorre-Ossa H, Le Frere-Belda MA, Fitoussi V, Quibel T, Assayag F, et al. Shear wave elastography of tumour growth in a human breast cancer model with pathological correlation. *Eur Radiol*. août 2013;23(8):2079-86.
122. Marangoni E, Vincent-Salomon A, Auger N, Degeorges A, Assayag F, de Cremoux P, et al. A new model of patient tumor-derived breast cancer xenografts for preclinical assays. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 juill 2007;13(13):3989-98.
123. Kim S, Choi S, Choi Y, Kook S-H, Park HJ, Chung EC. Diagnostic performance of shear wave elastography of the breast according to scanning orientation. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med*. oct 2014;33(10):1797-804.

124. Lee SH, Cho N, Chang JM, Koo HR, Kim JY, Kim WH, et al. Two-view versus single-view shear-wave elastography: comparison of observer performance in differentiating benign from malignant breast masses. *Radiology*. févr 2014;270(2):344-53.
125. Youk JH, Gweon HM, Son EJ, Chung J, Kim JA, Kim EK. Three-dimensional shear-wave elastography for differentiating benign and malignant breast lesions: comparison with two-dimensional shear-wave elastography. *Eur Radiol*. juin 2013;23(6):1519-27.
126. Lee SH, Chang JM, Kim WH, Bae MS, Cho N, Yi A, et al. Differentiation of benign from malignant solid breast masses: comparison of two-dimensional and three-dimensional shear-wave elastography. *Eur Radiol*. avr 2013;23(4):1015-26.
127. Barr RG, Zhang Z. Effects of precompression on elasticity imaging of the breast: development of a clinically useful semiquantitative method of precompression assessment. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med*. juin 2012;31(6).
128. Wang Y, Orescanin M, Insana MF. In vivo measurement of the complex shear modulus of rat mammary tumors using shear wave imaging techniques. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2010;2010:29-32.
129. Cosgrove DO, Berg WA, Dore CJ, Skyba DM, Henry J-P, Gay J, et al. Shear wave elastography for breast masses is highly reproducible. *Eur Radiol*. mai 2012;22(5):1023-32.

# Annexe 1

## **Shear wave elastography of tumour growth in a human breast cancer model with pathological correlation**

Foucauld Chamming's ; H. Latorre-Ossa ; M. A. Le Frère-Belda ; V. Fitoussi ; T. Quibel ;  
F. Assayag ; E. Marangoni ; G. Autret ; D. Balvay ; L. Pidial ; J. L. Gennisson ; M. Tanter ;  
C.A. Cuenod ; O.Clément ; L. S. Fournier.

Eur Radiol. 2013 Aug;23(8):2079-86



# Shear wave elastography of tumour growth in a human breast cancer model with pathological correlation

Foucauld Chamming's · H. Latorre-Ossa ·  
M. A. Le Frère-Belda · V. Fitoussi · T. Quibel ·  
F. Assayag · E. Marangoni · G. Autret · D. Balvay ·  
L. Pidial · J. L. Gennisson · M. Tanter · C. A. Cuenod ·  
O. Clément · L. S. Fournier

Received: 28 September 2012 / Revised: 1 February 2013 / Accepted: 15 February 2013 / Published online: 4 April 2013  
© European Society of Radiology 2013

## Abstract

**Objective** To assess stiffness in a human breast cancer implanted in mice using shear wave elastography (SWE) during tumour growth and to correlate the results with pathology. **Methods** Local ethics committee for animal research approval was obtained. A human invasive ductal carcinoma was implanted subcutaneously in 24 athymic nude female mice. Ultrasound was longitudinally performed in 22 tumours, every 1–2 weeks. Maximum diameter and mean stiffness were collected. Seven tumours were measured both in vivo and ex

vivo. Tumours of different sizes were removed for pathological analysis on which the percentages of viable cellular tissue, fibrosis and necrosis were measured.

**Results** A total of 63 SWE measurements were performed. Stiffness increased during tumour growth with an excellent correlation with size ( $r=0.94$ ,  $P<0.0001$ ). No differences were found between the values of stiffness in vivo and ex vivo ( $P=0.81$ ). There was a significant correlation between elasticity and fibrosis ( $r=0.83$ ,  $P<0.0001$ ), a negative correlation with necrosis ( $r=-0.76$ ,  $p=0.0004$ ) but no significant correlation with cellular tissue ( $r=0.40$ ,  $p=0.1$ ).

**Conclusion** Fibrosis plays an important role in stiffness as measured by SWE, whereas necrosis is correlated with softness.

## Key Points

- In a breast cancer model, ultrasound tumour stiffness is correlated with size.
- Stiffness changes with tumour growth are correlated with pathological changes.
- Stiffness is very well correlated with proportion of tumour fibrosis.
- Stiffness is inversely correlated with proportion of tumour necrosis.
- Tumour stiffness measurements are similar in vivo and ex vivo.

F. Chamming's · V. Fitoussi · T. Quibel · G. Autret · D. Balvay ·  
L. Pidial · C. A. Cuenod · O. Clément · L. S. Fournier  
Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, INSERM UMR-  
S970, Cardiovascular Research Center-PARCC, Paris, France

F. Chamming's (✉) · C. A. Cuenod · O. Clément · L. S. Fournier  
Radiology Department, Université Paris Descartes Sorbonne Paris  
Cité, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen  
Georges Pompidou, 20 rue Leblanc,  
75908 Paris cedex 15, France  
e-mail: fchammings@yahoo.fr

H. Latorre-Ossa · J. L. Gennisson · M. Tanter  
Institut Langevin Ondes et Images, ESPCI ParisTech, CNRS UMR  
7587, INSERM U979, Paris, France

M. A. Le Frère-Belda  
Pathology Department, Université Paris Descartes Sorbonne Paris  
Cité, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen  
Georges Pompidou, Paris, France

F. Assayag · E. Marangoni  
Institut Curie, Translational Research Department,  
Hôpital Saint-Louis, Laboratory of Preclinical Investigations,  
Quadrilatère historique, porte 13-1 rue Claude Vellefaux,  
75010 Paris, France

**Keywords** Shear wave elastography · Ultrasound · Breast cancer · Small animal imaging · Pathology

## Introduction

Breast cancer is the most commonly diagnosed cancer and the leading cause of cancer-related death in women worldwide,

accounting for 23 % of the total number of new cases of cancer and 14 % (458,400) of cancer deaths in 2008 [1].

Imaging, essentially based on mammography and ultrasound (US), plays a key role in detecting cancers as early as possible. Characterisation of abnormalities as benign or malignant is based on morphological criteria, defined in the BI-RADS lexicon (Breast Imaging Reporting And Data System) of the ACR (American College of Radiology) [2]. However, morphological criteria are not always sufficient to characterise breast tumours [3–5]. Since studies have shown that malignant tumours have significantly higher stiffness values than benign lesions [6], one new approach that could improve the characterisation of breast lesions is to evaluate tumour stiffness by elastography [7–10]. Shear wave elastography (SWE), which is the only truly quantitative approach to elastography, recently demonstrated that associated with the classical morphological criteria, it could improve the characterisation of breast masses [11, 12]. However, results of recent studies about SWE and breast tumour histological type are unexpected. In a recent work, Chang et al. found that mucinous cancer, which is usually observed to be softer by pathologists, demonstrated higher stiffness values than other types of breast cancer [12]. Recently, Evans et al. demonstrated a relationship between SWE findings and histological prognostic factors [13]. However, they give no information on the tumour pathological features underlying the stiffness phenomenon. A comprehensive approach to SWE of breast cancer is needed to improve the understanding of SWE images and their relationship with pathology. Though they give no explanation of this result, Berg et al. and Chang et al. both found that, in breast cancers, larger lesions were stiffer. This suggests that a tumour in different stages of its growth could be a good model to compare histological features and stiffness.

The purpose of this study was to quantitatively assess stiffness using SWE during tumour growth in a human breast cancer implanted in mice and to correlate the results with pathological features.

## Materials and methods

### Tumour model

Local ethics committee for animal research approval was obtained. Fragments of a human tumour xenograft model called HBCx-3 [14] (invasive ductal carcinoma; luminal B: oestrogen receptor positive; progesterone receptor positive; Her2 negative) were engrafted in the interscapular fat pad of twenty-four 5-week-old athymic Swiss nude female mice (Janvier®, Saint Berthevin, France). One millilitre of an oestrogen solution (0.85 mg/mL of  $\beta$ -oestradiol) was added to 100 mL of drinking water. The animals were then monitored twice a week for signs of tumour growth.

### Shear wave elastography

Ultrasound tumour measurements were performed every 1 or 2 weeks during tumour growth, starting from the moment the tumour became palpable, yielding 6 groups of 3–5 tumours of comparable size. Images were acquired with the ultrasound device Aixplorer (SuperSonic Imagine, Aix en Provence, France) using a 15-MHz superficial probe dedicated to research (Vermon, Tours, France). Once the mice were anaesthetised using isoflurane (Aerrane®; Baxter S.A.S, Maurepas, France), the tumours were covered with ultrasound gel. Particular attention was paid to minimise the number of air bubbles in the gel, which are responsible for artefacts. All acquisitions were performed in the transverse plane. B-mode images were first acquired to measure maximum tumour diameter (MTD). Second, SWE mode was performed using the SonicSoftware® tool (Supersonic Imagine, Aix en Provence, France). A colour map representing stiffness values in kilopascals (kPa) in each pixel of the image was obtained. SWE was always performed using the penetration mode with a colour scale ranging from 0 (transparent) to 60 kPa (red) arbitrarily chosen in the beginning of the study according to stiffness values we expected. The penetration mode allows one to use the ultrasonic probe with two different ultrasound frequencies in order to increase signal to noise ratio. The shear waves are generated at 9 MHz and imaged at 15 MHz to keep a high image resolution as described elsewhere [5]. A circular region of interest (ROI), defined to be the biggest possible while entirely included within the tumour, was manually positioned. ROI diameter, mean values of stiffness and standard deviation were recorded. Three elastography acquisitions were performed for each tumour after repositioning the transducer for evaluation of repeatability.

### In vivo/ex vivo comparison

Seven tumours were used (six tumours implanted specifically for this experiment and one picked from the longitudinal study) for this evaluation. After in vivo SWE measurement as described above, the mice were killed, tumours were removed and placed in agar-gelatin, composed of a mixture of water with a 5 % volume of gelatin and a 2 % volume of agar, and stiffness measurements were performed again. This experiment was meant to test the influence of tissue interfaces on the elastography images and quantitative values measured in vivo.

### Pathology

A total of 17 tumours were sampled at different sizes (one tumour of each size group at each measure) and removed

**Table 1** Number of mice, tumour size and stiffness characteristics in the study population

	Measurement 1	Measurement 2	Measurement 3	Measurement 4	Measurement 5
Time from tumour graft (days)	33 [28; 43]	42 [39; 52]	56 [52; 73]	70 [66; 70]	84 [79; 84]
Number of mice measured ( <i>n</i> )	22	19	14	5	3
Removal for pathology ( <i>n</i> )	3	4	5	2	3
Accidental death	0	1	4	0	0
MTD (mm)	5.7 [4.5; 6.4]	7.6 [6.6; 8.6]	10.2 [8.1; 12.3]	12.2 [11.6; 12.8]	15.8 [14.6; 15.9]
Median ROI diameter (mm)	4 [2; 4.75]	5 [4; 6]	6 [5; 8]	7 [6; 8.5]	9 [9; 9.5]
Stiffness (kPa)	10.3 [7.8; 13.5]	23.5 [19.7; 28.9]	42.6 [29.9; 64.5]	49.6 [41.1; 55.6]	74 [66; 90.8]
Standard deviation of stiffness in ROI	1.3 [0.8; 2.2]	2.5 [1.4; 3.7]	5.6 [2.7; 8.7]	5 [2.2; 12.7]	9.4 [6.4; 17]

The number of tumours measured at each session decreases because of tumour removal for pathology and accidental death. All quantitative parameters are expressed as median [IQR]

ROI region of interest, MTD maximum tumour diameter

after killing the animal for pathological analysis. Tumours were placed in formalin solution. After 24–48 h they were cut in two through the transverse plane, embedded in paraffin and stained with (1) HES (haematoxylin eosin safran) and (2) Masson's trichrome. The 34 slides were then digitally scanned (2 slides—1 stained with HES and another with Masson's trichrome—for each tumour) (digitiser Hamamatsu Photonics®, Massy, France). Tumour images were analysed using the NDP.1.2.33 view software® (Hamamatsu Photonics, Massy, France).

The HBCx-3 model was composed of three different areas: a cellular area containing viable tumour cells, a fibrotic area mostly composed of collagen fibres, and a necrotic area containing no viable tumour cells and few collagen fibres. We quantified these three different areas, blinded to elastography results, in collaboration with a pathologist (MALFB, 20 years experience in breast pathology). The respective percentage of surface occupied by each pathological feature was measured by an author (FC) who manually delineated the fibrotic area on the slides stained with Masson's trichrome and the necrotic area on the slides stained with HES. The cellular area was calculated as the remaining percentage.

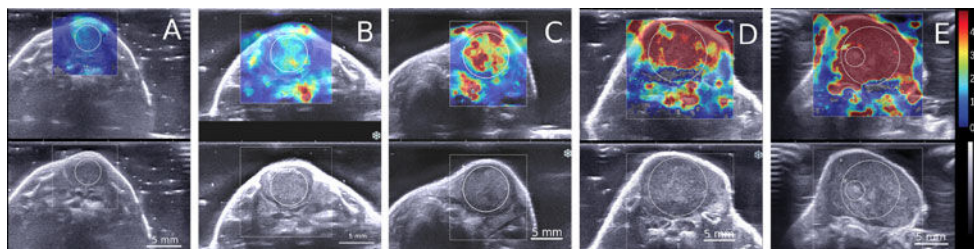
### Statistical analysis

Results for quantitative parameters are given as median and interquartile range [IQR] for MTD, mean  $\pm$  standard deviation of stiffness of the pixels within the ROI for tumour stiffness values and as mean  $\pm$  standard deviation for pathological parameters. Correlation coefficients between stiffness values and the pathological features were calculated using the Spearman correlation test. A paired Student *t* test was used for comparison between in vivo and ex vivo stiffness values.

In tumours removed for pathological analysis, for the sake of comparison between stiffness and pathological features, three groups of tumours were defined corresponding to tertiles of stiffness values: group 1 = soft tumours ( $n=6$ ; 8.2–21.9 kPa); group 2 = intermediate tumours ( $n=6$ ; 26.8–61 kPa); group 3 = stiff tumours ( $n=5$ ; 65.7–107.6 kPa).

Variance of pathological features between these groups was calculated using a one-way analysis of variance with Bonferonni adjustment.

Repeatability of elastography measurement was evaluated by calculating mean (*m*), standard deviation ( $\sigma$ ) and variation coefficient ( $\sigma/m$ ) of three repeated measurements performed by the same examiner on each tumour.



**Fig. 1** Colour maps of stiffness (range 0–60 kPa) with corresponding B-mode US view in the transverse plane of a tumour in one mouse, measured five times at **a** day 35 (diameter, 7 mm; mean stiffness value, 13.6 kPa), **b** day 42 (8 mm, 21.1 kPa), **c** day 56 (10 mm, 36.4 kPa), **d** day 70 (14 mm, 56.9 kPa) and **e** day 84 (16 mm, 107.6 kPa). Maps are

colour-coded to represent values of stiffness in each pixel, ranging from blue (*low*) to red (*high*), with the same colour scale for all measurements. The *white circles* correspond to the regions of interest within which the mean stiffness value was measured

The  $P$  values calculated were two-sided, and  $P < 0.05$  was considered a statistically significant difference.

## Results

### Tumour model

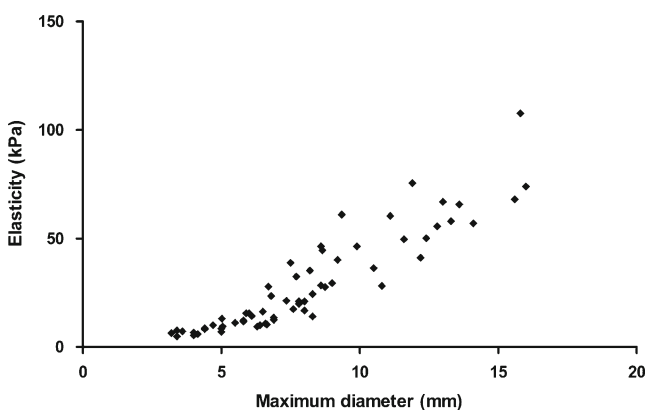
The characteristics of the study population are given in Table 1. Because of accidental death, 22 tumours were longitudinally measured. The delay between implantation and the time the tumour became palpable (latency) was variable, ranging from 17 to 56 days. Tumour measurements therefore began at different times for each tumour. Moreover, because of tumour removal for pathology and accidental deaths, MTD was recorded longitudinally during tumour growth from one to five times per tumour. Three tumours were measured longitudinally five times, 2 tumours four times, 9 tumours three times, 5 tumours twice and 3 tumours only once.

### Shear wave elastography

Sixty-three stiffness measurements were obtained (Table 1). The intra-observer measurements' average standard deviation was 3.3 and the intra-observer average variation coefficient was 12.5 %. Median value of ROI diameter was 5 mm

Longitudinal measurements showed an increase in mean values in the ROI of tumour stiffness over time. Figure 1 shows an example of changes in tumour stiffness in the same tumour over time. There was an excellent correlation between the mean tumour stiffness value and the maximum diameter (Fig. 2) with  $r = 0.94$ ,  $P < 0.0001$ .

The stiffness colour maps became more and more heterogeneous as tumour stiffness increased. The median standard deviation (SD) values of stiffness in pixels within the ROI increased over time from 1.3 to 9.4 kPa (Table 2).



**Fig. 2** Stiffness value (kPa) according to tumour size (mm). As tumours grew, average stiffness in the ROI increased with an excellent correlation to size ( $r = 0.94$ ,  $p < 0.0001$ )

**Table 2** Proportion of 'necrosis', 'viable cellular tissue', and 'fibrosis' for each stiffness group

	Group 1 (soft) (12.8± 5.4 kPa)	Group 2 (intermediate) (49.3±12.1 kPa)	Group 3 (stiff) (78.6± 16.9 kPa)
Necrosis proportion (%)	40 (±9.9) <sup>†</sup>	25.9 (±13.6)	18 (±11.1) <sup>†</sup>
Cellular tissue proportion (%)	57.8 (±8.4)	70.1 (±13.3)	65.9 (±12.2)
Fibrosis proportion (%)	2.1 (±1.7) <sup>†</sup>	3.9 (±3.8) <sup>*</sup>	16 (±6) <sup>†*</sup>

Values are given as mean (±SD). \* and † indicate significant differences between groups

### In vivo/ex vivo comparison of stiffness values

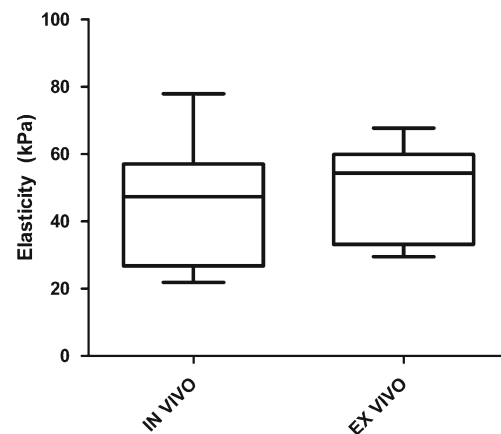
In seven tumours, we observed no significant difference between the stiffness measurements performed in vivo or ex vivo ( $P = 0.81$ ). Results are shown in Fig. 3. Size of tumours used for this experiment ranged from 6.1 to 13.9 mm, and in vivo stiffness values from 21.9 to 77.9 kPa.

### Pathology

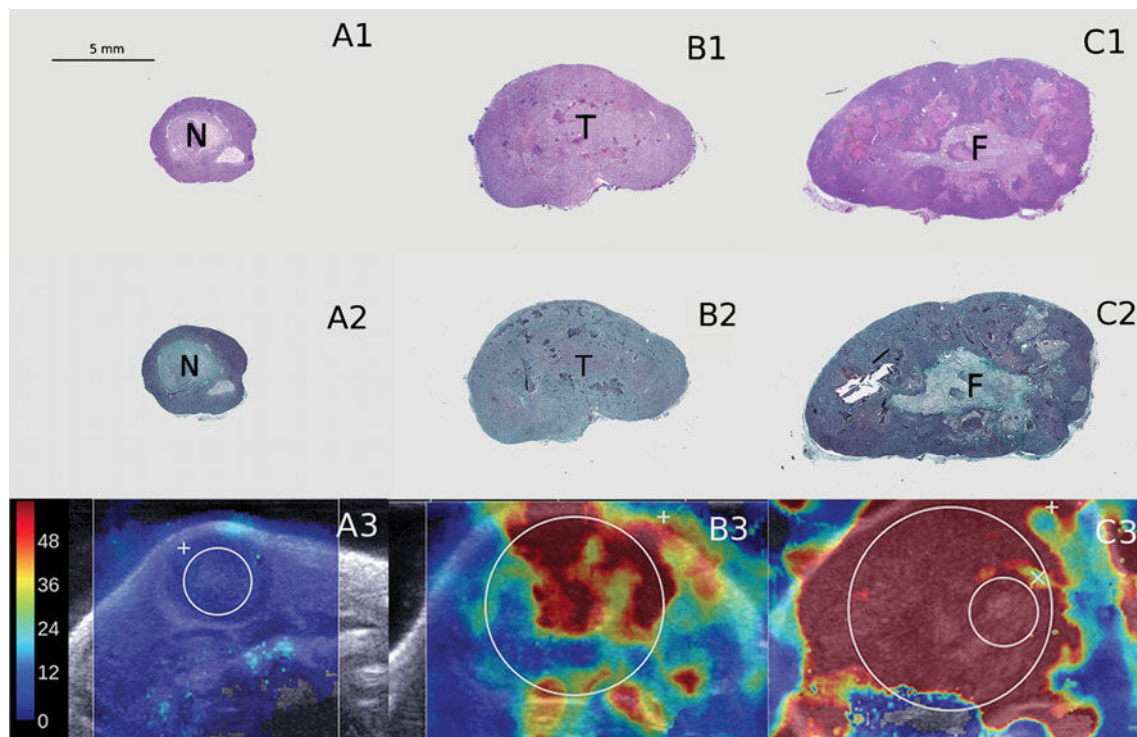
Size of tumours used for this experiment ranged from 4 to 16.6 mm, and stiffness values from 8.2 to 107.6 kPa.

Figure 4 shows examples of tumours of each stiffness tertile at low magnification after HES staining with corresponding stiffness colour-coded maps.

Mean values with standard deviations of the proportion of each pathological area for the three groups of stiffness (group 1 = soft; group 2 = intermediate; group 3 = stiff) are shown in Table 2 and Fig. 5.



**Fig. 3** Box plot (showing the minimum, lower quartile, median, upper quartile and maximum stiffness values) of in vivo and ex vivo stiffness values. No significant difference was found between values of stiffness whether measured in situ or excised and included in gelatin ( $p = 0.81$ ). There was less variability in measurements performed ex vivo



**Fig. 4** Tumours of different size after HES (A1–C1) and Masson's trichrome (A2–C2) staining at low magnification with corresponding stiffness colour-coded maps with a 0–60 kPa range (A3–C3). *A* Very small (5 mm) and very soft (9 kPa) tumour showing a large acellular

necrotic centre (*N*). In *B* the proportion of cellular tissue (*T*) increased progressively in intermediate stiffness tumour (50 kPa) of bigger size (11 mm). *C* In the biggest tumours (16 mm), with the highest stiffness values (108 kPa), the proportion of fibrosis (*F*) is sharply increased

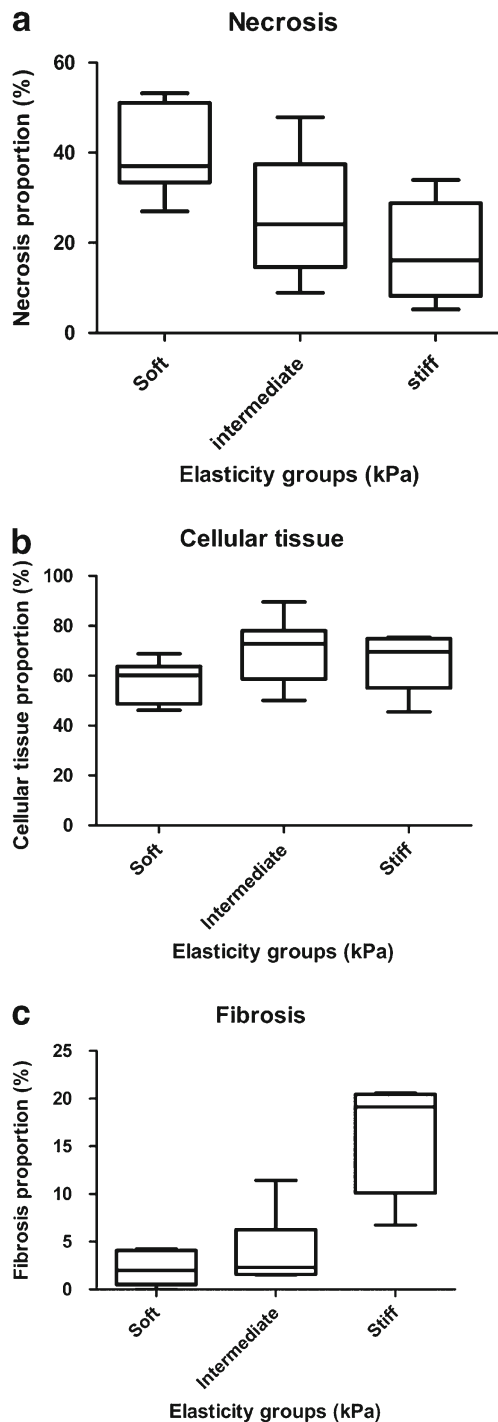
We observed that the proportion of necrosis decreased with stiffness ( $P=0.02$ ). The difference of percentage of necrosis was significant between group 3 and group 1 (respectively 40 vs. 18 %), but not between the other groups. We showed no significant changes in the proportion of cellular tissue according to stiffness group ( $P=0.2$ ), even though we observe a non-significant and transitory increase in group 2. The proportion of fibrosis increased with stiffness ( $P<0.0001$ ), particularly in the stiffest tumours. There was a significant difference between groups 3 and 2 (respectively 16 vs. 3.9 %) but not between groups 2 and 1. In all 17 tumours, there was a significant negative correlation between elasticity and percentage of necrosis ( $r=-0.76$ ,  $p=0.0004$ ), no significant correlation with percentage of cellular tissue ( $r=0.4$ ,  $p=0.1$ ) and a very significant positive correlation with percentage of fibrosis ( $r=0.83$ ,  $p<0.0001$ ).

## Discussion

This study shows that, in this human breast invasive ductal carcinoma model, tissue stiffness values increased during tumour growth with an excellent correlation with MTD. We showed that stiffness changes were related to underlying pathological modifications i.e. mainly an increase in fibrosis

and a decrease in necrosis in the stiffest tumours. Increase of the standard deviation of stiffness values in the pixels of the ROI during tumour growth confirmed the visual impression that stiffness heterogeneity also increased with tumour MTD.

In previous clinical works, Evans et al. [13] and Chang et al. [12] observed that small cancers were softer than larger ones, indicating that tumour size as well as the specific histological type of breast lesion can also affect stiffness values. However, to our knowledge, the underlying composition of tumours explaining this increasing stiffness has not been studied previously. In this work, pathological slides were digitised and a method of quantifying the different histological elements was defined over the entire tumour, which allowed comparisons between tumours of different sizes. The histopathological analysis showed that this tumour model was composed of three different areas: a viable cellular tissue area, most often arranged as a peripheral ring, and central fibrotic or necrotic areas. In this specific xenograft's natural history, the percentage of necrosis is highest in small tumours, which are very soft. It seems that as tumours grow, cells proliferate and the proportion of necrosis decreases, and tumours become stiffer. In the largest tumours, the proportion of cellular tissue decreases slightly, possibly because the vessel supply is not sufficient, and is not replaced by necrosis but rather by fibrosis, which may



**Fig. 5** Proportion (%) of necrosis (a), cellular tissue (b) and fibrosis (c) according to stiffness group (group 1 = soft tumours; group 2 = intermediate tumours; group 3 = stiff tumours). **a** The proportion of necrosis decreased with stiffness ( $P=0.02$ ). **b** We found no significant changes in the proportion of cellular tissue ( $P=0.2$ ), even though we observe a non-significant and transitory increase in group 2. **c** The proportion of fibrosis increased with stiffness ( $P<0.0001$ ), particularly in group 3

therefore be responsible for the highest values of stiffness. Indeed, we have shown a very significant correlation

between stiffness and fibrosis. Historically, fibrosis has been known to be related to stiffness; the word *scleros* (as in sclerotic) means ‘hard’ in ancient Greek. In liver diseases, it has also been shown that fibrosis, as quantified by the ‘metavir’ score, was related to increased stiffness [15–19].

This is, to our knowledge, the first study assessing SWE in a human breast cancer model implanted in small animals. Several studies have been conducted to assess the usefulness of elastography in clinical practice [20–22] as well as in vitro physics models [23–25], but few have been performed in vivo in small animals [26, 27], which have the advantage of allowing longitudinal monitoring during tumour growth. The large range of stiffness values we thus obtained in relation to tumour size confirmed that this model was valuable to assess the previously reported relationship between stiffness and size and to explore what specific tumour histological composition may account for it. Furthermore, this breast carcinoma xenograft tumour conserves the pathological morphological and molecular characteristics of the corresponding patient’s tumour [14]. Therefore, our results, though not directly superimposable to in situ human cancers, provide data about the relationship between breast cancer and stiffness.

In this study, we measured mean stiffness in a circular ROI defined to be the biggest possible while entirely included within the tumour. In previous clinical studies, authors measured stiffness in an ROI placed over the stiffest area anywhere within or adjacent to the lesion. As Evans et al. observed many cancers are not uniformly stiff but have a halo of peritumoral stromal stiffness. There is therefore often no measurable signal in the centre of the tumour and, if any, is possibly not representative of the real stiffness of the underlying tissue. On the contrary, in our model, we obtained an elastography signal nearly over the entire tumour. Moreover, in order to demonstrate correlation between stiffness and pathology, as we studied the pathological features of the overall tumour, we needed an average elastography measurement of the overall tumour. Small tumours were often round and larger tumours demonstrated an oval shape. However we used a circular ROI for all tumours. We indeed considered that, as even for the largest tumours, the ROI covered most of the lesion, stiffness measurement within the ROI was representative of overall tumour stiffness.

During data acquisition, we observed that the anatomical environment (skin, spine, bones) of the tumour could be responsible for artefacts. This is why, to validate our in vivo results, we first compared SWE measurement in seven tumours in vivo and ex vivo in a homogeneous gel. We found no significant difference between these two groups showing that SWE measurement does not depend on the anatomical environment of the tumour in this xenograft model implanted in the ‘fat pad’ of nude mice. The repeatability of three consecutive measurements performed by the same operator in each tumour was good with an average standard deviation

of 3.3 and an intra-observer average variation coefficient of 12.5 % (for stiffness values ranging from 4.9 to 107.6 kPa). This result is consistent with a recent study by Wang et al. [26] who measured shear modulus constants, acquired on spontaneously growing rat mammary tumours, and demonstrated that reproducible measurements were possible in vivo. Previous works performed in clinical conditions also showed a good reproducibility and repeatability of SWE in clinical conditions [28, 29].

There are limits to this animal study. Firstly, we did not compare different histological types of tumours. Therefore, we could not show pathological differences between two different tumours of specific histological type or between malignant and benign lesions. However, this was not the aim of our study because previous publications have already shown stiffness differences between breast cancers and benign lesions [6]. Secondly, the results of these experiments are not directly applicable to human breast normal and tumour tissues. Indeed, our tumour model was implanted under the skin. Chang et al. showed that in humans, the breast thickness at the location of the tumour may influence elastography image quality of breast masses [30]. Peritumoral inflammatory reaction may also play a role in SWE image pattern. Furthermore, a central necrosis is also not commonly found in small human breast cancers [31] and is probably observed in our model because it is a xenograft.

In conclusion, SWE was able to measure stiffness changes during tumour growth in a human breast cancer model implanted in mice, reflecting underlying pathological changes and demonstrating the role of fibrosis in stiffness. This in vivo preclinical study may serve as a basis for further preclinical studies in other tumour models, and clinical studies in humans correlating pathological features to quantitative elastography measurements.

**Acknowledgments** J.L. Gennisson is a consultant for Supersonic Imagine. M. Tanter received royalties and holds stock options in SupersonicImagine. F. Chamming's received grants from Société Française de Radiologie.

## References

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D (2011) Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 61:69–90
- Abdullah N, Mesurolle B, El-Khoury M, Kao E (2009) Breast imaging reporting and data system lexicon for US: interobserver agreement for assessment of breast masses. *Radiology* 252:665–672
- Homer MJ (1987) Imaging features and management of characteristically benign and probably benign breast lesions. *Radiol Clin North Am* 25:939–951
- Hall FM (2002) Negative predictive value of breast imaging in patients with palpable lesions. *AJR Am J Roentgenol* 179:1073, author reply 1073–1074
- Rosen EL, Baker JA, Soo MS (2002) Malignant lesions initially subjected to short-term mammographic follow-up. *Radiology* 223:221–228
- Athanasίου A, Tardivon A, Tanter M et al (2010) Breast lesions: quantitative elastography with supersonic shear imaging—preliminary results. *Radiology* 256:297–303
- Cho N, Moon WK, Chang JM et al (2011) Sonoelastographic lesion stiffness: preoperative predictor of the presence of an invasive focus in nonpalpable DCIS diagnosed at US-guided needle biopsy. *Eur Radiol* 21:1618–1627
- Lee JH, Kim SH, Kang BJ et al (2011) Role and clinical usefulness of elastography in small breast masses. *Acad Radiol* 18:74–80
- Itoh A, Ueno E, Tohno E et al (2006) Breast disease: clinical application of US elastography for diagnosis. *Radiology* 239:341–350
- Yi A, Cho N, Chang JM, Koo HR, La Yun B, Moon WK (2012) Sonoelastography for 1,786 non-palpable breast masses: diagnostic value in the decision to biopsy. *Eur Radiol* 22:1033–1040
- Berg WA, Cosgrove DO, Dore CJ et al (2012) Shear-wave elastography improves the specificity of breast US: the BE1 multinational study of 939 masses. *Radiology* 262:435–449
- Chang JM, Moon WK, Cho N et al (2011) Clinical application of shear wave elastography (SWE) in the diagnosis of benign and malignant breast diseases. *Breast Cancer Res Treat* 129:89–97
- Evans A, Whelehan P, Thomson K et al (2012) Invasive breast cancer: relationship between shear-wave elastographic findings and histologic prognostic factors. *Radiology* 263:673–677
- Marangoni E, Vincent-Salomon A, Auger N et al (2007) A new model of patient tumor-derived breast cancer xenografts for pre-clinical assays. *Clin Cancer Res* 13:3989–3998
- Nitta Y, Kawabe N, Hashimoto S et al (2009) Liver stiffness measured by transient elastography correlates with fibrosis area in liver biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Hepato Res* 39:675–684
- Bavu E, Gennisson JL, Couade M et al (2011) Noninvasive in vivo liver fibrosis evaluation using supersonic shear imaging: a clinical study on 113 hepatitis C virus patients. *Ultrasound Med Biol* 37:1361–1373
- Mueller S, Millonig G, Sarovska L et al (2010) Increased liver stiffness in alcoholic liver disease: differentiating fibrosis from steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 16:966–972
- Palmeri ML, Wang MH, Rouze NC et al (2011) Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using acoustic radiation force-based shear stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 55:666–672
- Ziol M, Kettaneh A, Ganne-Carrie N, Barget N, Tengher-Barna I, Beaugrand M (2009) Relationships between fibrosis amounts assessed by morphometry and liver stiffness measurements in chronic hepatitis or steatohepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 21:1261–1268
- Wojcinski S, Farrokh A, Weber S et al (2010) Multicenter study of ultrasound real-time tissue elastography in 779 cases for the assessment of breast lesions: improved diagnostic performance by combining the BI-RADS®-US classification system with sonoelastography. *Ultraschall Med* 31:484–491
- Leong LC, Sim LS, Lee YS et al (2010) A prospective study to compare the diagnostic performance of breast elastography versus conventional breast ultrasound. *Clin Radiol* 65:887–894
- Cho N, Jang M, Lyou CY, Park JS, Choi HY, Moon WK (2012) Distinguishing benign from malignant masses at Breast US: combined US elastography and color Doppler US—influence on radiologist accuracy. *Radiology* 262:80–90
- Ophir J, Cespedes I, Ponnekanti H, Yazdi Y, Li X (1991) Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason Imaging* 13:111–134

24. Sandrin L, Catheline S, Tanter M, Hennequin X, Fink M (1999) Time-resolved pulsed elastography with ultrafast ultrasonic imaging. *Ultrason Imaging* 21:259–272
25. Sandrin L, Tanter M, Catheline S, Fink M (2002) Shear modulus imaging with 2-D transient elastography. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control* 49:426–435
26. Wang Y, Orescanin M, Insana MF (2010) In vivo measurement of the complex shear modulus of rat mammary tumors using shear wave imaging techniques. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2010:29–32
27. Wang MH, Palmeri ML, Guy CD et al (2009) In vivo quantification of liver stiffness in a rat model of hepatic fibrosis with acoustic radiation force. *Ultrasound Med Biol* 35:1709–1721
28. Evans A, Whelehan P, Thomson K et al (2010) Quantitative shear wave ultrasound elastography: initial experience in solid breast masses. *Breast Cancer Res* 12:R104
29. Cosgrove DO, Berg WA, Dore CJ et al (2011) Shear wave elastography for breast masses is highly reproducible. *Eur Radiol* 21:1023–1032
30. Chang JM, Moon WK, Cho N, Kim SJ (2011) Breast mass evaluation: factors influencing the quality of US elastography. *Radiology* 259:59–64
31. Yu L, Yang W, Cai X, Shi D, Fan Y, Lu H (2010) Centrally necrotizing carcinoma of the breast: clinicopathological analysis of 33 cases indicating its basal-like phenotype and poor prognosis. *Histopathology* 57:193–201



# Annexe 2

## **Stiffness reflects pathological changes of breast tumors under therapy**

F. Chamming's ; M. A. Le Frère-Belda ; H. Latorre-Ossa ; V. Fitoussi ; A ; Redheuil ;

F. Assayag ; L. Pidial ; J. L. Gennisson ; M. Tanter ; C. A. Cuénod ; L. S. Fournier.

Soumis, European Journal of Radiology

## Title page

### Title:

Shear Wave Elastography (SWE) of a breast cancer model under therapy with pathological correlation.

### Authors:

Chamming's F MD, PhD (1,2); Le-Frère-Belda MA MD, PhD (3); Latorre H PhD (4); Fitoussi V Msc (1); Redheuil A MD, PhD (2); Assayag F (5); Pidial L Msc (1); Gennisson JL PhD (4); Tanter Mickael PhD (4); Cuenod CA MD, PhD (1,2); Fournier LS MD, PhD (1,2).

1-Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, UMR-S970, Cardiovascular Research Center - PARCC, Paris, France

2-Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Radiology Department, Paris, France

3-Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Pathology Department, Paris, France

4-Institut Langevin-ondes et images, Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielle (ESPCI), Paris, France

5-U612 Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Pharmacologie Pre-clinique Antitumorale, Paris, France

**Corresponding author :**

Foucauld CHAMMING'S

Radiology Department, Hôpital Européen Georges Pompidou

20 rue Leblanc 75908 Paris cedex 15

Tel: 33 (0) 1 56 09 38 36

Fax: 33 (0) 1 56 09 38 50

e-mail : [foucauld.chammings@egp.aphp.fr](mailto:foucauld.chammings@egp.aphp.fr)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8 Shear Wave Elastography (SWE) of a breast cancer model  
9  
10  
11 under therapy with pathological correlation.  
12  
13  
14  
15

16  
17 **ABSTRACT**  
18  
19

20  
21 **Objective:** To evaluate Shear Wave Elastography (SWE) modifications of a human breast  
22  
23 cancer model under therapy and to correlate results with pathology.  
24

25  
26 **Materials and method:** Local ethics committee for animal research approval was obtained. A  
27  
28 human invasive ductal carcinoma was implanted subcutaneously in 22 athymic female mice.  
29  
30 After two weeks, 11 mice were treated with an oral anti-angiogenic therapy and the other 11  
31  
32 with Glucose 5% for 24 days. B-mode ultrasound and shear wave elastography were  
33  
34 performed every week before and under treatment. Pathological analysis was performed 12  
35  
36 and 24 days after the beginning of the treatment.  
37  
38  
39

40  
41 **Results:** We observed a stabilization followed by a decrease in volume only in the treated  
42  
43 tumours, showing that the therapy was efficient. There was an early decrease in stiffness in  
44  
45 the treated tumours, which was associated with a larger amount of necrosis on pathology at  
46  
47 day 12. In a second phase, although volume continued to decrease, stiffness increased in the  
48  
49 treated tumours, which was associated with modifications on pathology that demonstrated in  
50  
51 particular a low proportion of necrosis at day 24.  
52  
53

54  
55 **Conclusion:** SWE was able to measure significant changes in stiffness of a tumour model  
56  
57 under treatment, which may reflect underlying pathological features.  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## KEY WORDS

Elastography; Ultrasound; Breast cancer; Therapy response; Histopathology

## KEY POINTS

- 1: Chemotherapy of breast cancer is associated with modifications in tumour stiffness
- 2: Stiffness modifications may be variable along time under therapy
- 3: Stiffness modifications under therapy reflect pathological changes
- 4: Stiffness as measured by elastography could be a biomarker of therapy response

## INTRODUCTION

Breast cancer is the most commonly diagnosed cancer and the leading cause of cancer-related death in women accounting for 232,340 new cases and 39,620 breast cancer deaths in the United States in 2013 [1]. In patients with locally advanced breast cancer, neo-adjuvant chemotherapy has been established as the standard of care to reduce the size of inoperable tumours for the purpose of breast conservation surgery [2]. However, response to neo-adjuvant chemotherapy is variable, and assessment of therapy efficacy is crucial for planning subsequent management [3]. The reduction of tumour size at clinical examination and

1 imaging, which are the gold standard to assess treatment response, can be delayed particularly  
2 in the case of anti-angiogenic therapies [4]. Yet microscopic biological changes probably  
3 precede macroscopic anatomical changes [5]. Functional imaging such as Diffusion-weighted  
4 (DW) or Dynamic-Contrast Enhanced (DCE) MRI is therefore believed to be an alternative to  
5 morphologic criteria for the early evaluation of treatment efficacy [6–8]. Stiffness could also  
6 be an interesting parameter to assess treated tissues since response to therapy is associated  
7 with cell death and changes in the biomechanical properties of the tumours [9]. Ultrasound  
8 elastography is a relatively recent technique that reflects tissue stiffness. Strain elastography  
9 is a semi quantitative method based on manual compression of the tissues [10] whereas Shear  
10 Wave Elastography (SWE) is a quantitative technique based on the generation of an acoustic  
11 radiation force [11]. Both techniques have been shown to be able to improve breast lesion  
12 characterization [12–15]. It has also recently been shown that pre-treatment elastography  
13 could predict response to neo-adjuvant therapy in women with invasive breast cancers  
14 [16,17]. It has been also suggested that modifications of elastography under treatment could  
15 be used as an early predictor of therapy response in breast cancer patients [18,19]. SWE is  
16 also believed to reflect histopathology of breast cancers [20–22]. However, it is not known  
17 whether SWE still reflects pathology of breast cancer during the course of therapy, which is  
18 difficult to investigate in clinical studies where surgical excision takes place at the end of the  
19 treatment. It is then of some interest to evaluate SWE in a breast cancer model under  
20 treatment, which allows correlation with pathology during therapy.

21 In this context, the purpose of this study was to investigate changes in stiffness using SWE of  
22 a human breast cancer model implanted in mice under therapy, and to correlate the results  
23 with pathology.  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

# MATERIALS AND METHOD

## 1) Tumour model

The schematic of the experiment is represented in Figure 1.

Local ethics committee for animal research approval was obtained. A human tumour xenograft model, called 'HBCx-3' (invasive ductal carcinoma; luminal B: Estrogen Receptor positive; Progesteron Receptor positive; Her2 negative) was implanted subcutaneously in the fat pad of twenty-two 5 week-old athymic swiss nude female mice (Charles River®, Saint-Germain sur l'Arbresle, France). In order to improve xenograft intake rate and initial tumour growth, one ml of an Estrogen solution (0,85mg/ml of  $\beta$ -Estradiol) was added to 100 ml of the drinking water from the implantation time until the moment the treatment began.

## 2) Therapy

Two weeks after the beginning of the ultrasound monitoring, the 22 mice were matched by elasticity value and were distributed in two comparable groups. Mice were then fed three times a week for 24 days with Glucose 5% in the control group and with 2 mg/kg of an oral antiangiogenic therapy (everolimus, Certican®, Novartis, Rueil-Malmaison, France) dissolved in a Glucose 5% solution in the therapy group. The date of the beginning of the treatment was defined as Day 0. Ultrasound measurements were then performed at day 7, 12, 20 and 24 after the beginning of treatment. Two tumours could not be analyzed on pathology because of death between day 12 and day 20. Four tumours (2 in each group) were removed at day 12 and the other sixteen at the end of the treatment (Day 24) for pathological analysis.

### 3) B-mode ultrasound and Shear Wave Elastography (SWE)

Ultrasound measurements with B-mode and elastography acquisitions were repeated once a week during two weeks before treatment and during 24 days under therapy.

One author (XX) with four years experience in SWE acquired all images with the ultrasound device Aixplorer (SuperSonic Imagine, Aix en Provence, France) using a 15 MHz superficial probe dedicated for small animal imaging. After intraperitoneal anesthesia using xylazine (Rompun 2%®, Bayer, Puteaux, France) and ketamine (Virbac®, Carros, France) the tumour was covered with ultrasound gel. Particular attention was paid to minimize the number of air bubbles in the gel that could be responsible for artifacts. B-mode images were first acquired in the long axis plane and in the perpendicular plane, to measure the maximum diameter (L) and its perpendicular diameter (l) and to calculate tumour volume using the formula:

$$V = L \times l^2 \times 4/3 \times \Pi$$

Second, the SWE acquisition was performed in the long axis plane using the SonicSoftware® tool. A color map representing elasticity values in KiloPascals (kPa) in each pixel of the image was obtained. SWE was performed using the penetration mode with a color scale ranging from 0 (transparent) to 60 kPa (red) arbitrarily chosen in the beginning of the study according to expected stiffness values, as previously described in the model<sup>22</sup>. The penetration mode allows using the ultrasonic probe with two different ultrasound frequencies in order to increase signal to noise ratio. A circular region of interest (ROI) was manually positioned, defined to be the biggest possible while entirely included within the tumour. Mean values of elasticity in the pixels of the ROI were collected. Three elastography acquisitions were performed for each tumour after repositioning the transducer and the median elasticity value was retained.



## 4) Pathology

Out of 22 tumours, four (two in each group) were removed and placed in a formalin solution after 12 days of treatment and sixteen (eight in each group) at the end of the treatment (Day 24). After 24–48 h they were cut in two through the long axis plane, embedded in paraffin and stained with HES (haematoxylin eosin safran) and Masson's trichrome. Slides were then digitally scanned (digitiser Hamamatsu Photonics®, Massy, France). Tumour images were analyzed using the NDP.view software® (v. 1.2.33 Hamamatsu Photonics, Massy, France). For pathological analysis, three different areas could be observed: necrotic areas containing no viable tumour cells and few collagen fibers, cellular areas containing viable tumour cells, and fibrotic areas mostly composed of collagen fibers. The respective percentage of surface occupied by each pathological feature was measured by an author (xx) in collaboration with a pathologist (xx, twenty years experience in breast pathology), blinded to elastography results, by manually delineating the fibrotic area on the Masson's trichrome slides, and the necrotic area on the HES slides. The cellular area was calculated as the remaining percentage of surface.

### 1) Statistical analysis

Repeatability of elastography measurement was evaluated by calculating mean ( $m$ ), standard deviation ( $\sigma$ ) and variation coefficient ( $\sigma/m$ ) of three repeated measurements performed by the same examiner on 22 tumours in the first session of experimentations (14 days before the start of therapy

Results for quantitative parameters are given as median with Interquartile Range (IQR) for tumour volume, mean elasticity and pathological results at day 24. Because of the small

1 number of tumours, individual values are given for pathological features at day 12. For  
2 comparison between the control and treatment groups in stiffness values and pathological  
3 features proportions at day 24, a Mann Whitney test was used. The  $P$  values calculated were  
4 two-sided, and  $P < 0.05$  was considered a statistically significant difference.  
5  
6

7  
8  
9 Statistical analysis was performed using GraphPad® Software, (version 5.04, San Diego CA,  
10 USA).  
11  
12

## 13 RESULTS

### 14 1) Tumour volume and stiffness

15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

The ultrasound measurements (B-mode and elastography) began as the tumours reached a median volume of 3563 [2480; 4503] mm<sup>3</sup> and a median maximum diameter of 10 [9; 11] mm.

In 22 tumours measured in the first session (J-14), the mean stiffness was 32 kPa, the intra-observer measurements' average standard deviation was 4.1 and the intra-observer average variation coefficient was 14.3 %.

At the start of the treatment, there was no significant difference between median stiffness in the control and in the therapy group (42 [39; 54] kPa and 46 [36; 56] kPa respectively) ( $P=1$ ).

Figure 2 shows modifications of volume (Figure 2a) and stiffness (Figure 2b) over time in both control and therapy groups.

Quantitative values after 12 and 24 days of treatment are summarized in table 1 for volume and stiffness.

During the two-week period before therapy initiation, we observed a progressive increase of both tumour volume and stiffness.

1 After the start of treatment, there was a stabilization of tumour volume in both groups, which  
2 could be related to the stop of the estrogens that were added in the drinking water during the  
3 initial growth of the tumours and removed at the start of the therapy experiment. At day 12,  
4 we observed no significant difference between tumour volume in the control and therapy  
5 groups ( $P=0.08$ ). Between Day 12 and Day 24, volume increased in the control group until  
6 the end of treatment whereas we observed a decrease in volume of treated tumours with a  
7 significant difference between the two groups at day 24 ( $P=0.002$ ), showing that the therapy  
8 was effective on our tumour model. When considering stiffness, we observed a progressive  
9 increase of stiffness in the control group until the end of the treatment. In the treated tumours,  
10 two consecutive phases were observed: immediately after the beginning of therapy (between  
11 Day 0 and Day 12) stiffness decreased rapidly. On day 12 after the treatment initiation  
12 stiffness was thus significantly lower in the therapy than in the control group ( $P=0.03$ ). We  
13 then observed a second phase (between days 12 and 24) in which stiffness of treated tumours  
14 increased again despite decrease in tumour volume. After 24 days of treatment, there was no  
15 longer a significant difference in stiffness between the control and treated groups ( $P=0.56$ ).

## 2) Pathology

37 Quantitative values after 12 and 24 days of treatment are summarized in table 2 for  
38 pathological features.

39 After twelve days of treatment, pathology was performed for two tumours in each group. The  
40 amount of necrosis was 9 and 18 % in the control tumours versus 31 and 48% in the treated  
41 tumours (Figure 3). The proportion of fibrosis was low in both groups (2 and 6 % versus 4  
42 and 2% respectively in the control and treated tumours). The amount of cellular tissue was 89  
43 and 76 % in the control tumours versus 65 and 50 % in the treated tumours. At the end of the  
44 treatment (Day 24), the proportion of necrosis, fibrosis and cellular tissue was 10% [8; 12]

1 versus 13 % [2; 19], 4% [3; 5] versus 6 % [4; 8] and 85% [83; 88] versus 80% [76; 87]  
2 respectively in the control and therapy groups. There was no significant difference in the  
3  
4 proportion of necrosis ( $P=0.79$ ), fibrosis ( $P=0.08$ ) or cellular tissue ( $P=0.31$ ) between control  
5  
6 and treated tumours at day 24.  
7  
8  
9

## 10 11 DISCUSSION

12  
13  
14  
15  
16 We report the stiffness modifications under treatment of a human breast cancer implanted in  
17  
18 mice, as measured by SWE. A low variation coefficient of repeated SWE measurements was  
19  
20 in favor of good intra-observer repeatability. In an early phase of an anti-angiogenic  
21  
22 treatment, tumour stiffness decreased in the therapy group with a significant difference  
23  
24 obtained after 12 days, associated on pathology with a larger amount of necrosis. In the  
25  
26 subsequent phase of the treatment, stiffness started to increase again in the treated tumours  
27  
28 with no difference compared to the control group at day 24. Nor was there any significant  
29  
30 difference between the two groups in terms of pathological features at this time.  
31  
32  
33  
34  
35

36 The results we observed during the first phase of therapy were as expected and in agreement  
37  
38 with an animal study and clinical studies that reported decrease in tumour stiffness under  
39  
40 treatment in hepatocellular carcinoma [23], breast [18], pancreatic [24] and rectal cancers  
41  
42 [25]. As we observed no significant difference in volume at this time, we suggest that  
43  
44 modifications in stiffness under therapy might precede changes in size as previously described  
45  
46 [5]. On pathology at day 12, we observed large areas of necrosis in the treated tumours  
47  
48 whereas there was little in the control ones. We hypothesize that this higher amount of  
49  
50 necrosis associated with therapy plays an important part in the observed lower stiffness,  
51  
52 which is supported by a previous study on the same breast cancer model, demonstrating that  
53  
54 tumour stiffness was inversely correlated with the proportion of soft necrosis [22]. Indeed,  
55  
56 none of the other histological features are different between tumour groups, including fibrosis,  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1 which has been shown to correlate with higher stiffness, and which is very low in both  
2 groups. One hypothesis is that the high amount of necrosis could be secondary to cell death  
3 due to the effect of the anti-angiogenic drug. This is supported by previous clinical studies  
4 that have described extensive areas of necrosis under anti-angiogenic therapy in renal cell  
5 cancers [26,27] and hepatocellular carcinomas [28]. However, as pre-treatment pathological  
6 analysis of tumours was not available, we are not able in this study to determine the precise  
7 mechanism of development of necrosis under therapy in our model.  
8

9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17 During the second phase of treatment, although volume decreased in treated tumours, we  
18 surprisingly observed a resumption of a progressive increase in treated tumour stiffness,  
19 reaching the same values as control tumours. Pathologically on day 24, the amount of necrosis  
20 was low in the treated tumours and not significantly different from the control group. No  
21 significant differences were seen in fibrosis and cellular tissue proportions. One hypothesis  
22 could be that along the course of the treatment, necrosis is cleansed out resulting in a smaller  
23 tumour. The lower proportion of necrosis would then result in higher stiffness values. Two  
24 observations can be made from these results. The first is that when differences in pathological  
25 features are observed, then differences in tumour stiffness are observed, and conversely,  
26 suggesting that tumour stiffness as measured by SWE is linked to changes in pathology. The  
27 second observation is that stiffness modifications related to therapy response are variable over  
28 time. It would therefore be important to know the course of changes in stiffness under therapy  
29 and their meaning before it could be used in a specific cancer under a specific drug. It  
30 probably could not be presumed either that the course of changes in tumour stiffness would be  
31 the same in other cancers or under other drugs.  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51

52  
53 There are limits to this animal study. Firstly, as we initially expected that the biggest  
54 difference in stiffness between the two groups would be observed at the end of the treatment,  
55 the early histological analysis (day 12) was available only in a small number of tumours. It  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1 did not allow us to compare statistically the proportion of necrosis between the two groups at  
2 this time. Nevertheless, the proportion of necrosis was markedly different in the control and  
3 the treated tumours. Secondly, this model is a xenograft implanted directly under the skin and  
4 anti-angiogenic drugs are not the first-line neo-adjuvant therapy of breast cancers, therefore  
5 our results are not directly applicable to breast cancer patients. It was a proof-of-concept  
6 study destined to explore the pathological features underlying changes in stiffness under  
7 therapy. Finally, we studied only one tumour type treated with one drug. Our results may  
8 therefore not be relevant to other tumour types and/or therapies.  
9

10 In conclusion, we showed that SWE was able to measure stiffness changes of a tumour model  
11 under treatment. Although these changes can be variable along the course of the treatment and  
12 then difficult to anticipate, our study suggests that they reflect underlying pathological  
13 features. However, further clinical studies are needed to assess the potential of SWE to be an  
14 accurate biomarker of therapy response.  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## BIBLIOGRAPHY

- [1] DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2014;64:52–62. doi:10.3322/caac.21203.
- [2] Giordano SH. Update on locally advanced breast cancer. *Oncologist* 2003;8:521–30.
- [3] Huang E, McNeese MD, Strom EA, Perkins GH, Katz A, Hortobagyi GN, et al. Locoregional treatment outcomes for inoperable anthracycline-resistant breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;53:1225–33.
- [4] Fournier LS, Oudard S, Thiam R, Trinquart L, Banu E, Medioni J, et al. Metastatic renal carcinoma: evaluation of antiangiogenic therapy with dynamic contrast-enhanced CT. *Radiology* 2010;256:511–8. doi:10.1148/radiol.10091362.
- [5] Ah-See ML, Makris A, Taylor NJ, Harrison M, Richman PI, Burcombe RJ, et al. Early changes in functional dynamic magnetic resonance imaging predict for pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in primary breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:6580–9. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-4310.
- [6] Park SH, Moon WK, Cho N, Song IC, Chang JM, Park IA, et al. Diffusion-weighted MR imaging: pretreatment prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Radiology* 2010;257:56–63. doi:10.1148/radiol.10092021.
- [7] O’Flynn EA, DeSouza NM. Functional magnetic resonance: biomarkers of response in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2011;13:204. doi:10.1186/bcr2815.
- [8] Marinovich ML, Sardanelli F, Ciatto S, Mamounas E, Brennan M, Macaskill P, et al. Early prediction of pathologic response to neoadjuvant therapy in breast cancer: systematic review of the accuracy of MRI. *Breast* 2012;21:669–77. doi:10.1016/j.breast.2012.07.006.
- [9] El Kaffas A, Bekah D, Rui M, Kumaradas JC, Kolios MC. Investigating longitudinal changes in the mechanical properties of MCF-7 cells exposed to paclitaxol using particle tracking microrheology. *Phys Med Biol* 2013;58:923–36. doi:10.1088/0031-9155/58/4/923.
- [10] Garra BS, Cespedes EI, Ophir J, Spratt SR, Zurbier RA, Magnant CM, et al. Elastography of breast lesions: initial clinical results. *Radiology* 1997;202. doi:10.1148/radiology.202.1.8988195.
- [11] Tanter M, Bercoff J, Athanasiou A, Deffieux T, Gennisson JL, Montaldo G, et al. Quantitative assessment of breast lesion viscoelasticity: initial clinical results using supersonic shear imaging. *Ultrasound Med Biol* 2008;34:1373–86. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2008.02.002.
- [12] Berg WA, Cosgrove DO, Dore CJ, Schafer FKW, Svensson WE, Hooley RJ, et al. Shear-wave elastography improves the specificity of breast US: the BE1 multinational study of 939 masses. *Radiology* 2012;262:435–49. doi:10.1148/radiol.11110640.
- [13] Chang JM, Moon WK, Cho N, Yi A, Koo HR, Han W, et al. Clinical application of shear wave elastography (SWE) in the diagnosis of benign and malignant breast diseases. *Breast Cancer Res Treat* 2011;129. doi:10.1007/s10549-011-1627-7.
- [14] Evans A, Whelehan P, Thomson K, Brauer K, Jordan L, Purdie C, et al. Differentiating benign from malignant solid breast masses: value of shear wave elastography according to lesion stiffness combined with greyscale ultrasound according to BI-RADS classification. *Br J Cancer* 2012;107:224–9. doi:10.1038/bjc.2012.253.

- 1 [15] Itoh A, Ueno E, Tohno E, Kamma H, Takahashi H, Shiina T, et al. Breast disease:  
2 clinical application of US elastography for diagnosis. *Radiology* 2006;239:341–50.  
3 doi:10.1148/radiol.2391041676.
- 4 [16] Evans A, Armstrong S, Whelehan P, Thomson K, Rauchhaus P, Purdie C, et al. Can  
5 shear-wave elastography predict response to neoadjuvant chemotherapy in women with  
6 invasive breast cancer? *Br J Cancer* 2013;109:2798–802. doi:10.1038/bjc.2013.660.
- 7 [17] Hayashi M, Yamamoto Y, Ibusuki M, Fujiwara S, Yamamoto S, Tomita S, et al.  
8 Evaluation of tumour stiffness by elastography is predictive for pathologic complete  
9 response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Ann Surg Oncol*  
10 2012;19:3042–9. doi:10.1245/s10434-012-2343-1.
- 11 [18] Falou O, Sadeghi-Naini A, Prematilake S, Sofroni E, Papanicolau N, Iradji S, et al.  
12 Evaluation of neoadjuvant chemotherapy response in women with locally advanced  
13 breast cancer using ultrasound elastography. *Transl Oncol* 2013;6.
- 14 [19] Athanasiou A, Latorre-Ossa H, Criton A, Tardivon A, Gennisson JL, Tanter M.  
15 Feasibility of Imaging and Treatment Monitoring of Breast Lesions with Three-  
16 Dimensional Shear Wave Elastography. *Ultraschall Med Stuttg Ger 1980* 2015.  
17 doi:10.1055/s-0034-1398980.
- 18 [20] Lee SH, Moon WK, Cho N, Chang JM, Moon HG, Han W, et al. Shear-wave  
19 elastographic features of breast cancers: comparison with mechanical elasticity and  
20 histopathologic characteristics. *Invest Radiol* 2014;49:147–55.  
21 doi:10.1097/RLI.0000000000000006.
- 22 [21] Evans A, Whelehan P, Thomson K, McLean D, Brauer K, Purdie C, et al. Invasive  
23 breast cancer: relationship between shear-wave elastographic findings and histologic  
24 prognostic factors. *Radiology* 2012;263:673–7. doi:10.1148/radiol.12111317.
- 25 [22] Chamming's F, Latorre-Ossa H, Le Frere-Belda MA, Fitoussi V, Quibel T, Assayag F,  
26 et al. Shear wave elastography of tumour growth in a human breast cancer model with  
27 pathological correlation. *Eur Radiol* 2013;23:2079–86. doi:10.1007/s00330-013-2828-8.
- 28 [23] Salvatore V, Baron Toaldo M, Marinelli S, Milazzo M, Palamà C, Venerandi L, et al.  
29 Early prediction of treatment response to sorafenib with elastosonography in a mice  
30 xenograft model of hepatocellular carcinoma: a proof-of-concept study. *Ultraschall Med*  
31 *Stuttg Ger 1980* 2013;34:541–9. doi:10.1055/s-0033-1355834.
- 32 [24] Alvarez R, Musteanu M, Garcia-Garcia E, Lopez-Casas PP, Megias D, Guerra C, et al.  
33 Stromal disrupting effects of nab-paclitaxel in pancreatic cancer. *Br J Cancer*  
34 2013;109:926–33. doi:10.1038/bjc.2013.415.
- 35 [25] Rafaelsen SR, Vagn-Hansen C, Sorensen T, Lindebjerg J, Ploen J, Jakobsen A.  
36 Ultrasound elastography in patients with rectal cancer treated with chemoradiation. *Eur J*  
37 *Radiol* 2013;82:913–7. doi:10.1016/j.ejrad.2012.12.030.
- 38 [26] Van der Veldt AA, Meijerink MR, van den Eertwegh AJ, Bex A, de Gast G, Haanen JB,  
39 et al. Sunitinib for treatment of advanced renal cell cancer: primary tumour response.  
40 *Clin Cancer Res* 2008;14:2431–6. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-4089.
- 41 [27] Flaherty KT. Sorafenib in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13:747s – 752s.  
42 doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-2063.
- 43 [28] Faivre S, Zappa M, Vilgrain V, Boucher E, Douillard JY, Lim HY, et al. Changes in  
44 tumour density in patients with advanced hepatocellular carcinoma treated with  
45 sunitinib. *Clin Cancer Res* 2011;17:4504–12. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-1708.
- 46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65



## FIGURE CAPTIONS

Figure 1: Time line of experiment. Before treatment, 22 tumors were monitored with B-mode and ultrasound elastography during two weeks. At this time (day 0), tumors were then matched by elasticity value and were distributed in two groups. Mice were then fed for 24 days with G5% in the control group and with Everolimus® in the treated group. Elastography measurements were performed on D0, D7, D12, D20 and D24 of treatment. Four tumors (two in each group) were removed on Day 12, and 16 on Day 24 for pathological analysis. One tumor in each group was not available for pathology because of mice death between day 12 and day 20.

Figure 2: Median with IQR of tumor volume (A) and stiffness (B) over time in the control and therapy groups. After the beginning of treatment (TTT), we observed a stabilization followed by a decrease of the tumor volume (A) in the treated group, showing that the therapy was effective. Considering stiffness (B), we observed first a decrease in the treated group with a significant difference (\*) with the control group at Day 12. Subsequently, stiffness increased again in the treated group despite decrease in volume. At the end of the treatment (Day 24), there remained no significant difference in stiffness between the two groups.

Figure 3: Stiffness color-coded maps (0-60 kPa range) of a control (Figure 3a) and a treated (Figure 3b) tumor after 12 days of treatment with corresponding pathological features at low magnification after HES staining. White dotted line on the elastographic images correspond to the ROI delineated by the user. Homogeneous pink areas delineated by black lines on the pathological slide correspond to necrosis. The control tumor ( $6589\text{mm}^3$ ) demonstrates higher

stiffness (53kPa) on ultrasound and a lower proportion of necrosis (9%) on pathology, than  
the treated tumor (3732 mm<sup>3</sup>; 39 kPa and 48% of necrosis respectively).

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## TABLE

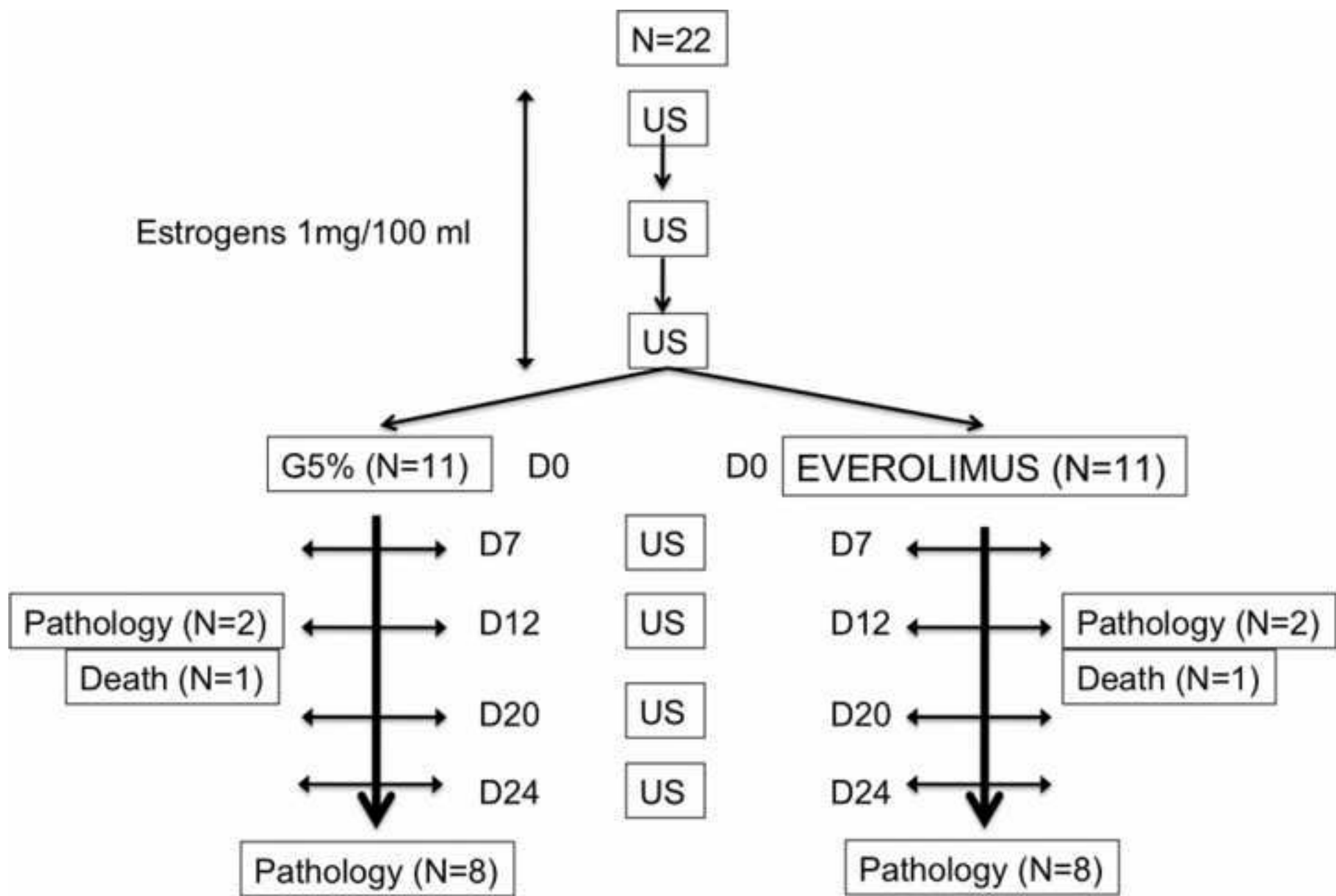
Ultrasound				
Time	Day 12		Day 24	
Group	Control (N=11)	Therapy (N=11)	Control (N=8)	Therapy (N=8)
Volume (mm <sup>3</sup> )	6589 [6082; 14047]	5775 [3332; 7841]	11905 [7655; 17817]#	5027 [4389; 5429] #
Stiffness (kPa)	50 [43; 59] *	37 [33; 46] *	61 [56; 70]	59 [50; 65]

Table 1: Volume (mm<sup>3</sup>), stiffness (kPa) as measured by ultrasound in the control and therapy groups after 12 days (N=11) and 24 days (N=8) of treatment. Quantitative values are given as median [IQR] for volume and stiffness. \*, and # represent significant difference for stiffness at Day 12 and volume at Day 24 between the control and therapy groups.

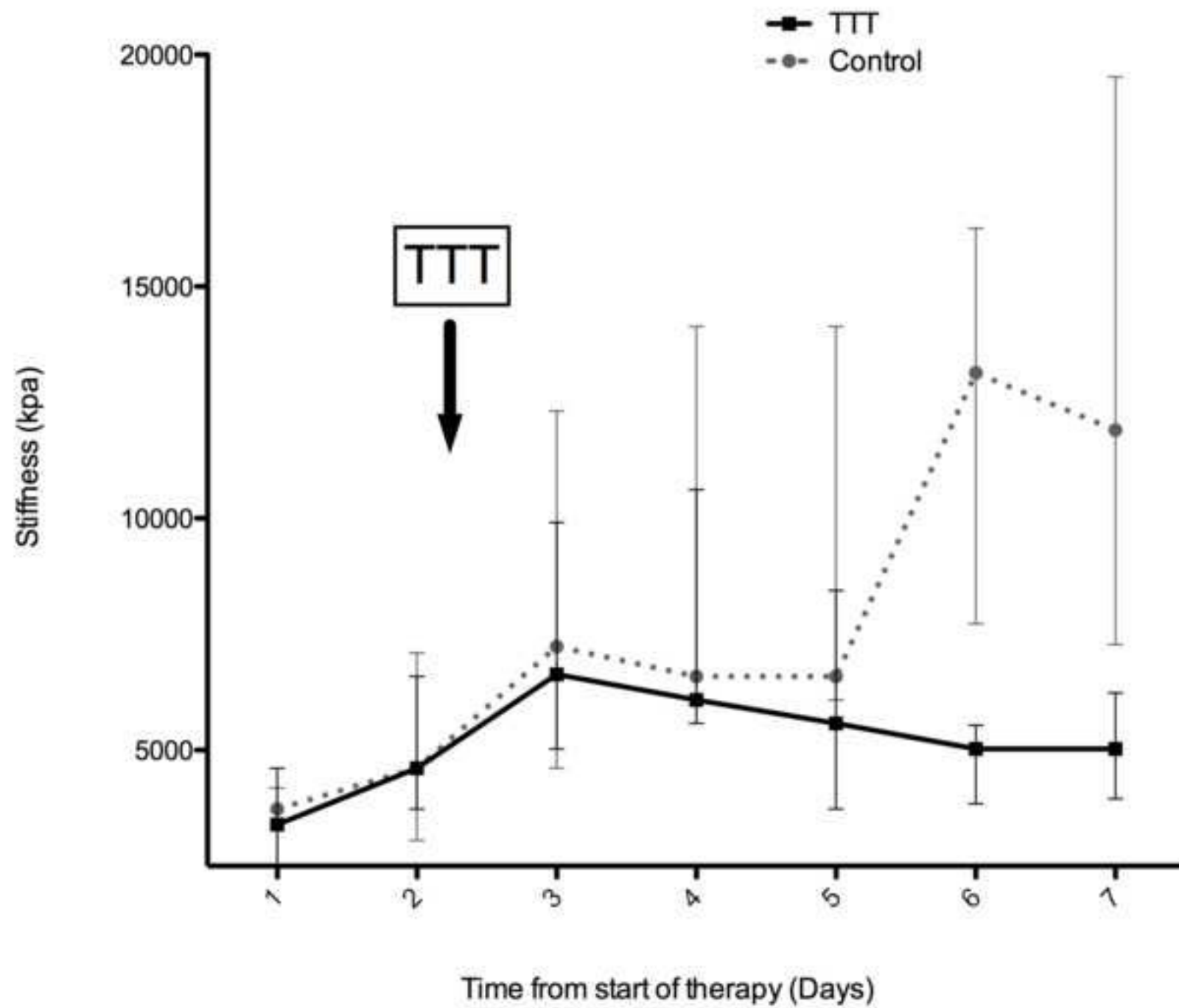
Pathology				
Time	Day 12		Day 24	
Group	Control (N=2) (individual values)	Therapy (N=2) (individual values)	Control (N=8) (Median [IQR])	Therapy (N=8) (Median [IQR])
Necrosis (%)	9, 18	31, 48	10 [8; 12]	13 [2; 19]
Fibrosis (%)	2, 6	4, 2	4 [3; 5]	6 [4; 8]
Cellular tissue (%)	89, 76	65, 50	85 [83; 88]	80 [76; 87]

Table 2: Pathological features in the control and therapy groups at days 12 and 24 of treatment. At day 12 (N=2 in each group) the two numbers correspond to values for each tumor. Quantitative values are given as median [IQR] at day 24 (N=8 in each group).

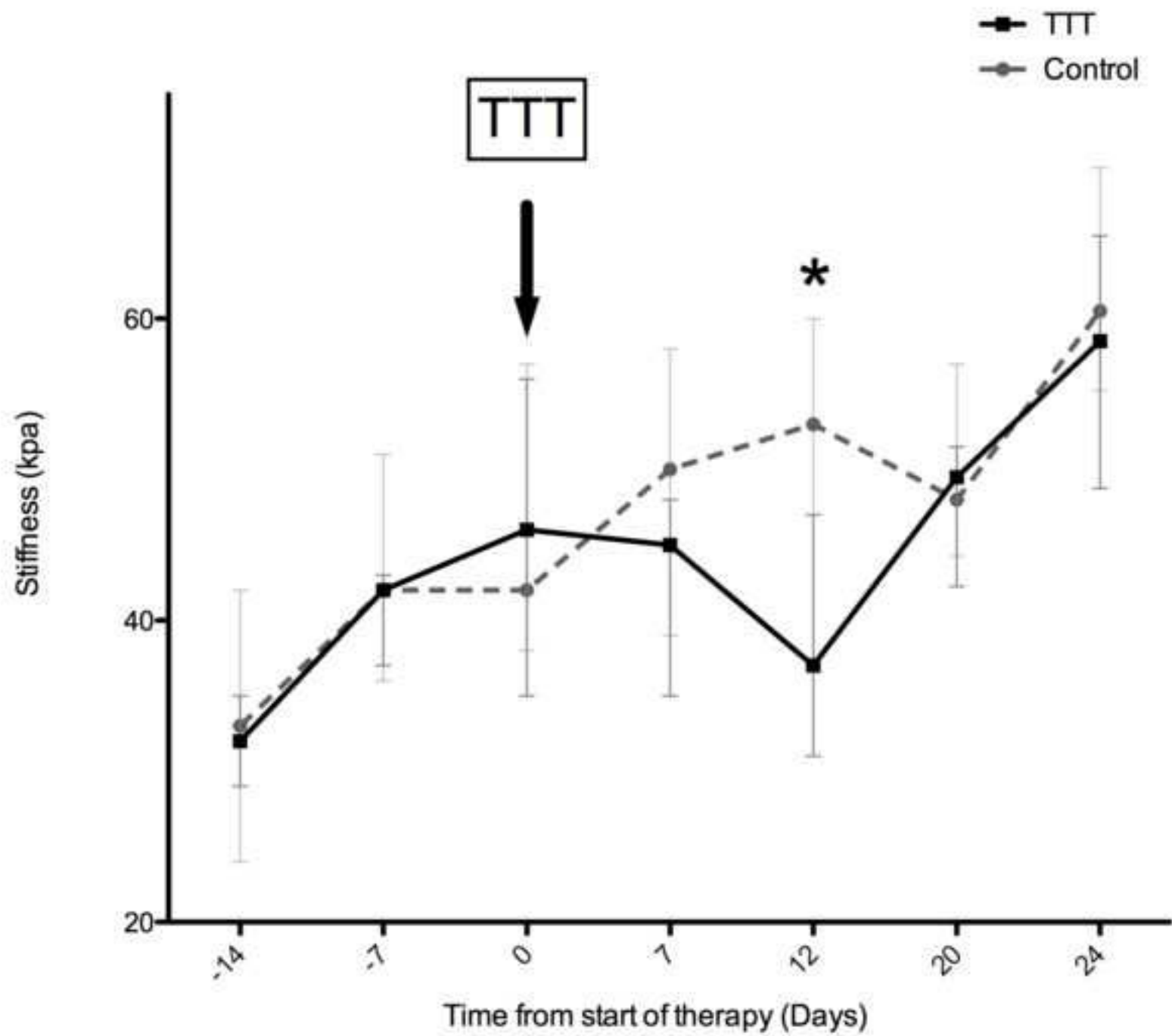
Figure(s)  
[Click here to download high resolution image](#)



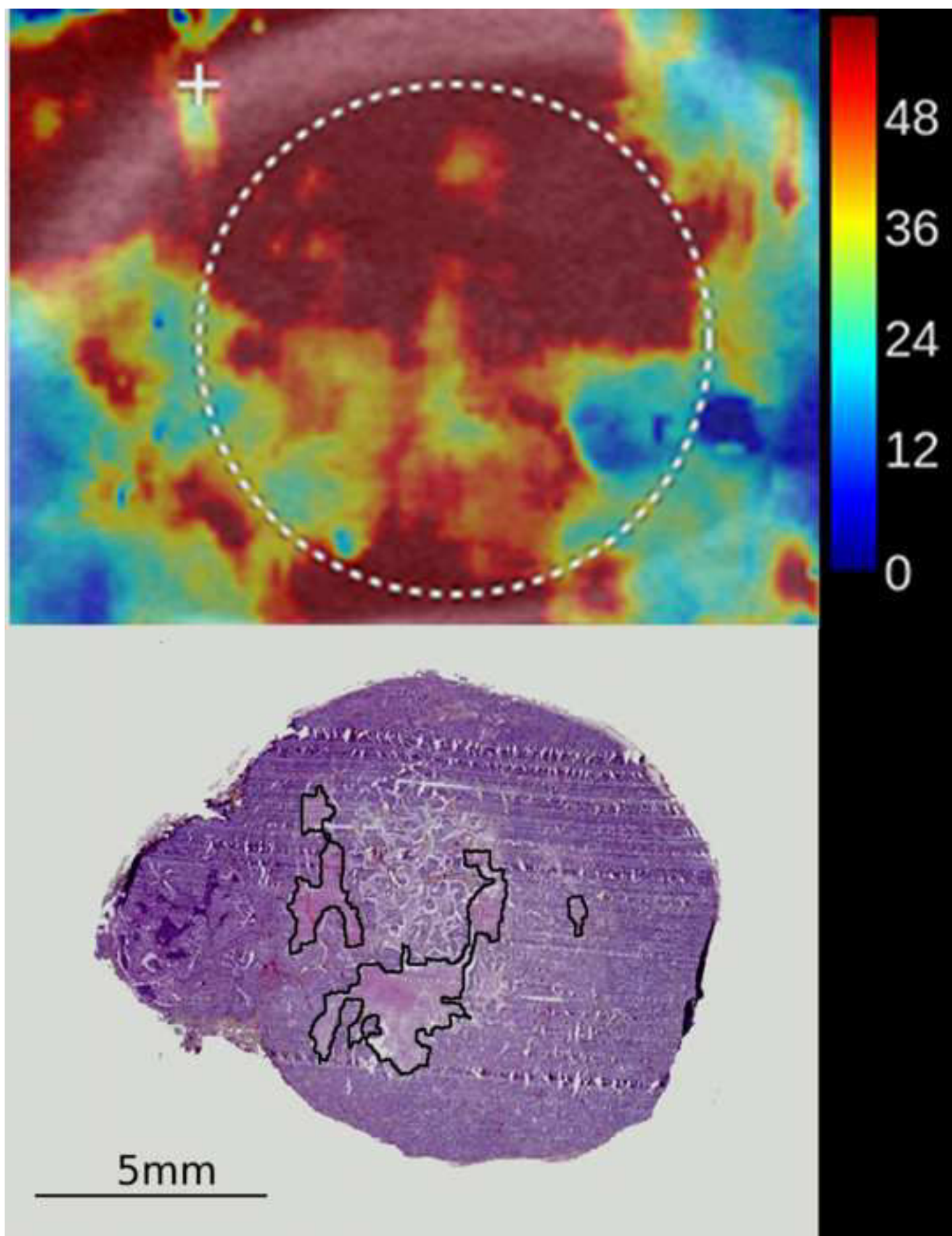
Figure(s)  
[Click here to download high resolution image](#)



Figure(s)  
[Click here to download high resolution image](#)

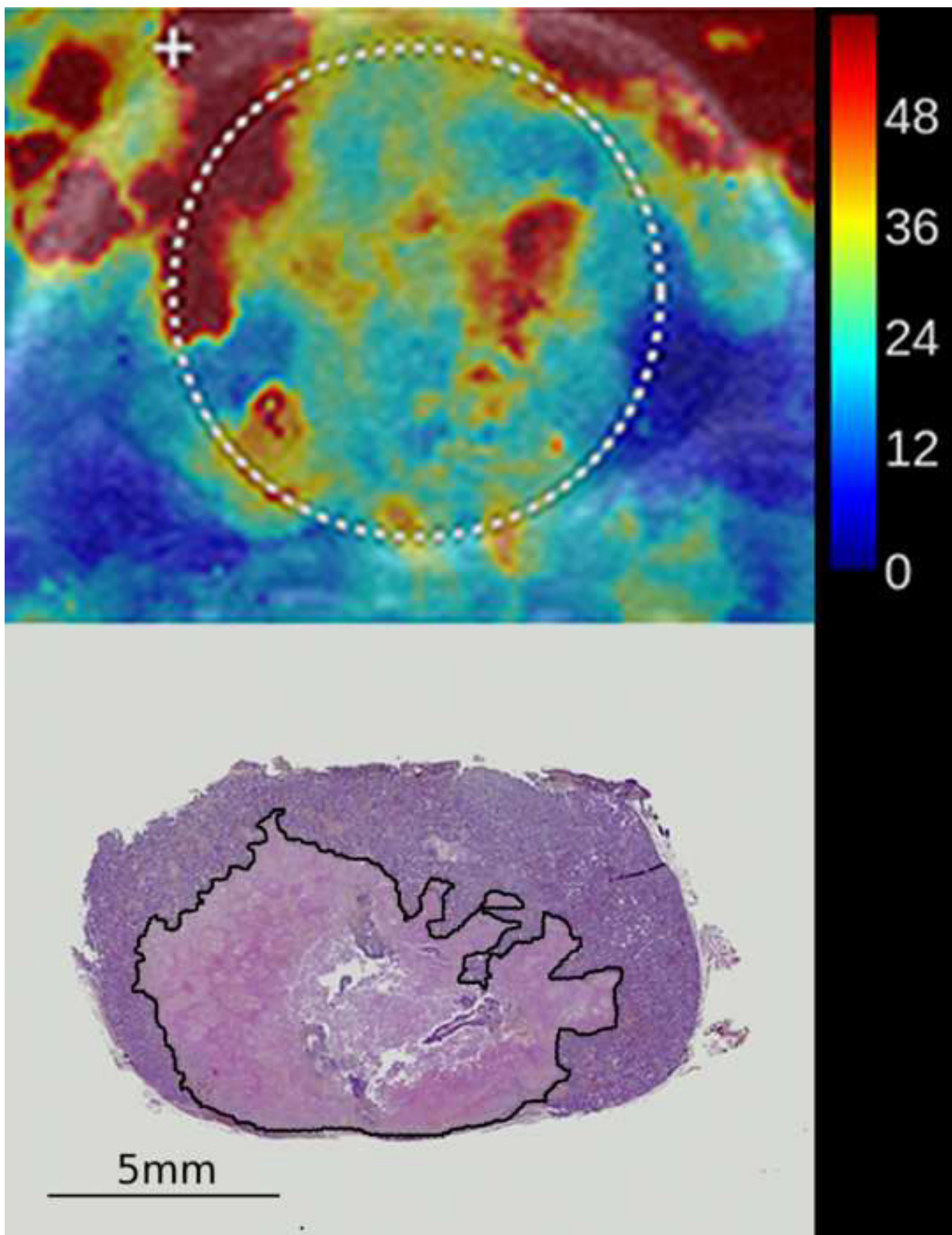


Figure(s)  
[Click here to download high resolution image](#)





Figure(s)  
[Click here to download high resolution image](#)



# Annexe 3

**Manual compression has a role in breast lesion characterization using shear wave elastography.**

F. Chamming's ; C. Hangard ; A. S. Bats ; M. A. Le Frère-Belda ; J. L. Gennisson ; C. A. Cuenod ; L. S. Fournier.

Soumis, Radiology

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10 Manual compression has a role in breast lesion  
11  
12  
13 characterization with shear wave elastography.  
14  
15  
16

17 Manuscript Type:

18  
19 Original research  
20  
21  
22

23 Advances in Knowledge:  
24

- 25  
26 1. Manual compression has an influence on quantitative results using shear wave  
27 elastography (SWE) of the breast.  
28  
29 2. With no compression, SWE is not able to differentiate benign from malignant  
30 breast lesions ( $P>0.99$ ).  
31  
32 3. When a strong compression is applied, even benign breast lesions may appear  
33 stiff with SWE ( $E_{max} = 188 \pm 33$  kPa).  
34  
35 4. When a mild or moderate manual compression is applied, SWE demonstrates  
36 good performances for breast lesions characterization (Area Under the Curve:  
37 0.77).  
38  
39 5. We observed a systematic bias between two different operators using shear wave  
40 elastography with one obtaining values little higher than the other ( $P<0.001$ ).  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 Implications for Patient Care:  
4  
5  
6

- 7  
8 1. Based on our results, practical recommendations can be made for an optimal use  
9 of breast shear wave elastography.  
10  
11  
12 2. We showed that minimal compression is needed but strong compression should  
13 be avoided to reduce false negative and false positive rates of breast SWE.  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20

21 Summary statement:  
22

23 Our study showed that mild or moderate manual compression should be recommended,  
24 whereas no or strong compression should be avoided to obtain optimal performances of  
25 shear wave elastography for the differentiation of benign from malignant lesions  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 **Purpose:** To assess the role of manual compression in shear wave elastography (SWE) for the  
4  
5 differentiation of benign from malignant breast lesions.  
6

7 **Materials and methods:** A Local ethics committee approved this prospective study. Between  
8  
9 April and September 2013, 60 breast masses (26 benign and 34 malignant) in 54 consecutive  
10  
11 patients were examined using shear wave elastography for four levels of manual compression:  
12  
13 none, mild, moderate, and strong. Maximum (E<sub>max</sub>) and mean (E<sub>mean</sub>) elasticity were  
14  
15 collected. Inter-observer reproducibility was assessed in eighteen masses. Differences in  
16  
17 stiffness between breast lesions was assessed using two-way ANOVAs and accuracy of SWE  
18  
19 was assessed by calculating Area Under the Curves (AUC) of the Receiver Operating  
20  
21 Characteristics (ROC) curves.  
22  
23

24  
25 **Results:** The overall results were similar for E<sub>max</sub> and E<sub>mean</sub>.  
26

27 The Intraclass Correlation Coefficient (ICC) showed an almost perfect inter-observer  
28  
29 concordance (0.91). For each degree of compression, E<sub>max</sub> was respectively 40 (±12); 100  
30  
31 (±33); 144 (±38) and 188 (±33) kPa for benign lesions and 55 (±13); 185 (±31); 240 (±24)  
32  
33 and 271 (±19) kPa for malignant lesions. For the strong compression degree, even benign  
34  
35 lesions demonstrated high stiffness value. The difference in E<sub>max</sub> between benign and  
36  
37 malignant lesions was extremely significant for mild, moderate and strong compression ( $P$   
38  
39  $<0,001$ ) but not for none ( $P>0.99$ ). The AUC for E<sub>max</sub> was 0.64; 0.77; 0.77 and 0.84  
40  
41 respectively for each degree of compression.  
42  
43  
44

45 **Conclusion:** Mild or moderate compression should be recommended, whereas no or strong  
46  
47 compression should be avoided to obtain optimal performances of breast SWE.  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

## INTRODUCTION

Elastography is a new imaging technique which assesses tissue stiffness and has been shown to improve characterization of breast lesions (1, 2). Strain elastography, which evaluates stiffness by measuring the relative deformation of tissue with repeated manual compression, is a semi quantitative method. On the contrary, Shear Wave Elastography (SWE) is considered to be a quantitative technique. Indeed, in SWE, the ultrasound probe generates an ‘acoustic radiation force’ pushing tissues locally. This force generates perpendicular shear waves, the speed of which is related to tissue stiffness. Thanks to the ‘ultra fast’ technology, the Aixplorer® device is able to monitor shear wave displacement and then to quantify theoretically breast lesions stiffness. In the literature, thresholds of quantitative stiffness values for the differentiation of benign from malignant breast lesions have been reported for different SWE parameters: From 55 to 93.8 kPa for maximum elasticity ( $E_{max}$ ) and from 35 to 74.1 kPa for mean elasticity ( $E_{mean}$ ) (3-8). It is usually recommended to avoid manual compression of the breast with the transducer while performing SWE imaging, because tissue may become artificially stiffer when it is compressed (4). However, in clinical practice, it is very difficult to avoid compression while performing breast ultrasound, since a mild compression is naturally used to generate the B mode image, and there is always at least the weight of the transducer against the skin. A stronger compression is sometimes necessary in case of deep lesions. Moreover, it has been observed that with no compression, some cancers can appear to be surprisingly ‘soft’ (9). These considerations can explain discrepancies

1  
2  
3 between publications: in their methodology some authors report no compression (10, 11)  
4  
5 whereas some others report a 'light' (5, 12) compression for SWE image acquisition.  
6

7  
8 The purpose of this study was therefore to assess the role of manual compression in SWE for  
9  
10 the differentiation of benign from malignant breast lesions and to determine the amount of  
11  
12 pressure that should be applied for optimal accuracy.  
13

## 14 15 16 **MATERIALS AND METHODS** 17

### 18 19 1) Population and inclusion criteria 20

21  
22  
23  
24 A Local ethics committee approved this prospective study. An information form was given to  
25  
26 each patient but informed consent was waived.  
27

28  
29 Between April and September 2013, consecutive patients with breast lesions undergoing  
30  
31 ultrasound were included. They were examined using the Aixplorer ultrasound system  
32  
33 (SuperSonic Imagine, Aix en Provence, France) using a clinical superficial probe (SL 15-4)  
34  
35 by a single radiologist (XX), except for the study on reproducibility performed in a sub-group  
36  
37 of patients. Histology was obtained by core needle biopsy. In case biopsy was not performed  
38  
39 (for BI-RADS 3 probably benign lesions) one-year follow-up was obtained. Stability at one  
40  
41 year was considered to confirm the benign character. Exclusion criteria were: Personal history  
42  
43 of breast cancer, age under 18 years, patient refusal and absence of histology or follow up.  
44  
45  
46  
47

### 48 49 2) Shear wave elastography (SWE) and compression method 50

51  
52  
53 In order to assess the inter-observer reproducibility, two different operators (XX, and XX  
54  
55 respectively 5 and 1 year experience in breast imaging and 4 years and 6 months experience  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 in breast shear wave elastography) applied the compression method on 18 breast masses (9  
4 malignant and 9 benign)  
5  
6

7  
8  
9  
10 The amount of compression applied to the breast was defined as follows:

- 11 - No compression: a layer of gel was laid between the US probe and the skin.
- 12 - Mild compression: corresponding to the pressure of the probe alone on the skin. The  
13 operator held the transducer cable so as not to apply any pressure on the probe.
- 14 - Moderate compression: corresponding to the weight of the probe plus the operator's  
15 hand, without deliberate pressure. The forearm and the wrist rested on the patient's  
16 breast and the hand held the transducer.
- 17 - Strong compression (the operator applies a deliberate compression with the probe as if  
18 to analyze a deep lesion in the breast).

19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30 On each image, the tissue stiffness of each pixel in the SWE image was displayed as a  
31 semi-transparent color map ranging from dark blue to red (0–180 kPa). A Region Of Interest  
32 (ROI) was delineated to include the whole mass including the stiffest part of the lesion as  
33 previously described by Gweon et al (13). Maximum ( $E_{max}$ ) and mean elasticity ( $E_{mean}$ )  
34 within the ROI were collected for all cases.  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42

### 43 3) Statistical analysis

44  
45  
46

47 Results for maximum diameter and elasticity values ( $E_{max}$  and  $E_{mean}$ ) are given as mean  $\pm$   
48 95% Confidence Interval.  
49

50  
51 The Intraclass Correlation Coefficient (ICC) was calculated to assess the inter-observer  
52 reproducibility of the compression method between the two operators. A Bland and Altman  
53 plot was drawn and a Wilcoxon matched-paired signed rank test was used to assess systematic  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



1  
2  
3 bias between the two operators. Average difference of elasticity values (E<sub>max</sub> and E<sub>mean</sub>)  
4  
5 between the two operators is given as mean ± 95% CI.  
6

7 Differences of elasticity between benign and malignant lesions were assessed using a two-  
8  
9 way ANOVA with Bonferroni correction for multiple comparisons. Area Under the Curve  
10  
11 (AUC) of Receiving Operator Characteristic (ROC) curves was calculated to evaluate the  
12  
13 optimal degree of compression for the differentiation of benign from malignant lesions.  
14

15  
16 The *P* values calculated were two-sided, and *P*<0.05 was considered a statistically significant  
17  
18 difference.  
19

## 20 21 22 **RESULTS**

23  
24  
25  
26  
27 Sixty breast masses (26 benign and 34 malignant) in 54 consecutive patients (53 women and  
28  
29 one man), mean age 56 years old, were included in this study. Histology was obtained for all  
30  
31 malignant and for 22 benign lesions. Histology was not available for 4 probably benign  
32  
33 lesions, which were followed for at least one year. All malignant lesions were surgically  
34  
35 excised  
36

37  
38 Histopathological analysis of the 34 malignant lesions showed 30 invasive ductal carcinomas  
39  
40 (88%), 3 invasive lobular carcinomas (9%) and 1 mucinous carcinoma (3%). Pathological  
41  
42 analysis of the 22 biopsied benign lesions showed 10 Fibroadenoma (45%), 3 fibrous  
43  
44 dystrophy (14%), 2 papillomas (9%), 2 cystic changes (9%), 1 gynecomastia (5%) and 1  
45  
46 hyperkeratosis (5%).  
47

48  
49 Mean maximum diameter was 18 (±4) mm for malignant lesions and 17 (±5) mm for benign  
50  
51 lesions.  
52

53  
54 The Intraclass Correlation Coefficient (ICC) showed an almost perfect concordance between  
55  
56 the two operators for E<sub>max</sub> (0.91) and for E<sub>mean</sub> (0.94). The Bland and Altman plot (figure  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 1) and Wilcoxon signed rank test showed that there was a significant systematic bias between  
4 the two operators with one obtaining values little higher than the other. The overall systematic  
5 bias was 20 ( $\pm 12$ ) kPa; ( $P=0.007$ ) and 10 ( $\pm 5$ ) kPa ( $P<0.001$ ) for Emax and Emean  
6 respectively (Figure 1). The systematic bias was 1 ( $\pm 6$ ) kPa ( $P=0.54$ ); 46 ( $\pm 25$ ) kPa ( $P=$   
7 0.005); 12 ( $\pm 27$ ) kPa ( $P=0.48$ ); 25 ( $\pm 24$ ) kPa ( $P=0.33$ ) for Emax and -4 ( $\pm 3$ ) kPa ( $P=0.019$ );  
8 10 ( $\pm 9$ ) kPa ( $P=0.045$ ); 16 ( $\pm 10$ ) kPa ( $P=0.007$ ); and 17 ( $\pm 12$ ) kPa ( $P=0.01$ ) for Emean at no,  
9 mild, moderate and strong compression respectively.  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17

18 Table 1 shows mean  $\pm$  95% CI stiffness values (Emax and Emean) of benign and malignant  
19 lesions for each degree of compression. At no compression, elasticity values of malignant  
20 masses were low: 55 ( $\pm 13$ ) kPa and 15 ( $\pm 2$ ) kPa respectively for Emax and Emean. In this  
21 situation we observed no difference between benign and malignant masses for Emax ( $P>0.99$ )  
22 or Emean ( $P>0.99$ ). On the contrary, stiffness was significantly different in benign and  
23 malignant masses for all other degrees of compression ( $P<0.001$  for Emax and  $P<0.01$  for  
24 Emean, for all other degrees of compression). With no compression, accuracy of SWE was  
25 low (AUC was 0.64 and 0.53 for Emax and Emean respectively) whereas it was good for  
26 other compression levels (AUC was 0.77, 0.77 and 0.84 for Emax and 0.77, 0.71 and 0.70 for  
27 Emean respectively). At the 'strong' compression level, we measured high elasticity values  
28 even in benign lesions: 188 ( $\pm 33$ ) kPa for Emax and 93 ( $\pm 21$ ) kPa for Emean).  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42

43 Figure 2, representing the curves of elasticity according to compression degree, shows that  
44 stiffness of breast lesions increased with stronger degrees of compression. We observed that  
45 the stiffness curves according to the degree of compression were different between benign  
46 and malignant lesions. The difference lied mostly in the initial portion of the curve  
47 (compression from none to mild) where malignant lesions demonstrated a significantly higher  
48 slope than benign lesions. Curves became almost parallel for higher compression levels.  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 Figure 3 shows elastography color maps of a benign and a malignant mass at the different  
4  
5 degrees of compression. Without compression, both lesions appeared homogeneously blue  
6  
7 (low elasticity values). Yellow and red pixels, demonstrating higher elasticity values appeared  
8  
9 at lower compression levels for the malignant than the benign lesion. Finally, even the benign  
10  
11 mass demonstrated red pixels (usually associated with malignant masses) at the strong  
12  
13 compression level.  
14  
15  
16  
17

## 18 **DISCUSSION**

19  
20 In this study, we observed an almost perfect concordance between results obtained by  
21  
22 two different operators using a semi-quantitative compression method. However, we also  
23  
24 showed a systematic bias with one operator obtaining stiffness values higher than the other.  
25  
26 With no compression, we observed that most cancers appeared homogeneously blue with low  
27  
28 stiffness values. As soon as compression was applied on the breast, a significant difference  
29  
30 was obtained in stiffness between benign and malignant lesions. Under compression, we  
31  
32 observed a progressive increase in lesion stiffness. At the highest degree of compression, high  
33  
34 stiffness values were obtained even in benign lesions.  
35  
36  
37  
38  
39  
40

41 In our study, we used a compression method based on a semi quantitative assessment  
42  
43 of the force applied manually on the skin with the transducer. Our technique was different  
44  
45 from the methods used by Syversveen et al. (14) who used an experimental device allowing  
46  
47 quantification of the applied transducer force against the skin and Barr et al.(9), who  
48  
49 estimated the compression degree by calculating the percentage of decrease of the distance  
50  
51 between the skin and a fixed structure in the breast. However, our objective was to assess the  
52  
53 role of manual compression in SWE of breast lesions in the clinical setting. Therefore, in  
54  
55 order to reflect clinical conditions, we defined an easily applicable four degrees compression  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 method, which does not require any specific equipment. Using this method, there was an  
4  
5 almost perfect concordance between the stiffness obtained by two different operators. This  
6  
7 result is supported by the study of Cosgrove et al. (10) that also demonstrated a good  
8  
9 reproducibility of the SWE technique. However, we also observed a systematic bias between  
10  
11 two users, with one obtaining significantly little higher values than the other. This result may  
12  
13 be due to the difference in experience between the two users. It shows that, when manual  
14  
15 compression is involved in SWE images acquisition, there is a little variability in breast lesion  
16  
17 stiffness quantification that should be kept in mind when using quantitative thresholds as  
18  
19 proposed in the literature.  
20  
21  
22  
23  
24

25           When no compression was applied, most cancers appeared homogeneously blue, low  
26  
27 stiffness values were measured and SWE was not able to differentiate benign from malignant  
28  
29 breast lesions as shown by the low AUC. Low stiffness values in cancers have Unexpectedly  
30  
31 been observed in other studies for shear wave imaging with the Aixplorer® (9) and with the  
32  
33 Accoustic Radiation Force Impulse (ARFI) technology (15). To date, there is no clear  
34  
35 explanation of why this occurs, when theory state that SWE should be acquired without any  
36  
37 manual compression. As believed by Barr et al. (16), it is possibly due to an artifact of the  
38  
39 specific shear wave technology. In the cases of very hard tissues, such as invasive cancers,  
40  
41 shear waves could be difficult to generate and monitor. On the other hand, when compression  
42  
43 is applied, we observed a progressive increase of breast lesion stiffness. This result is  
44  
45 supported by previous observations in phantoms (17, 18) breast tissue (9, 19) and kidney (14).  
46  
47 As a result, when a strong compression is applied, benign lesions may appear stiff with  
48  
49 measured values in the range of those described for malignant lesions in previous publications  
50  
51 (4). As shown for strain elastography (20), shear wave elastography images should then be  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 interpreted carefully in the situations in which a strong compression with the transducer is  
4  
5 required, as for the exploration of deep breast lesions.  
6

7           When an intermediate compression (mild or moderate) was applied, the mean increase  
8  
9 in stiffness was higher in malignant than in benign lesions. As a result, a significant difference  
10  
11 in stiffness was obtained between breast lesions and SWE demonstrated good accuracy when  
12  
13 the applied compression corresponded to the weight of the probe alone (mild degree) or the  
14  
15 weight of the probe plus the operator's hand without any deliberate pressure (moderate  
16  
17 degree). This result confirms that 'slight' compression, as reported in some papers and usually  
18  
19 used in clinical practice is optimal for the characterization of breast lesions with SWE.  
20  
21

22  
23 There are some limitations to this study. First, our population is relatively small with a high  
24  
25 proportion of malignant masses, which does not reflect the ratio encountered in clinical  
26  
27 routine in most centers. However we believe that our samples are sufficient to demonstrate  
28  
29 that manual compression has an influence on quantitative results using SWE. Second,  
30  
31 although it is recommended to combine SWE with grayscale images according to BI-RADS  
32  
33 classification (6), our study only considered the impact of compression on elastography  
34  
35 results. Our study therefore does not allow assessing all the consequences of manual  
36  
37 compression in the final clinical diagnosis. However it was not the purpose of our work, the  
38  
39 objective of which was to provide guidelines for compression management when using SWE  
40  
41 of the breast.  
42  
43

44  
45 In conclusion, our study shows that, a mild or moderate manual compression should be  
46  
47 recommended, whereas no or strong compression should be avoided to obtain optimal  
48  
49 performances of breast SWE for the differentiation of benign from malignant lesions.  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

## REFERENCES

1. Athanasiou A, Tardivon A, Tanter M, et al. Breast lesions: quantitative elastography with supersonic shear imaging--preliminary results. *Radiology*. 2010;256(1):297-303.
2. Chang JM, Moon WK, Cho N, et al. Clinical application of shear wave elastography (SWE) in the diagnosis of benign and malignant breast diseases. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;129(1):89-97.
3. Chen L, He J, Liu G, et al. Diagnostic performances of shear-wave elastography for identification of malignant breast lesions: a meta-analysis. *Jpn J Radiol*. 2014;32(10):592-9.
4. Berg WA, Cosgrove DO, Dore CJ, et al. Shear-wave elastography improves the specificity of breast US: the BE1 multinational study of 939 masses. *Radiology*. 2012;262(2):435-49.
5. Lee SH, Chang JM, Kim WH, et al. Differentiation of benign from malignant solid breast masses: comparison of two-dimensional and three-dimensional shear-wave elastography. *Eur Radiol*. 2013;23(4):1015-26.
6. Evans A, Whelehan P, Thomson K, et al. Differentiating benign from malignant solid breast masses: value of shear wave elastography according to lesion stiffness combined with greyscale ultrasound according to BI-RADS classification. *Br J Cancer*. 2012;107(2):224-9.
7. Evans A, Whelehan P, Thomson K, et al. Quantitative shear wave ultrasound elastography: initial experience in solid breast masses. *Breast Cancer Res*. 2010;12(6):R104.
8. Yoon JH, Jung HK, Lee JT, Ko KH. Shear-wave elastography in the diagnosis of solid breast masses: what leads to false-negative or false-positive results? *Eur Radiol*. 2013;23(9):2432-40.

- 1  
2  
3 9. Barr RG, Zhang Z. Effects of precompression on elasticity imaging of the breast:  
4 development of a clinically useful semiquantitative method of precompression assessment. J  
5 Ultrasound Med. 2012;31(6):895-902.  
6  
7
- 8  
9 10. Cosgrove DO, Berg WA, Dore CJ, et al. Shear wave elastography for breast masses is  
10 highly reproducible. Eur Radiol. 2011.  
11  
12
- 13 11. Evans A, Whelehan P, Thomson K, et al. Invasive Breast Cancer: Relationship  
14 between Shear-wave Elastographic Findings and Histologic Prognostic Factors. Radiology.  
15 2012;263(3):673-7.  
16  
17
- 18 12. Choi JJ, Kang BJ, Kim SH, et al. Role of sonographic elastography in the differential  
19 diagnosis of axillary lymph nodes in breast cancer. J Ultrasound Med. 2011;30(4):429-36.  
20  
21
- 22 13. Gweon HM, Youk JH, Son EJ, Kim JA. Visually assessed colour overlay features in  
23 shear-wave elastography for breast masses: quantification and diagnostic performance. Eur  
24 Radiol. 2013;23(3):658-63.  
25  
26
- 27 14. Syversveen T, Midtvedt K, Berstad AE, Brabrand K, Strom EH, Abildgaard A. Tissue  
28 elasticity estimated by acoustic radiation force impulse quantification depends on the applied  
29 transducer force: an experimental study in kidney transplant patients. Eur Radiol.  
30 2012;22(10):2130-7.  
31  
32
- 33 15. Bai M, Du L, Gu J, Li F, Jia X. Virtual touch tissue quantification using acoustic  
34 radiation force impulse technology: initial clinical experience with solid breast masses. J  
35 Ultrasound Med. 2012;31(2):289-94.  
36  
37
- 38 16. Barr RG. Shear wave imaging of the breast: still on the learning curve. J Ultrasound  
39 Med. 2012;31(3):347-50.  
40  
41
- 42 17. Varghese T, Ophir J, Krouskop TA. Nonlinear stress-strain relationships in tissue and  
43 their effect on the contrast-to-noise ratio in elastograms. Ultrasound Med Biol.  
44 2000;26(5):839-51.  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 18. Krouskop TA, Wheeler TM, Kallel F, Garra BS, Hall T. Elastic moduli of breast and  
4 prostate tissues under compression. *Ultrason Imaging*. 1998;20(4):260-74.  
5  
6

7 19. Wojcinski S, Brandhorst K, Sadigh G, Hillemanns P, Degenhardt F. Acoustic  
8  
9 Radiation Force Impulse Imaging with Virtual Touch Tissue Quantification: Measurements of  
10  
11 Normal Breast Tissue and Dependence on the Degree of Pre-compression. *Ultrasound Med*  
12  
13 *Biol*. 2013.  
14

15  
16 20. Chang JM, Moon WK, Cho N, Kim SJ. Breast mass evaluation: factors influencing the  
17  
18 quality of US elastography. *Radiology*. 2011;259(1):59-64.  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31 |  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



Compression degrees	<i>E<sub>max</sub></i> (kPa)				<i>E<sub>mean</sub></i> (kPa)			
	<i>Benign</i> ( <i>n</i> =26)	<i>Malignant</i> ( <i>n</i> =34)	<i>P</i>	<i>AUC</i>	<i>Benign</i> ( <i>n</i> =26)	<i>Malignant</i> ( <i>n</i> =34)	<i>P</i>	<i>AUC</i>
no	40 ( $\pm$ 12)	55 ( $\pm$ 13)	>0.99	0.64	14 ( $\pm$ 3)	15 ( $\pm$ 2)	>0.99	0.53
mild	100 ( $\pm$ 33)	185 ( $\pm$ 31)	***	0.77	37 ( $\pm$ 11)	65 ( $\pm$ 13)	**	0.77
moderate	144 ( $\pm$ 38)	240 ( $\pm$ 24)	***	0.77	66 ( $\pm$ 17)	96 ( $\pm$ 13)	**	0.71
strong	188 ( $\pm$ 33)	271 ( $\pm$ 19)	***	0.84	93 ( $\pm$ 21)	125 ( $\pm$ 14)	**	0.70

Table 1: Mean  $\pm$  95% CI of elasticity values (*E<sub>max</sub>* and *E<sub>mean</sub>*) according to degree of compression for benign and malignant lesions. The difference between benign and malignant lesions was extremely significant ( $P < 0.001$ \*\*\*) for *E<sub>max</sub>* and very significant ( $P < 0.01$ \*\*\*) for *E<sub>mean</sub>* for the mild, moderate and strong compression degrees but not with no compression. With no compression, accuracy of shear wave elastography was poor as shown by low Areas Under the Curve (AUC) for *E<sub>max</sub>* and *E<sub>mean</sub>*.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7 Figure 1: Bland and Altman plot representing the difference between the two operators'  
8 measurements according to their average value for Emax (a) and Emean (b). As the majority  
9 of points are located above 0, it shows a systematic bias between the two operators, one  
10 obtaining higher stiffness values than the other.  
11  
12  
13  
14  
15

16  
17  
18 Figure 2: Mean  $\pm$  95% CI of maximum (a) and mean (b) elasticity values according to the  
19 degree of compression in benign and malignant lesions. Stiffness increases with compression  
20 degree for benign and malignant lesions. At no compression, no difference was observed  
21 between benign and malignant lesions ( $P>0.99$ ) whereas a significant difference was observed  
22 for all other compression degree ( $P<0.001$  for Emax and  $P<0.01$  for Emean).  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29

30  
31 Figure 3: Elastography color maps of a benign (A) and a malignant (B) mass on B-mode (1),  
32 and for the different compression levels, respectively none (2), mild (3), moderate (4) and  
33 strong (5). At no compression (A2 and B2) both benign (13 and 37 kPa for Emean and Emax  
34 respectively) and malignant lesions (10 and 21 kPa for Emean and Emax respectively)  
35 demonstrated low elasticity values. For mild (3) and moderate (4) compression, higher  
36 stiffness values were observed in the malignant (B3: 75 and 118 kPa; B4: 100 and 207 kPa)  
37 than in the benign mass (A3: 33 and 46 kPa; A4: 77 and 116 kPa). For strong compression,  
38 stiffness increased in the malignant lesion (B5: 123 and 300 kPa) but high stiffness values  
39 were also obtained in the benign mass (A5: 146 and 245 kPa).  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

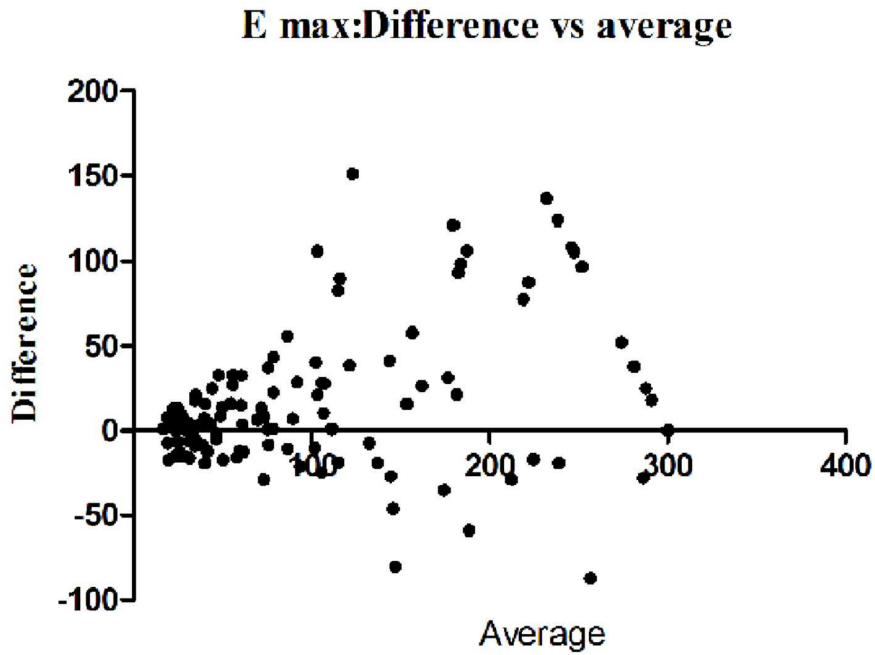


Figure 1: Bland and Altman plot representing the difference between the two operators' measurements according to their average value for Emax (a) and Emean (b). As the majority of points are located above 0, it shows a systematic bias between the two operators, one obtaining higher stiffness values than the other.  
101x74mm (300 x 300 DPI)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

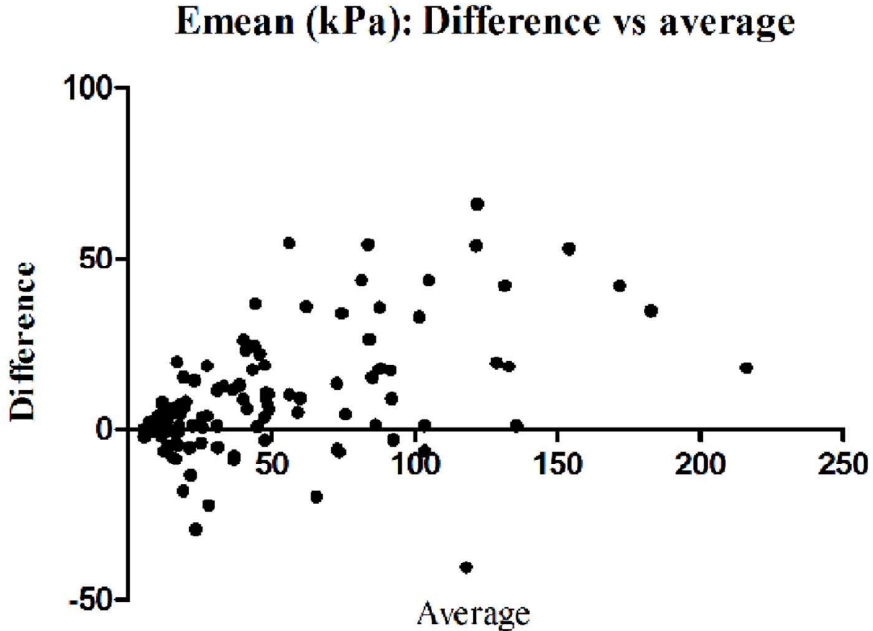


Figure 1: Bland and Altman plot representing the difference between the two operators' measurements according to their average value for Emax (a) and Emean (b). As the majority of points are located above 0, it shows a systematic bias between the two operators, one obtaining higher stiffness values than the other.  
101x72mm (300 x 300 DPI)

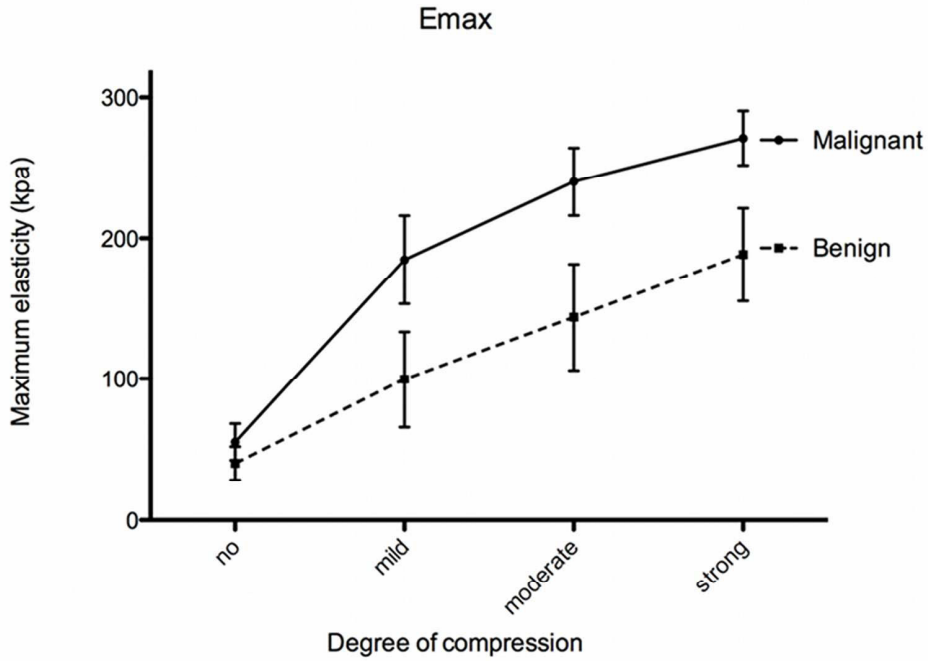


Figure 2: Mean ± 95% CI of maximum (a) and mean (b) elasticity values according to the degree of compression in benign and malignant lesions. Stiffness increases with compression degree for benign and malignant lesions. At no compression, no difference was observed between benign and malignant lesions ( $P > 0.99$ ) whereas a significant difference was observed for all other compression degree ( $P < 0.001$  for  $E_{max}$  and  $P < 0.01$  for  $E_{mean}$ ).  
101x74mm (300 x 300 DPI)

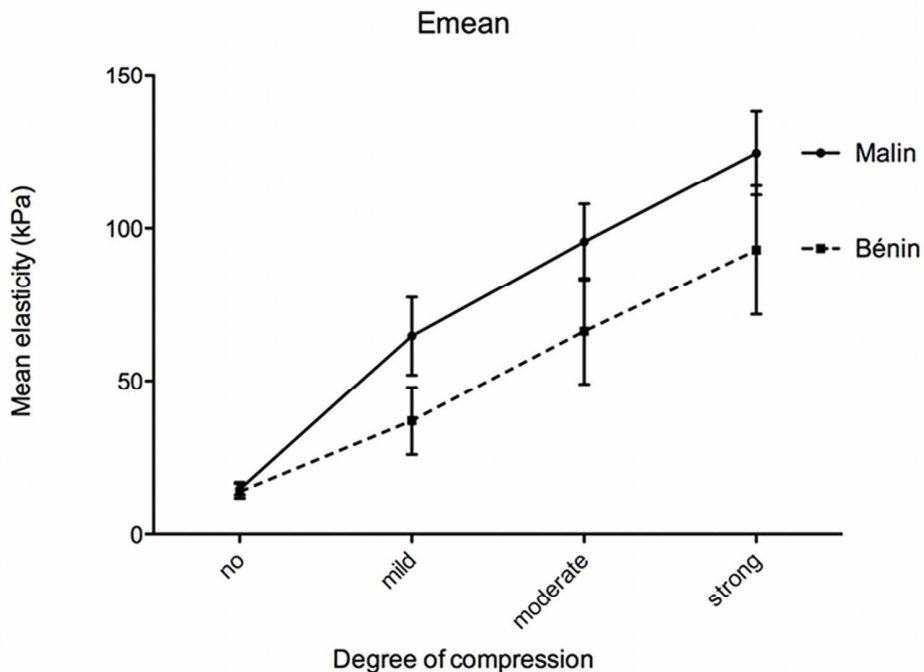


Figure 2: Mean  $\pm$  95% CI of maximum (a) and mean (b) elasticity values according to the degree of compression in benign and malignant lesions. Stiffness increases with compression degree for benign and malignant lesions. At no compression, no difference was observed between benign and malignant lesions ( $P>0.99$ ) whereas a significant difference was observed for all other compression degree ( $P<0.001$  for  $E_{max}$  and  $P<0.01$  for  $E_{mean}$ ).  
101x76mm (300 x 300 DPI)

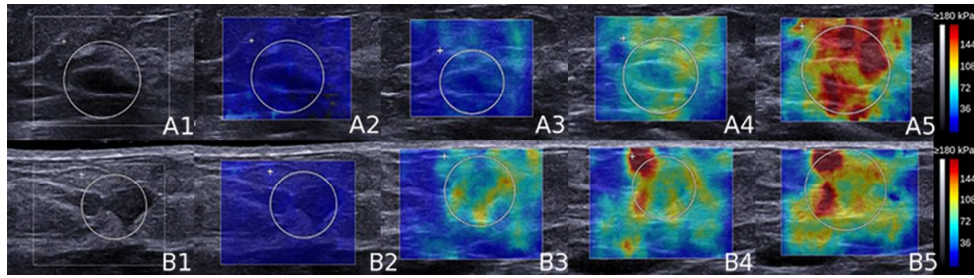


Figure 3: Elastography color maps of a benign (A) and a malignant (B) mass on B-mode (1), and for the different compression levels, respectively none (2), mild (3), moderate (4) and strong (5). At no compression (A2 and B2) both benign (13 and 37 kPa for Emean and Emax respectively) and malignant lesions (10 and 21 kPa for Emean and Emax respectively) demonstrated low elasticity values. For mild (3) and moderate (4) compression, higher stiffness values were observed in the malignant (B3: 75 and 118 kPa; B4: 100 and 207 kPa) than in the benign mass (A3: 33 and 46 kPa; A4: 77 and 116 kPa). For strong compression, stiffness increased in the malignant lesion (B5: 123 and 300 kPa) but high stiffness values were also obtained in the benign mass (A5: 146 and 245 kPa).

127x35mm (300 x 300 DPI)



# Annexe 4

## **In vivo quantification of the non linear shear modulus in breast lesions: a feasibility study**

M. Bernal ; F. Chamming's ; M. Couade ; J. Bercoff ; M. Tanter ; J. L. Gennisson.

Soumis, IEEE

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

*IN VIVO* QUANTIFICATION OF THE NONLINEAR SHEAR MODULUS IN BREAST  
LESIONS: FEASIBILITY STUDY.

M. Bernal<sup>1</sup>, F. Chamming's<sup>2</sup>, M. Couade<sup>3</sup>, J. Bercoff<sup>3</sup>, M. Tanter<sup>1</sup> and J.L. Gennisson<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Institut Langevin – Ondes et Images, ESPCI ParisTech, CNRS UMR7587, INSERM U979,  
1 rue Jussieu, 75005 Paris, France

<sup>2</sup>Radiology Department, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Hôpital Européen  
Georges Pompidou, 20 rue Leblanc, 75015 Paris, France

<sup>3</sup> SuperSonic Imagine, 510 Rue René Descartes, 13857 Aix-en-Provence, France

Email : [jl.gennisson@espci.fr](mailto:jl.gennisson@espci.fr)

**Abstract** - Breast cancer detection in the early stages is of great importance since the prognosis and the treatment greatly depend on this. Multiples techniques relying on the mechanical properties of soft tissues have been developed in order to help in the early detection. In this study we implemented a technique that measures the nonlinear shear modulus ( $A$ ) *in vivo* and showed its utility to detect breast lesions from healthy tissue. The technique relies on the acoustoelasticity theory in quasi-incompressible media. In order to recover  $A$ , static elastography and supersonic shear imaging are combined to subsequently register strain maps and shear modulus maps while the medium is compressed. Then,  $A$  can be recover from the relationship between the stress, deduced from strain maps, and the shear modulus. For this study a series of 5 nonlinear phantoms were built by using biological tissue (pork liver) inclusions immersed in an agar-gelatin gel. Furthermore, 11 *in vivo* acquisitions were performed in order to characterize the nonlinear shear modulus of breast tissue. The phantom results showed a very good differentiation of the liver inclusions when measuring  $A$  with a mean value of -114.1 kPa compared to -34.7 kPa for the gelatin. Meanwhile values for the shear modulus for the liver and the gelatin were very similar, 3.7 kPa and 3.4 kPa, respectively. *In vivo* NLSM mean value for the healthy breast tissue was of -95 kPa, while mean values of the benign and the malignant lesions were -619 kPa and -806 kPa with a strong variability respectively. This study shows the potential of the acoustoelasticity theory in quasi-incompressible medium to bring a new parameter for breast cancer diagnosis.

Keywords: Acoustoelasticity theory, quasi-incompressible media, nonlinear shear modulus, shear wave elastography

## I. INTRODUCTION.

Palpation has been used by physicians for centuries to detect malignancies due to the change in tissue stiffness. Since two decades, in the effort of quantifying this medical exam, several techniques have been developed. Static elastography is based on the Hooke's Law ( $\sigma = E \cdot \varepsilon$ ) to infer mechanical properties (Young's modulus,  $E$ ) of soft tissues due to the deformation ( $\varepsilon$ ) that is caused by an applied stress ( $\sigma$ ) [1, 2]. Unfortunately, since the stress distribution is unknown, this technique gives only access to strain maps highly dependent of the compression applied. To overcome these disadvantages, other techniques using stress controlled method were developed, such as Acoustic Radiation Force Impulse imaging [3, 4]. In this method the stress is electronically remotely controlled by focusing ultrasound within tissue. At the focal spot a force is created, pushing locally tissues and inducing local strain without applying a compression to the breast. Nevertheless quantification of the induce stress still remains challenging.

In order to overcome the problem of Young's modulus quantification, dynamic elastography techniques were developed. These methods are based on shear wave propagation since its velocity ( $V_S$ ) is directly linked to Young's modulus in quasi-incompressible materials such as soft tissues through the relationship  $E = 3\rho V_S^2$ , where  $\rho$  is the density. Some of the more used and known elasticity imaging techniques are Supersonic ShearWave<sup>TM</sup> Imaging [5], ARFI-SWS shear wave speed imaging [6] and Magnetic resonance Elastography [7]. As an example, the use of these techniques has proven to be useful in the in diagnosis of breast [8, 9] or liver [10 – 12] pathologies.

Regarding breast lesions characterization, although it has showed its clinical added value by improving sensitivity of ultrasound by more than 17 % [9] with a good reproducibility [13], there are still some false negative or false positive cases with shear wave elastography [14]. Therefore it seems of some interest to investigate new elastic parameters. Based on tissue compression, Hall *et al.* showed that some types of cancer can present similar elasticity values to those of healthy breast tissue at low deformations but with very different strong nonlinear stress-strain curves for malignant and healthy tissues at high deformations [15, 16]. Moreover Oberrai *et al.* by using mathematical model acquired maps of nonlinear parameters *in vivo* with static elastography technique showing that nonlinear parameter can be an add-on to improve diagnosis [17, 18].

1  
2  
3 In this study we proposed to use the acoustoelasticity theory [19] developed in quasi-  
4 incompressible media to quantify nonlinear shear modulus in order to complement shear wave  
5 elastography assessment. This technique is based on the assessment of the shear waves speed  
6 in tissues as a function of the uniaxial stress applied on the medium. To our knowledge only  
7 few studies have been performed *in vivo* by using similar approaches. Jiang et al., studied  
8 variation of the shear wave speed during compression on tendon but without quantifying  
9 nonlinear shear modulus [20].  
10  
11  
12  
13

14  
15 In the previously mentioned studies the main problem was to estimate the stress  
16 applied in order to recover the nonlinear shear modulus. To overcome this drawbacks several  
17 mathematical approaches were developed, however, to our knowledge no clinical validation  
18 or studies were performed [21, 22].  
19  
20  
21  
22

23 In this study we continued the work previously done in our laboratory by Latorre-Ossa  
24 et al. [23] and pushed the acoustoelasticity technique in quasi-incompressible media one step  
25 further in order to quantify internal stress within tissues and to map the nonlinear shear  
26 modulus. The method for calculating the stress within the tissue was proved to be efficient to  
27 quantify internal stress *in vivo* in colon [24]. A series of nonlinear elastic phantoms combining  
28 excised pork liver and gelatin were developed in order to create phantoms that would have  
29 inclusions with the same Young's modulus as the surrounding medium (gelatin) but with  
30 completely different nonlinear shear properties. Furthermore, the technique was implemented  
31 on a commercial ultrasound device to evaluate the nonlinear shear properties of benign and  
32 malignant breast lesions *in vivo* showing the potential advantages of this technique in breast  
33 ultrasound.  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44

## 45 II. MATERIALS AND METHODS.

### 46 A. Acoustoelasticity theory in quasi-incompressible media

47  
48 The acoustoelasticity theory is based on the effect of uniaxial or hydrostatic pressure  
49 on the speed of waves. In this paper the technique is presented for shear wave propagation in  
50 a soft media under uniaxial compression. The fundamental equation were developed in [19]  
51 and summarized here as follow.  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

In quasi-incompressible materials the strain energy ( $e$ ) can be simplified and expressed as:

$$e = \mu I_2 + \frac{A}{3} I_3 + D' I_2^2, \quad (1)$$

where  $\mu$  is the shear modulus,  $A$  the third order nonlinear shear modulus (NLSM),  $D'$  the fourth order nonlinear modulus and  $I_{2,3}$  invariants of the Lagrangian strain tensor [25].

In an isotropic material where the axis of the uniaxial compression is parallel to the shear wave polarization (Figure 1a) and in which a plane shear wave of low amplitude propagates, the wave equation derived from (1) is:

$$\rho \frac{\partial^2 u_z^D}{\partial t^2} = \frac{\partial^2 u_x^D}{\partial z^2} \left[ \mu + 2\mu \left( \frac{\partial u_x^S}{\partial x} + 2 \frac{\partial u_z^S}{\partial z} \right) + \frac{A}{2} \left( \frac{\partial u_x^S}{\partial x} + \frac{\partial u_z^S}{\partial z} \right) \right], \quad (2)$$

where  $u_{x,z}^D$  and  $u_{x,z}^S$  are displacements due to the shear wave and static uniaxial stress ( $\sigma_z$ ) respectively. In the case of shear wave displacements smaller than static compression and by applying the Hooke's law, the nonlinear elastodynamic equation is rewritten as:

$$\rho V_s^2 = \mu_0 - \sigma_z \left( \frac{A}{12\mu_0} \right), \quad (3)$$

with  $\mu_0$  being the shear modulus at stress free condition.

Then by quantifying the shear wave speed as a function of the stress applied one can recover the nonlinear shear modulus  $A$ .

### B. Phantom Studies

To validate the efficacy of the technique to measure and resolve the nonlinear properties of soft tissues, we developed a series of phantoms composed of small samples of pork liver tissue (between 1 and 2 cm<sup>3</sup>) embedded in a gelatin block with the same elastic properties. The liver was bought at a local store where fresh meat was supplied daily. The samples were scanned using the Bmode module of an Aixplorer<sup>TM</sup> device (Supersonic Imagine, Aix en Provence, France) in order to find a homogeneous region free of connective tissue or vessels.

Simultaneously, the Shear Wave Elastography (SWE) module commercially available on the Aixplorer<sup>TM</sup> device was used to measure the mean elasticity of the sample and to select regions of the liver that were homogeneous in the mechanical properties, in our case were a

Young's modulus between 6 kPa and 9 kPa which correspond to shear wave velocity between (1.41 m.s<sup>-1</sup> and 1.73 m.s<sup>-1</sup>). Tissue samples were embedded in a block of gelatin at 5% by weight (Gelatin, Prolabo, Fontenay/Bois, France) with 2% of agar (Agar, Prolabo, Fontenay/Bois, France) which provided the scatterers. This combination of gelatin and agar allowed us to create a phantom with Young's Modulus that varies between 5 kPa to 12 kPa depending on the temperature of the block (corresponding to a shear wave velocity between 1.29 m.s<sup>-1</sup> and 2 m.s<sup>-1</sup>). In order to guarantee that the liver and the gelatin would have the same elasticity, the phantom was refrigerated 2 hours after its preparation. Following this, the block was allowed to warm up at room temperature until the inclusion and the surrounding medium had the same elasticity values. At this point the implementation of the acoustoelasticity technique was started. This procedure allowed us to have an inclusion that was invisible to stiffness imaging, while being visible in the conventional Bmode imaging. Figure 2a, shows a photograph of the phantom, with the corresponding elasticity and Bmode images on Fig 2b. Notice that the values for the Young's modulus for the gelatin and the liver were 6.7 kPa and 6.9 kPa, respectively (which correspond to shear wave velocities of 1.49 m.s<sup>-1</sup> and 1.51 m.s<sup>-1</sup> respectively).

The acoustoelasticity technique was then tested following the procedure described on the flow diagram in Figure 3. The phantoms were compressed uniaxially using a linear motor. The motor gave the advantage to have programming steps and therefore a controlled uniaxial stress for proof of concept (PI Micos VT-80, Eschbach, Germany). Each compression step was done by the motor and corresponded to 0.5 mm, for a total compression of 8 mm ( $i = 16$  compression steps, corresponding to around 20 % compression given that the phantom initial thickness was around 40 mm). The motor was set to compress at a speed of 1 mm.s<sup>-1</sup>, while the sampling rate of the ultrafast ultrasound sequence was 500 Hz, therefore 250 images were acquired between each compression step. These 250 images allowed us to compute cumulative strain maps between each compression steps as in static elastography techniques by cross-correlating the ultrasonic radiofrequency (RF) signal of all the consecutive images [1, 2]. Immediately after compression ( $i$ ), shear wave velocity ( $V_{Si}$ ) maps were obtain from the clinical interface of the Aixplorer<sup>TM</sup>. From these data shear modulus maps ( $\mu_i$ ) or Young's modulus maps were also retrieved by the relationship ( $E_i = 3\mu_i = 3\rho V_{Si}^2$ ).

Once the strain and elasticity images were co-registered for all acquisitions, the cumulative stress field ( $\sigma_{Ci}$ ) was calculated at the end of each compression step by using the

1  
2  
3 Hooke's Law  $\sigma_{Ci} = E_i \cdot \varepsilon_{Ci}$  where  $E_i$  is the Young's modulus obtained at each compression stage  
4 and  $\varepsilon_{Ci}$  the strain field (cumulative at each step).  
5  
6

7 At the end of the loop, in post-acquisition processing, for each pixel of the image, a  
8 linear regression of the cumulative stress as a function of the shear wave speed, according Eq.  
9 3, was done. The slope of the fitted line for each pixel gives access to the nonlinear shear  
10 modulus  $A$  and thus providing nonlinear shear modulus maps.  
11  
12  
13

### 14 C. *In vivo studies*

15  
16  
17 This clinical study was approved by the ethical local committee "Comité de Protection  
18 des Personnes CPP Ile de France VI – La Pitié Salpêtrière Hospital, Paris, France" under the  
19 protocol name "Elastographie shear wave en sénologie: Quelle est le rôle de la compression  
20 manuelle? (Shear wave elastography in breast imaging: What are the manual compression  
21 effects?)". All the patients were informed and gave their consent approved before performing  
22 the exam. Eight women with eight breast masses (Four benign and four malignant) were  
23 included in the *in vivo* study. Histology was obtained for all patient to confirm the benign or  
24 malignant behavior of lesions. In order to compare results, three healthy volunteers with no  
25 prior history of breast malignancy were also included. Similar to the method used in the  
26 nonlinear phantoms, the breast was compressed manually by a trained radiologist (FC five  
27 years' experience in breast shear wave elastography) using the ultrasound probe fitted with a  
28 plastic plate allowing a more uniform deformation (Fig. 1b). Since the pressure was applied  
29 uniaxially in all the cases, all the deformations were assumed to be positive.  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39

40 During the *in vivo* experiment, number of compressions was reduced to 6 since the  
41 phantom studies revealed that 5 compressions would provide accurate results as long as the  
42 degree of compression was maintained. The sampling rate of the ultrafast sequence was set to  
43 100 Hz and 100 images were acquired between consecutive compressions. At the beginning  
44 of the experiment, patients were positioned in the supine position, slightly tilted depending on  
45 the location of the mass. The overall experiment for each patient was performed in less than  
46 30 s.  
47  
48  
49  
50

## 51 III. RESULTS.

### 52 A. *Phantom results*

53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



Figure 4 shows an example of the results obtain in one of the nonlinear phantoms that were tested. In this figure, in the left column are shown the Bmode images for 3 of the 16 compressions steps. The top corresponds to the stress free condition (Fig. 4a), the middle one (Fig. 4d) corresponds to the 8th step of compression (around 4 mm), while the bottom (Fig. 4g) shows the Bmode after the full compression, 16 steps or 8 mm. The red lines presented in the Bmode images help as a reference since the degree of compression is not easily appreciated. The second column, shows the corresponding shear modulus maps at the corresponding compressional step. The third column, shows the progression of the relationship between the incremental calculated stress and the incremental shear modulus for the two points depicted in the Bmode. The blue point, represented as blue "\*" in the plots, corresponds to a point inside the liver inclusion, while the red point (red "\*") is a point inside the gelatin block. In Fig. 4i, along with the experimental values is the linear regression from which the slope was taken for calculating the NLSM from Eq. 3. This fit was then performed in each pixel of the image in order to calculate the NLSM maps.

The corresponding NLSM map is presented in Fig. 5b, where the Bmode image with superimposed shear modulus map imaging is shown in Fig. 5a. The ROI's for the inclusion and the gelatin block showed shear modulus values of  $2.8 \pm 0.4$  kPa (ROI marked with a "+") and  $2.1 \pm 0.2$  kPa (ROI marked with a "\*"), respectively. The NLSM map shows a high contrast between the inclusion and the surrounding medium. The NLSM values for the same ROI's ("+" for the liver inclusion and "\*" for the gelatin) were  $-103.9 \pm 30.2$  kPa and  $-20.0 \pm 4.5$  kPa, respectively. The corresponding ratios between the two ROI's for both measurements (free stress condition and full compression) were 5.2 for the NLSM and 1.3 for shear modulus.

Table I shows the results obtain for the different phantoms tested. The values correspond to region of interest of  $5 \times 5$  mm<sup>2</sup> placed in the liver inclusion as well as in the gelatin block, similar to those shown in Figure 5 ("+" for the liver and "\*" for the gelatin). The ratio between the shear modulus and the NLSM are also presented in this table.

### B. In vivo results

Similar to results shown for the phantoms, Figure 6 shows the evolution of shear modulus and cumulative stress during the compression for one patient presenting a lesion. The first row shows the echographic image (left), shear modulus (center) and the stress/shear modulus relationship (right) for an area within the mass (blue) and one in the healthy tissue

(red). The first row corresponds to the values at a free stress state. The second and third rows show similar data at the 3<sup>rd</sup> and 6<sup>th</sup> compression stages (equivalent approximately to 7 and 15 % deformation, respectively). Figure 6I, besides the values for the stress and shear modulus shows the linear regression used to calculate the slope and therefore the NLSM.

Figure 7 shows the results of the NLSM for one healthy subject (first row), a patient with a tumor (carcinoma, middle row) and a patient with a benign lesion (fibroadenoma, bottom row). Panels a, d and g show the echographic images registered during the clinical exam for all 3 subjects. The masses are encased in a red box (---) and highlighted with a white arrow. Panels' b, e and h show the corresponding shear elasticity maps, where the white squares determine two ROI's used in the analysis to generate Table II and to calculate the mean and standard deviation values. For patients that presented with a lesion (2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> rows), this was identified with "+", while the ROI "\*" corresponded to healthy tissue. In the healthy subjects, the two ROI's represented normal tissue.

Table 2, shows the results for the 11 patients that were tested (3 healthy, 4 benign and 4 malignant masses). In this table we present the mean and standard deviation for the shear modulus and the NLSM. The values were taken from the ROI's presented in Figure 7, or similar ones.

#### IV. DISCUSSION.

The phantom results showed the ability of this technique to identify materials with different nonlinear shear properties. In Figure 2b, it is possible to observe how the liver inclusion is not properly delineated in the stiffness map at free stress. By following the changes in the shear modulus due to the deformation, our methodology allows us to recover the nonlinear shear modulus. This parameter showed the ability to resolve inclusions in a new mechanical property map. Furthermore, the ratio between the inclusion and the gelatin ("+/\*") for the nonlinear parameters was significantly higher than those of the shear modulus, with a mean ratio of 3.3 for the NLSM vs. 1.1 for the shear modulus. Given that some types of cancer present the same elasticity under conditions of zero strain and once deformed they become significantly stiffer [15], the implementation of such a methodology presented here could help in the diagnosis of these type of malignancies.

Figure 4b, e, h, evidences the stiffness changes of the biological tissue with respect to gelatin which is known to be quasi-purely linear at these concentrations [24]. In Fig. 4b,

1  
2  
3 which represents the zero compression state, i.e. free stress, it is impossible to delineate the  
4 liver inclusion. Furthermore, the relationship of the shear modulus and the stress is exactly the  
5 same for the point inside the inclusion and the point inside the gelatin (Fig. 4c). After half of  
6 the total compression (8 compression steps corresponding to 4 mm), the inclusion starts to  
7 become apparent in the shear modulus map, since the liver stiffens more than the gelatin. This  
8 is more evident in Fig. 4f, where the stress as a function of shear modulus shows a different  
9 behavior between the two materials. Finally, in Fig. 4h, the inclusion is clearly visible in the  
10 surrounding gelatin block while Fig. 4i shows the marked difference in the stress-shear  
11 modulus relationship. While the increase in shear modulus of the gelatin was around 35 % the  
12 increase of the liver was of 175 %. Such results are in good accordance with previous work  
13 done in gelatin and *ex vivo* liver by using supersonic shear imaging or transient elastography  
14 techniques [19, 23, 26]. Moreover, Figure 5 shows a good example of the high contrast of the  
15 NLSM where the mean value in the liver inclusion is around -104 kPa compared to -20 kPa in  
16 the gelatin. It is also important to note the good delimitation of the inclusion when comparing  
17 with the Bmode image shown in Fig. 2b.

18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29 The results shown in Figure 6 demonstrate a very good agreement between the *ex vivo*  
30 and the *in vivo* testing. Notice how the values for the stress achieved are very similar towards  
31 the end of the compression in both case, around 1500 kPa in phantoms and around 1300 kPa  
32 in patients. Moreover, the linear relationship of the stress and the shear modulus is very well  
33 maintained in the *in vivo* experiments despite the reduced number of compression cycles.  
34 Furthermore, as it was expected there was an increased in the shear modulus with the degree  
35 of compression. This is true for both, the mass and the healthy tissue as it can be appreciated  
36 by the positive slopes in panel I (Fig. 6). However, the two nonlinear shear elastic behaviors  
37 are significantly different which is evident when comparing the two slopes. Therefore  
38 providing a very good contrast when calculating  $A$ .

39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
60 Values obtained of the NLSM on the healthy subjects were close to those of the  
healthy fresh liver tissue. The mean value of the NLSM for the 3 subjects for the two selected  
ROI's was -94 kPa, while the mean for the liver was -114 kPa. The standard deviation in the  
breast tissue and the fresh excise liver was the same, 39 kPa. Figure 7 (first row) also shows  
the homogeneity of healthy breast tissue, since both the shear modulus and the NLSM were  
fairly homogeneous with common values obtained for the shear modulus [9, 13]. In  
comparison, maps presented in Figure 7 for the two patients that presented with lesions, show  
well defined masses in the NLSM images, which are very well correlated with the ultrasound

1  
2  
3 images presented in the same figure. In this figure it is important to highlight the variability of  
4 the NLSM around and within lesions. The values around the lesions tends to be bright red  
5 while the interior is mostly bright yellow (highly negative). This variability in the NLSM  
6 contributes to a very good contrast with respect to the healthy tissue (shown in the maps as  
7 black or dark red) and good delimitation of the mass. We hypothesize that this heterogeneity  
8 in the NLSM could be used as a parameter to identify suspicious lesions. Such concept must  
9 be clearly confirmed by a further study on a bigger patient population.  
10  
11  
12  
13  
14

15 The summary of all the subjects and patients presented in Table 2 shows some  
16 interesting behaviors. First, the mean values of shear modulus for healthy subjects (combining  
17 “+” and “\*” zones) and healthy tissue of the patients with malignant and benign masses (“\*\*”  
18 were not very different, with values of 1.8 kPa, 2.3 and 2.4, respectively. Similarly, the  
19 NLSM in the same cases were also alike with mean values of -94 kPa in the healthy subjects  
20 (combining “+” and “\*\*” zones), and -80 kPa and -109 kPa in the healthy tissue of the  
21 malignant and benign patients (“\*” zones), respectively. As it was expected the shear  
22 elasticity for the malignant masses showed slightly higher values compared to those of benign  
23 lesions, with a mean shear elasticity of 6.9 kPa and 5.7 kPa, respectively. The NLSM of these  
24 lesions significantly deviated from those of the healthy tissue providing a very good contrast  
25 in the images as it was shown in Figure 7. The mean value of the NLSM for the malignant  
26 and benign masses was -806 kPa and -619 kPa, respectively. Even though this two values are  
27 relatively similar, when looking closely at the NLSM of patients 6, 7 and 8, all  
28 fibroadenomas, the mean values for  $A$  is -424 kPa. It is interesting to point out that Patient 5  
29 presented with a phyllodes tumor which is a rare type of breast mass which can usually be  
30 benign, malignant or borderline. In the case of our patient, the biopsy revealed that it was a  
31 benign mass. Nevertheless, due to the histology of the phyllodes tumors (highly cellularized)  
32 it has been shown that they can present with mechanical properties similar to cancerous  
33 masses [27] which could explain why the values for the NLSM are similar to those malignant  
34 group. As it was mentioned before the NLSM showed a great variability around and inside  
35 the masses. Hence, the standard deviations (std) of the nonlinear parameter were greatly  
36 higher in the lesions than in the normal tissue.  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52

53 Other interesting values presented in Table 2, are the ratios of the NLSM ( $A^+/A^*$ ). In  
54 healthy tissues the mean ratio of the NLSM for the 3 subjects was 0.7 and in the case of the  
55 malignant lesions the ratio of the mean was 10.1 and 5.7 in the cases of benign masses. The  
56 higher values in the malignant and benign cases shows the heterogeneity of the nonlinear  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 shear properties of lesions. Such variability in the NLSM could be used as a complementary  
4 parameter for breast cancer diagnosis. Nevertheless, while these results are very encouraging  
5 a clinical study on a controlled cohort of patients is needed in order to conclude the  
6 relationship between NLSM and malignancy.  
7  
8

9  
10 In the present stage, this technique has some disadvantages since it relies on the  
11 operator to generate the compression. Currently, as the system switches from clinical mode  
12 (shear modulus imaging) to research mode (ultrafast imaging to track the compressions), the  
13 skill of the radiologist to keep a constant deformation and to make subsequent compressions  
14 is of great importance to results. Further technological development could avoid these  
15 problems by generating in real time, ultrasound image, shear modulus map and strain maps in  
16 the same time, allowing the operator to have live feedback to facilitate compression.  
17  
18  
19  
20  
21

22  
23 Another possible drawback could be to start acquisition with a true free stress. Even  
24 though a pre-stress would bias shear elasticity maps, theoretically, this should have little to  
25 no effect on the NLSM maps since it relies on a linear regression of shear modulus as a  
26 function of stress (Eq. 3). Barr et al. [28], showed that compression is very important in the  
27 way to acquire shear modulus map in breast, but these pre-compression in the presented  
28 technique should only influence the first point of the linear regression. Therefore it is unlikely  
29 that it would change the slope used in the calculation of the nonlinear shear modulus since the  
30 law governing this relationship is linear.  
31  
32  
33  
34  
35  
36

37 However, to our knowledge this is the first study that has successfully measured the  
38 nonlinear shear modulus *in vivo* in breast, both in healthy subjects and patients, in a quasi-real  
39 time fashion.  
40  
41

## 42 V. CONCLUSION.

43  
44 In this study, the acoustoelasticity theory in quasi-incompressible media was adapted  
45 on a commercial ultrasound device in order to measure the nonlinear elastic parameter of  
46 breast tissue *in vivo*. The method is based on a combination of two elastography techniques:  
47 supersonic shear imaging giving access to shear modulus maps and static elastography, from  
48 which the stress field is recover. The phantoms created for this study with nonlinear properties  
49 allowed us to demonstrate the ability of the technique to detect inclusions that were invisible  
50 to conventional shear modulus imaging techniques. Furthermore, the application *in vivo*  
51 showed an improvement in contrast between breast lesions and healthy tissue comparing to  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

shear modulus imaging alone. The next step is to improve the technique to decrease the acquisition time and obtain real time NLSM maps in order to conduct a bigger clinical study to establish the relationship between malignancy and the NLSM.

#### ACKNOWLEDGMENT

This work is supported by LABEX WIFI (Laboratory of Excellence within the French Program "Investments for the Future") under references ANR-10-LABX-24 and ANR-10-IDEX-0001-02 PSL\*.

#### REFERENCES

- [1] J. Ophir, I. Céspedes, H. Ponnekanti, Y. Yazdi, and X. Li, "Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues.," *Ultrason. Imaging*, vol. 13, no. 2, pp. 111–34, Apr. 1991.
- [2] J. Ophir, S. K. Alam, B. Garra, F. Kallel, E. Konofagou, T. Krouskop, and T. Varghese, "Elastography: ultrasonic estimation and imaging of the elastic properties of tissues.," *Proc. Inst. Mech. Eng. H.*, vol. 213, no. 3, pp. 203–33, Jan. 1999.
- [3] K. Nightingale, M. S. Soo, R. Nightingale, and G. Trahey, "Acoustic radiation force impulse imaging: in vivo demonstration of clinical feasibility.," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 28, no. 2, pp. 227–35, Feb. 2002.
- [4] K. Nightingale, R. Bentley, and G. Trahey, "Observations of tissue response to acoustic radiation force: opportunities for imaging.," *Ultrason. Imaging*, vol. 24, no. 3, pp. 129–38, Jul. 2002.
- [5] J. Bercoff, M. Tanter, and M. Fink, "Supersonic shear imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 51, no. 4, pp. 396–409, Apr. 2004.
- [6] K. Nightingale, S. McAleavey, and G. Trahey, "Shear-wave generation using acoustic radiation force: in vivo and ex vivo results.," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 29, no. 12, pp. 1715–23, Dec. 2003.

- 1  
2  
3 [7] R. Muthupillai, D. J. Lomas, P. J. Rossman, J. F. Greenleaf, A. Manduca, and R. L.  
4 Ehman, "Magnetic resonance elastography by direct visualization of propagating  
5 acoustic strain waves.," *Science*, vol. 269, no. 5232, pp. 1854–7, Sep. 1995.  
6  
7  
8  
9 [8] M. Tanter, J. Bercoff, A. Athanasiou, T. Deffieux, J.-L. Gennisson, G. Montaldo, M.  
10 Muller, A. Tardivon, and M. Fink, "Quantitative assessment of breast lesion  
11 viscoelasticity: initial clinical results using supersonic shear imaging.," *Ultrasound*  
12 *Med. Biol.*, vol. 34, no. 9, pp. 1373–86, Sep. 2008.  
13  
14  
15  
16 [9] W. A. Berg, D. O. Cosgrove, C. J. Doré, F. K. W. Schäfer, W. E. Svensson, R. J.  
17 Hooley, R. Ohlinger, E. B. Mendelson, C. Balu-Maestro, M. Locatelli, C. Tourasse, B.  
18 C. Cavanaugh, V. Juhan, A. T. Stavros, A. Tardivon, J. Gay, J.-P. Henry, and C.  
19 Cohen-Bacrie, "Shear-wave elastography improves the specificity of breast US: the  
20 BE1 multinational study of 939 masses.," *Radiology*, vol. 262, no. 2, pp. 435–49, Feb.  
21 2012.  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28 [10] E. Bavu, J.-L. Gennisson, M. Couade, J. Bercoff, V. Mallet, M. Fink, A. Badel, A.  
29 Vallet-Pichard, B. Nalpas, M. Tanter, and S. Pol, "Noninvasive in vivo liver fibrosis  
30 evaluation using supersonic shear imaging: a clinical study on 113 hepatitis C virus  
31 patients.," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 37, no. 9, pp. 1361–73, Sep. 2011.  
32  
33  
34  
35  
36 [11] T. Deffieux, J.-L. Gennisson, L. Bousquet, M. Corouge, S. Coscone, D. Amroun, S.  
37 Tripon, B. Terris, V. Mallet, P. Sogni, M. Tanter, and S. Pol, "Investigating liver  
38 stiffness and viscosity for fibrosis, steatosis and activity staging using shear wave  
39 elastography.," *J. Hepatol.*, vol. 62, no. 2, pp. 317-324, 2015.  
40  
41  
42  
43 [12] M. L. Palmeri, M. H. Wang, J. J. Dahl, K. D. Frinkley, and K. R. Nightingale,  
44 "Quantifying hepatic shear modulus in vivo using acoustic radiation force.,"  
45 *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 34, no. 4, pp. 546–58, Apr. 2008.  
46  
47  
48  
49 [13] D. O. Cosgrove, W. A. Berg, C. J. Doré, D. M. Skyba, J.-P. Henry, J. Gay, and C.  
50 Cohen-Bacrie, "Shear wave elastography for breast masses is highly reproducible.,"  
51 *Eur. Radiol.*, vol. 22, no. 5, pp. 1023–32, May 2012.  
52  
53  
54  
55 [14] Kim MY, Choi N, Yang JH, Yoo YB, Park KS, "False positive or negative results of  
56 shear-wave elastography in differentiating benign from malignant breast masses:  
57  
58  
59  
60

- 1  
2  
3 analysis of clinical and ultrasonographic characteristics.", *Acta Radiol.*, doi:  
4 10.1177/0284185114551400, 2014.  
5  
6  
7  
8 [15] T. A. Krouskop, T. M. Wheeler, F. Kallel, B. S. Garra, and T. Hall, "Elastic moduli of  
9 breast and prostate tissues under compression.," *Ultrason. Imaging*, vol. 20, no. 4, pp.  
10 260–74, Oct. 1998.  
11  
12  
13 [16] S. Goenezen, J.-F. Dord, Z. Sink, P. E. Barbone, J. Jiang, T. J. Hall, and A. A. Oberai,  
14 "Linear and nonlinear elastic modulus imaging: an application to breast cancer  
15 diagnosis.," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 31, no. 8, pp. 1628–37, Aug. 2012.  
16  
17  
18 [17] A.A. Oberain, N.H. Gokhale, S. Goenezen, P.E. Barbone, T.J. Hall, A.M. Sommer, and  
19 J. Jiang. "Linear and nonlinear elasticity imaging of soft tissue in vivo: demonstration  
20 of feasibility" *Phys. Med. Biol.*, vol. 54, no. 5, pp. 1191-1207, 2009.  
21  
22  
23 [18] T. J. Hall, P. Barbone, A. A. Oberai, J. Jiang, J.-F. Dord, S. Goenezen, and T. G.  
24 Fisher. "Recent results in nonlinear strain and modulus imaging", *Curr. Med. Imaging*  
25 *Rev.*, vol. 7, no. 4, pp. 313–327, 2011.  
26  
27  
28 [19] J.-L. Gennisson, M. Rénier, S. Catheline, C. Barrière, J. Bercoff, M. Tanter, and M.  
29 Fink, "Acoustoelasticity in soft solids: assessment of the nonlinear shear modulus with  
30 the acoustic radiation force.," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 122, no. 6, pp. 3211–9, Dec.  
31 2007.  
32  
33  
34 [20] Y. Jiang, G.-Y. Li, L.-X. Qian, X.-D. Hu, D. Liu, S. Liang, and Y. Cao,  
35 "Characterization of the nonlinear elastic properties of soft tissues using the supersonic  
36 shear imaging (SSI) technique: Inverse method, ex vivo and in vivo experiments.,"  
37 *Med. Image Anal.*, vol. 20, no. 1, pp. 97–111, Feb. 2015.  
38  
39  
40 [21] M. Destrade, A. Goriely, and G. Saccomandi, "Scalar evolution equations for shear  
41 waves in incompressible solids: a simple derivation of the Z, ZK, KZK and KP  
42 equations," *Proc. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.*, vol. 467, no. 2131, pp. 1823–1834,  
43 Dec. 2010.  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



- 1  
2  
3 [22] M. Destrade, M. D. Gilchrist, and G. Saccomandi, "Third- and fourth-order constants  
4 of incompressible soft solids and the acousto-elastic effect.," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol.  
5 127, no. 5, pp. 2759–63, May 2010.  
6  
7  
8  
9 [23] H. Latorre-Ossa, J.-L. Gennisson, E. De Brosses, and M. Tanter, "Quantitative imaging  
10 of nonlinear shear modulus by combining static elastography and shear wave  
11 elastography.," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 59, no. 4, pp.  
12 833–9, Apr. 2012.  
13  
14  
15  
16 [24] M.E. Fernández-Sánchez, S. Barbier, J. Whitehead, G. Béalle, A. Michel, H. Latorre-  
17 Ossa, C. Rey, L. Fouassier, A. Claperon, L. Brullé, E. Girard, N. Servant, T. Rio-Frio,  
18 H. Marie, S. Lesieur, C. Housset, J.L. Gennisson, M. Tanter, C. Ménager, S. Fre, S.  
19 Robine, and E. Farge, "Mechanical induction of the tumorigenic beta-catenin pathway  
20 by tumour growth pressure.," *Nature*, in press 2015.  
21  
22  
23  
24  
25 [25] M. F. Hamilton, Y. A. Ilinskii, and E. A. Zabolotskaya, "Separation of compressibility  
26 and shear deformation in the elastic energy density (L)," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 116,  
27 no. 1, p. 41, Jul. 2004.  
28  
29  
30  
31  
32 [26] S. Catheline, J. L. Gennisson, and M. Fink, "Measurement of elastic nonlinearity of  
33 soft solid with transient elastography.," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 114, no. 6 Pt 1, pp.  
34 3087–91, Dec. 2003.  
35  
36  
37  
38 [27] L.-J. Li, H. Zeng, B. Ou, B.-M. Luo, X.-Y. Xiao, W.-J. Zhong, X.-B. Zhao, Z.-Z. Zhao,  
39 H.-Y. Yang, and H. Zhi, "Ultrasonic elastography features of phyllodes tumors of the  
40 breast: a clinical research.," *PLoS One*, vol. 9, no. 1, p. e85257, Jan. 2014.  
41  
42  
43  
44 [28] Barr RG, Zhang Z, "Effects of precompression on elasticity imaging of the breast:  
45 development of a clinically useful semiquantitative method of precompression  
46 assessment." *J. Ultrasound Med.*, vol. 31, 2012;31(6):895-902  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

FIGURE CAPTIONS

Figure 1 : a) Ultrasound probe orientation for the acoustoelasticity experiments in phantoms. The particle displacement are polarized in the  $u$  direction while the shear wave propagates in the  $k$  direction. B) Ultrasonic probe with an added plate in order to facilitate uniaxial compression.

Figure 2 : Nonlinear phantom made using a block of gelatin and agar with pork liver inclusions matching the elasticity of the agar-gelatin block.

Figure 3 : Flow diagram depicting the testing protocol for the calculation of the nonlinear shear modulus (A).

Figure 4 : Results obtain in a nonlinear phantom. a,d,g) show the Bmode images at 3 different levels of compression, zero, half and full compression, respectively. b,e,h) show the corresponding shear modulus images. c,f,i) show the progressive relationship between the stress and the shear modulus for two points in the phantom (the blue one in the liver sample and the red one on the gelatin block).

Figure 5 : Nonlinear shear modulus A of a liver-gelatin phantom. a) Bmode and the shear modulus map at free stress superimposed. b) The corresponding NLSM map. The ROI's, "+" and "\*" represent a region in the liver inclusion and in the block of gelatin, respectively. This map was recovered after 20% of compression. Values for different phantoms are summarized in table 1.

Figure 6 : Results obtain for a patient with a breast lesion. a,d,g) show the Bmode images at 3 different levels of compression, zero, half and full compression, respectively. b,e,h) show the corresponding shear modulus images. c,f,i) show the progressive relationship between the stress and the shear modulus for an area within the mass (blue) and an area in the healthy tissue (red).

Figure 7 : Results of the NLSM on 3 patients, a healthy volunteer, a patients presenting with a tumor and a patient with a benign lesion. The left column shows the ultrasound images where the mass are enclosed in red squares. The center and the right columns show the corresponding images for the shear and the nonlinear shear modulus, respectively. The dotter squares are the ROI's used in the mean and standard deviation values.

TABLE CAPTIONS

Table I: Values for the NLSM ( $A$ , kPa) and the shear modulus at zero compression ( $\mu_0$ , kPa) in the nonlinear phantoms. The ratios for the shear between the inclusion (liver) and the gelatin are also presented

Table II: Results of the shear modulus at free stress and nonlinear shear modulus for healthy subjects and patients recruited.

For Review Only

Table I: Bernal et al.

Phantom		NLSM, A (kPa) ± std	$\mu_0$ (kPa) ± std
1	Liver (+)	-115.7 ± 29.2	3.3 ± 0.5
	Gelatin (*)	-39.6 ± 3.8	3.0 ± 0.3
	Ratio (+/*)	2.9	1.1
2	Liver (+)	-98.4 ± 18.3	4.0 ± 0.4
	Gelatin(*)	-44.5 ± 5.3	3.6 ± 0.2
	Ratio (+/*)	2.2	1.1
3	Liver (+)	-138.1 ± 31.7	4.5 ± 0.9
	Gelatin(*)	-37.2 ± 4.9	4.6 ± 0.4
	Ratio (+/*)	3.7	1.0
4	Liver (+)	-114.6 ± 39.3	4.1 ± 0.6
	Gelatin(*)	-32.5 ± 3.3	3.7 ± 0.3
	Ratio (+/*)	3.5	1.1
5	Liver (+)	-103.9 ± 30.2	2.8 ± 0.4
	Gelatin(*)	-20.0 ± 4.5	2.1 ± 0.2
	Ratio (+/*)	5.2	1.3
mean	Liver (+)	-114.1 ± 39.3	3.7 ± 0.9
	Gelatin(*)	-34.7 ± 5.3	3.4 ± 0.4
	Ratio (+/*)	3.3	1.1

view Only

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Table II: Bernal et al.

Subjects and patients		Shear modulus at free stress (kPa)				Non linear shear modulus (kPa)			
		Lesion (Tissue for healthy) $\mu \pm \text{std}$	Tissue $\mu^* \pm \text{std}$	Ratio $\mu^+/\mu^*$	Ratio $\text{Std}(\mu^+)/\text{Std}(\mu^*)$	Lesion (Tissue for healthy) $A^+ \pm \text{std}$	Tissue $A^* \pm \text{std}$	Ratio $A^+/A^*$	Ratio $\text{Std}(A^+)/\text{Std}(A^*)$
Healthy Subjects	Subject 1	1.0 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 1.0	0.7	2.3	-53 $\pm$ 32	-52 $\pm$ 10	1.0	3.2
	Subject 2	2.0 $\pm$ 0.3	3.4 $\pm$ 0.8	0.6	0.4	-97 $\pm$ 51	-129 $\pm$ 87	0.8	0.6
	Subject 3	2.5 $\pm$ 0.6	1.5 $\pm$ 0.9	1.6	0.7	-89 $\pm$ 48	-149 $\pm$ 116	0.6	0.4
	Mean	1.7 $\pm$ 0.8	2.0 $\pm$ 1.1	0.8	0.7	-77 $\pm$ 23	-111 $\pm$ 50	0.7	0.4
Patients with malignant masses	Patient 1	7.8 $\pm$ 2.4	1.3 $\pm$ 0.2	6.0	12.0	-698 $\pm$ 1014	-46 $\pm$ 19	15.2	53.4
	Patient 2	1.5 $\pm$ 1.9	1.3 $\pm$ 0.3	1.2	6.3	-93 $\pm$ 763	-18 $\pm$ 6	5.2	127.2
	Patient 3	6.8 $\pm$ 6.4	4.1 $\pm$ 1.5	1.7	4.3	-1105 $\pm$ 2176	-112 $\pm$ 65	9.9	33.5
	Patient 4	11.6 $\pm$ 3.4	2.4 $\pm$ 0.5	4.8	6.8	-1328 $\pm$ 2560	-144 $\pm$ 90	9.2	28.2
	Mean	6.9 $\pm$ 4.1	2.3 $\pm$ 1.3	3.0	3.1	-806 $\pm$ 542	-80 $\pm$ 58	10.1	9.3
Patients with benign masses	Patient 5	6.1 $\pm$ 2.9	2.8 $\pm$ 0.9	2.2	3.2	-1203 $\pm$ 2675	-130 $\pm$ 95	9.3	28.2
	Patient 6	3.5 $\pm$ 1.4	1.1 $\pm$ 0.2	3.2	7.0	-414 $\pm$ 742	-39 $\pm$ 10	10.6	74.2
	Patient 7	7.2 $\pm$ 4.7	4.7 $\pm$ 2.1	1.5	2.2	-497 $\pm$ 1317	-215 $\pm$ 259	2.3	5.1
	Patient 8	5.9 $\pm$ 2.1	1.0 $\pm$ 0.3	6.1	7.0	-363 $\pm$ 233	-52 $\pm$ 23	7.0	10.1
	Mean	5.7 $\pm$ 1.5	2.4 $\pm$ 1.7	2.4	0.9	-619 $\pm$ 393	-109 $\pm$ 81	5.7	4.9

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

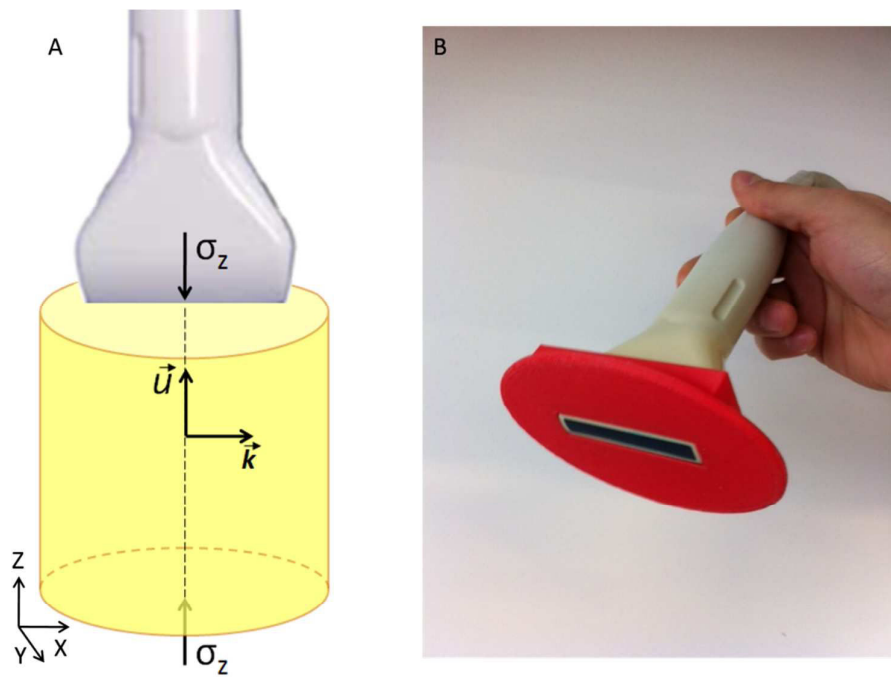


Figure 1: Bernal et al.

Review Only

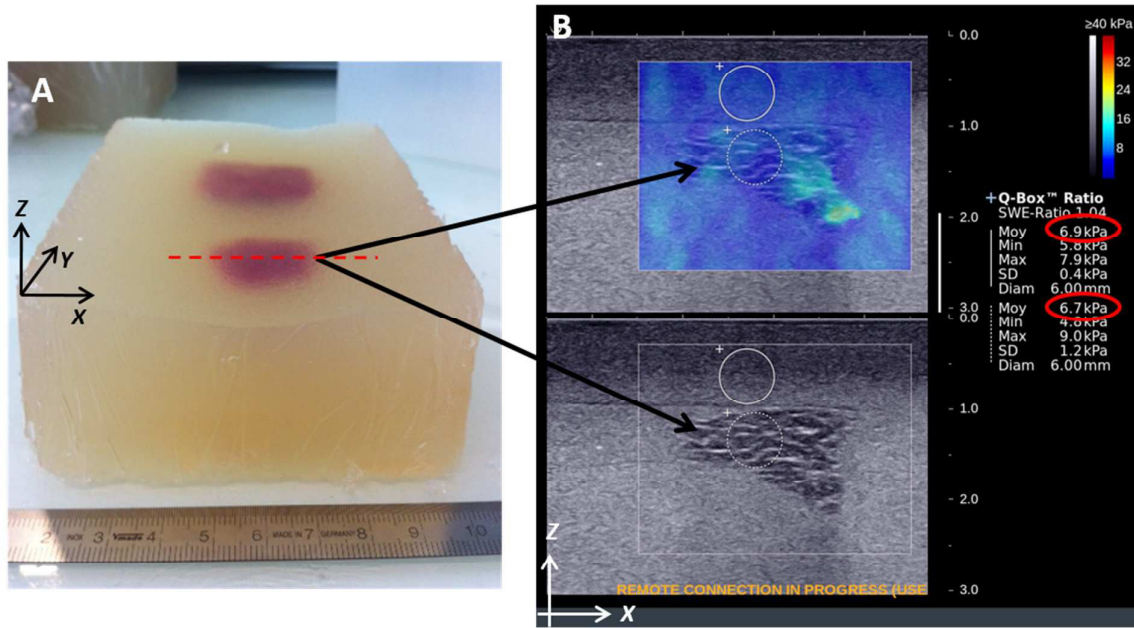


Figure 2: Bernal et al.

Preview Only

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

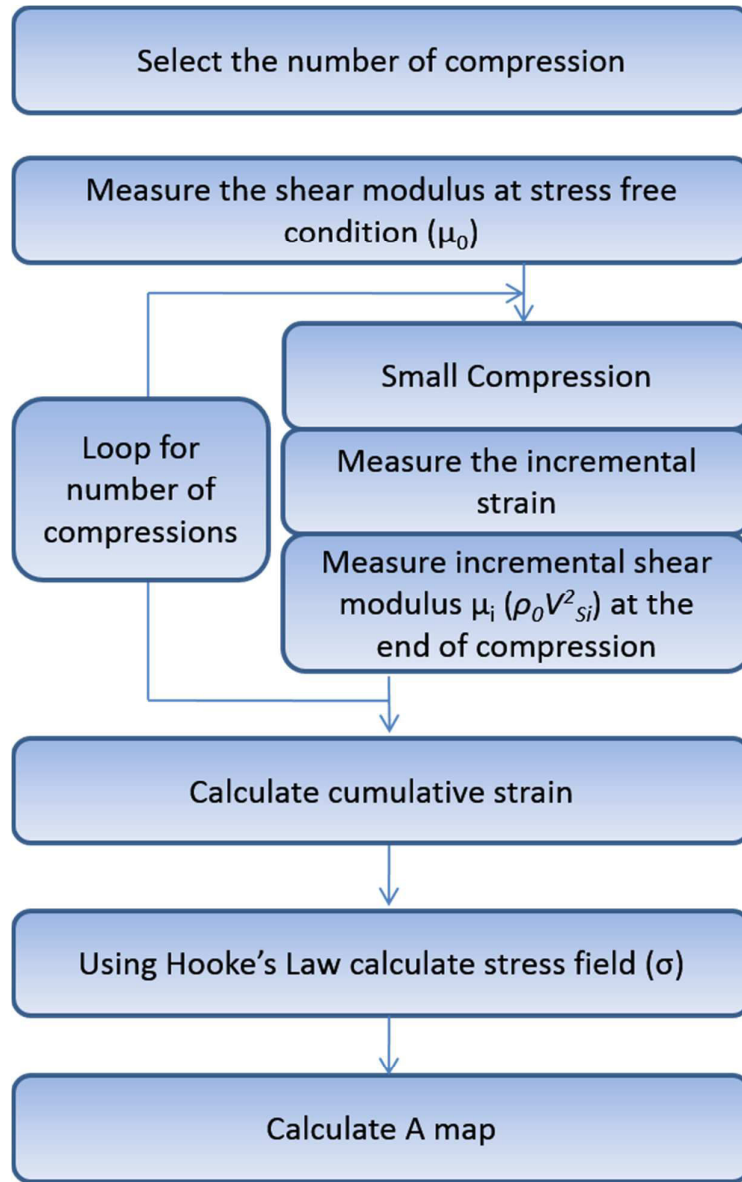


Figure 3: Bernal et al.



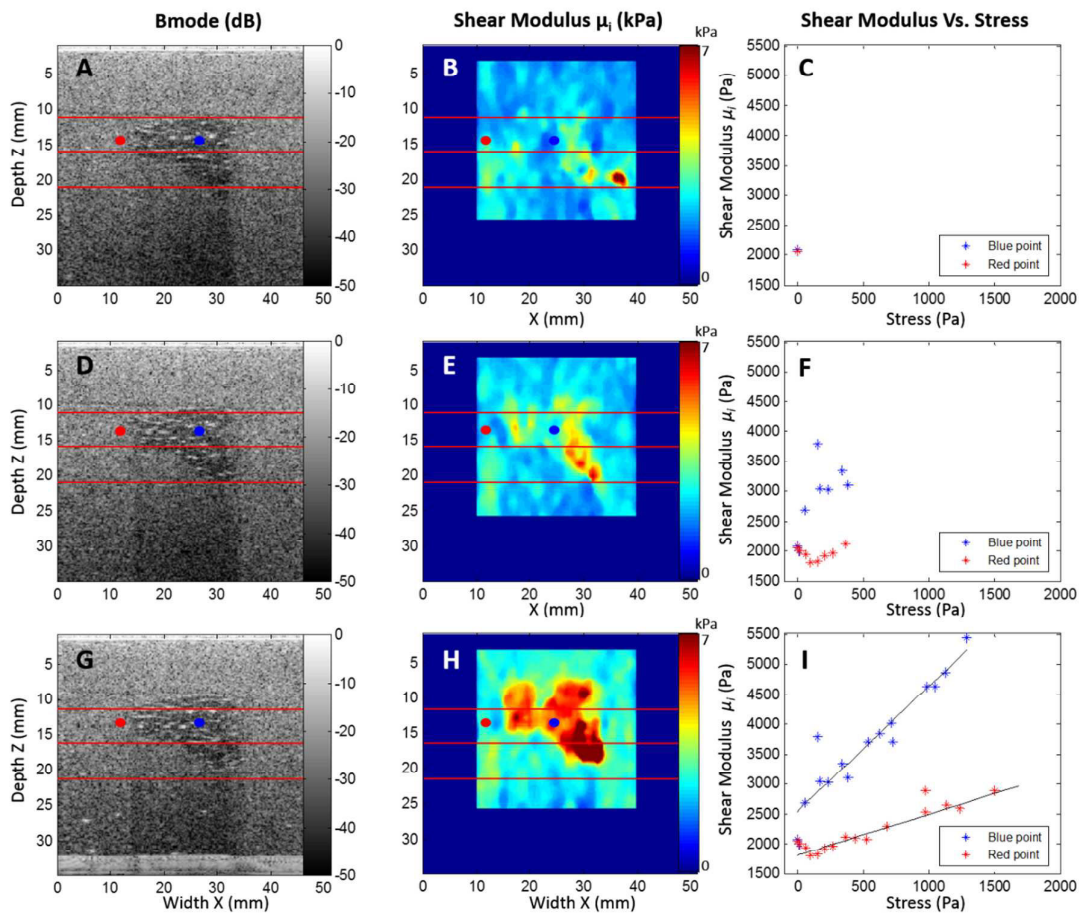


Figure 4: Bernal et al.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

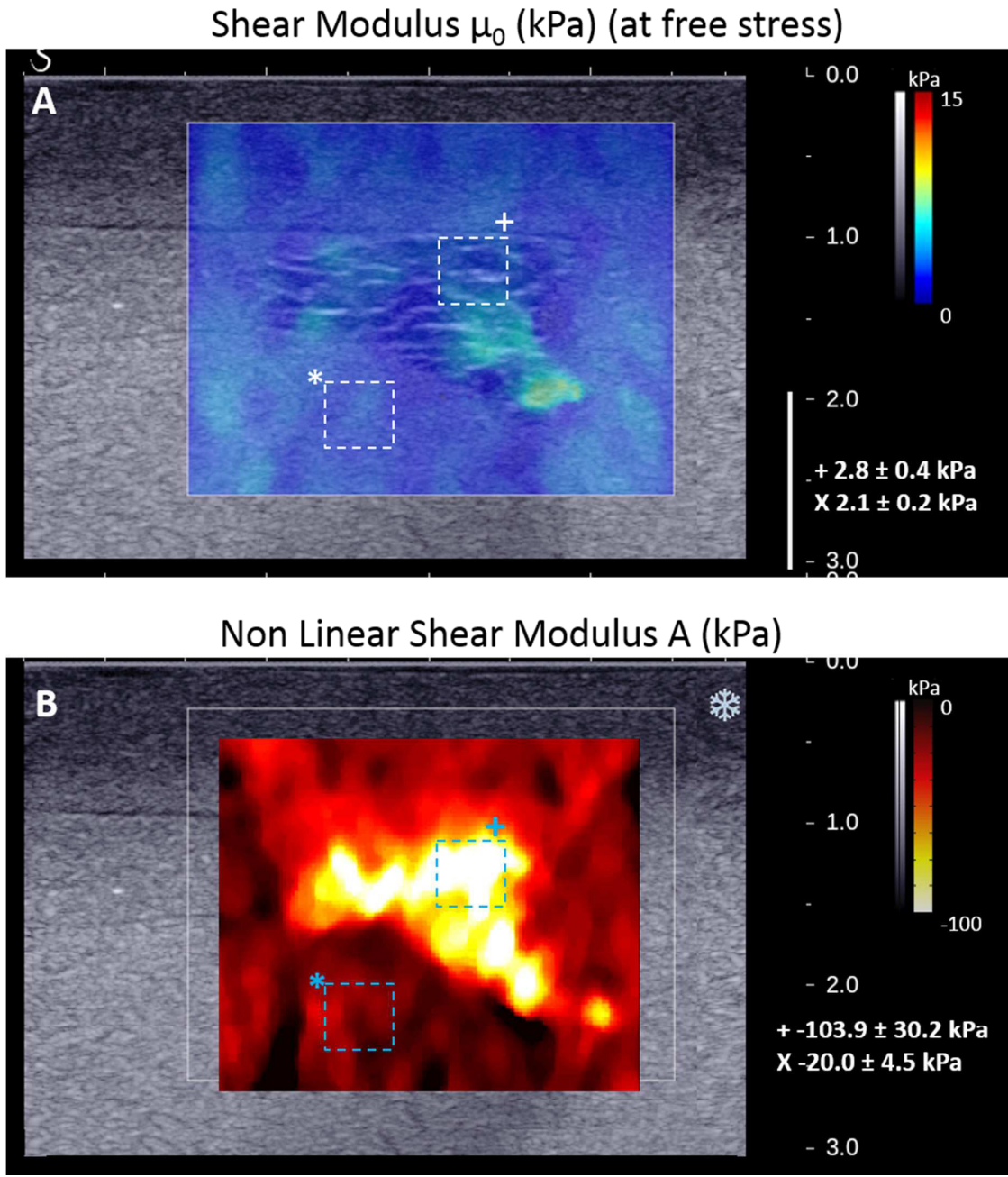


Figure 5: Bernal et al.

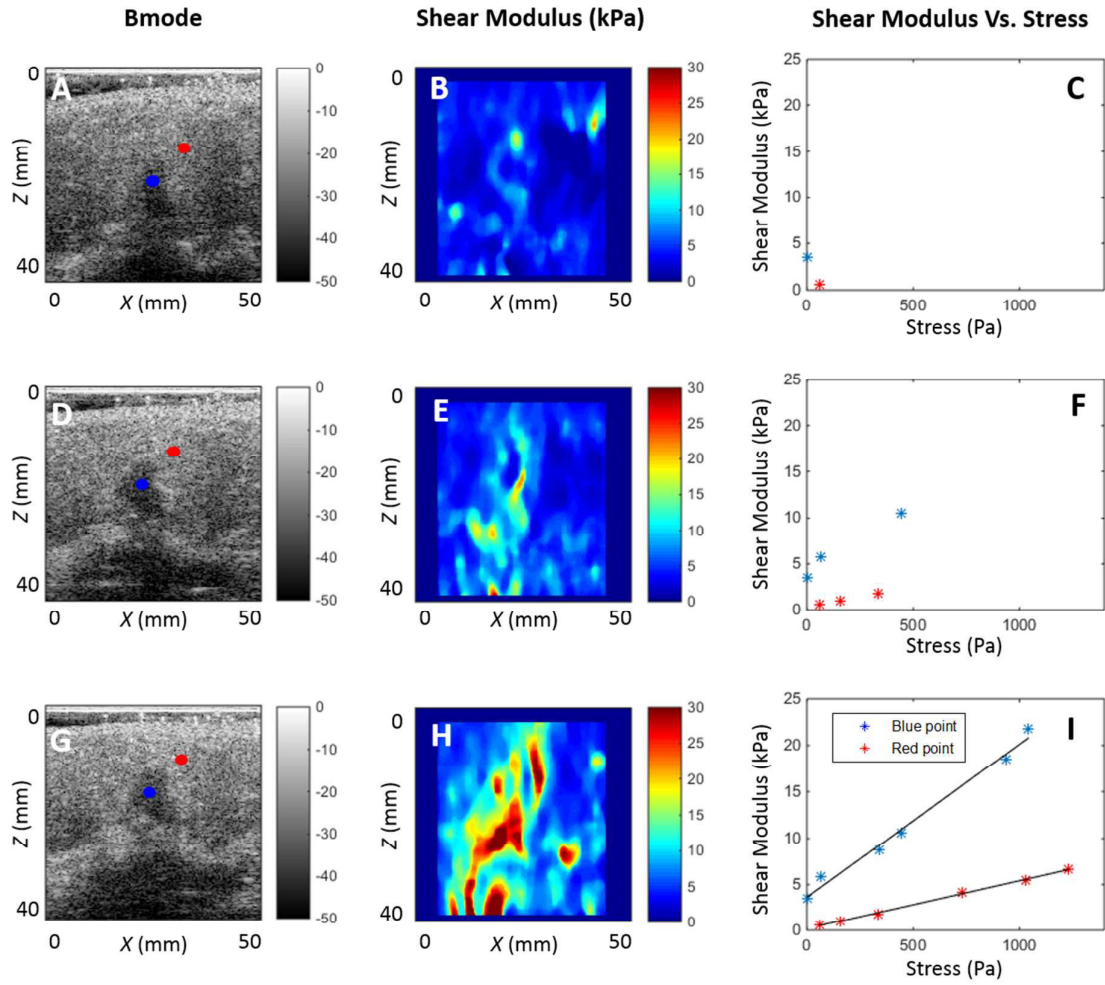


Figure 6: Bernal et al.

Only

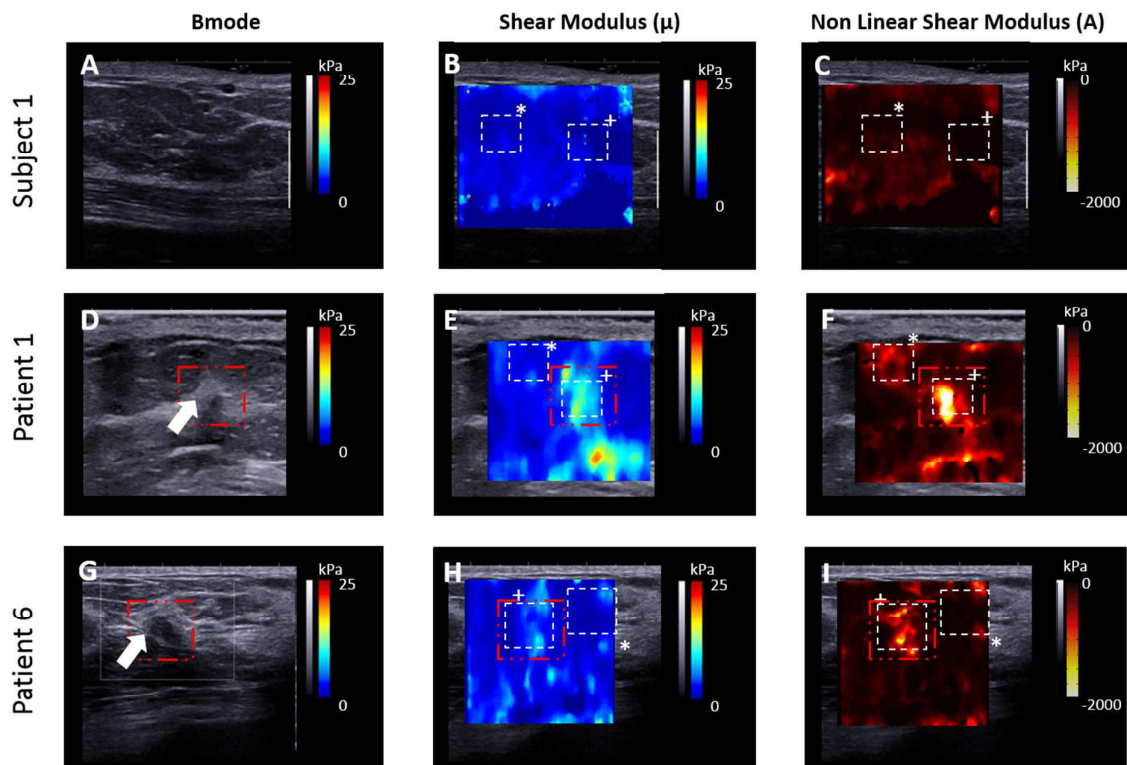
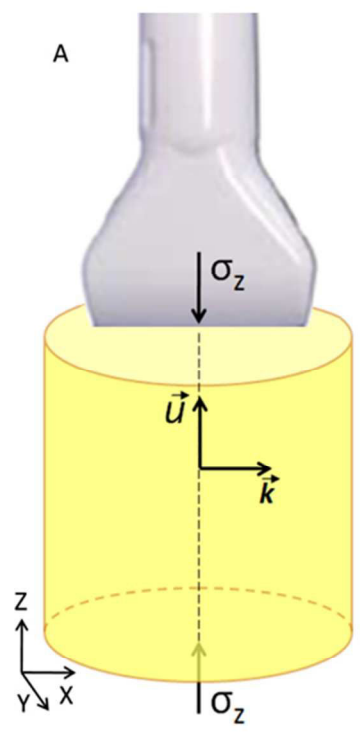


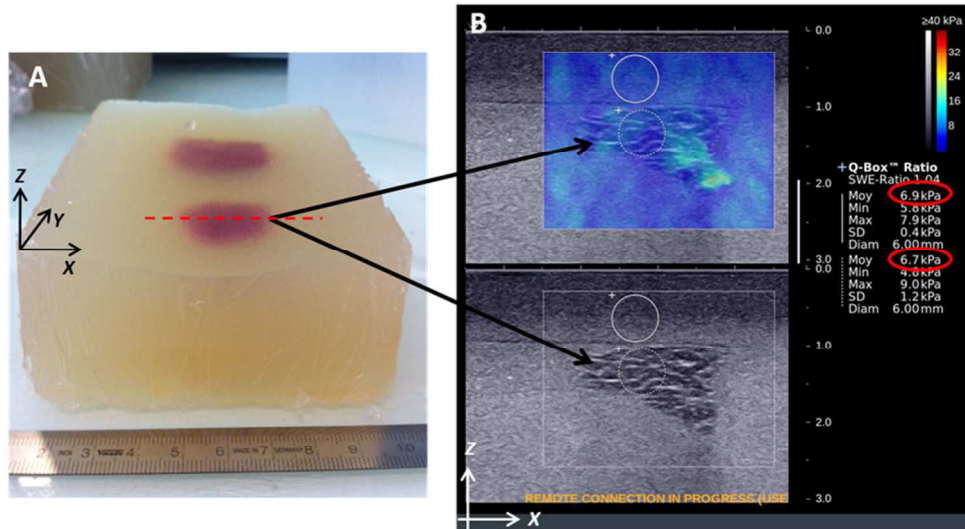
Figure 7: Bernal et al.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

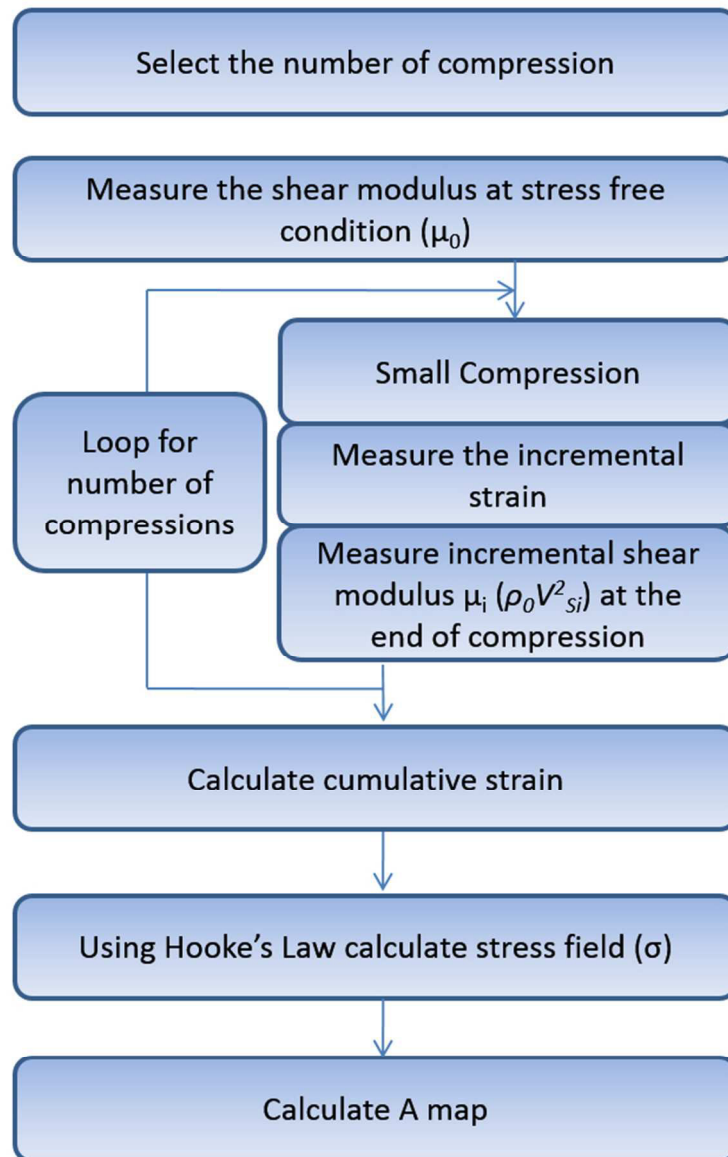


ew Only

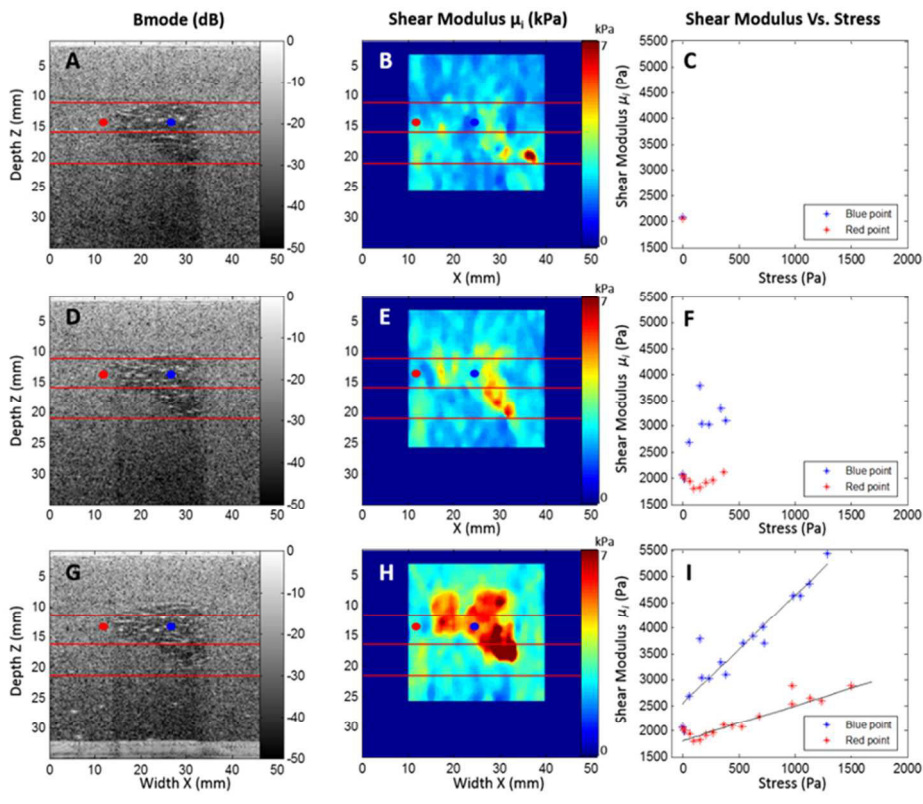
1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



review Only



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

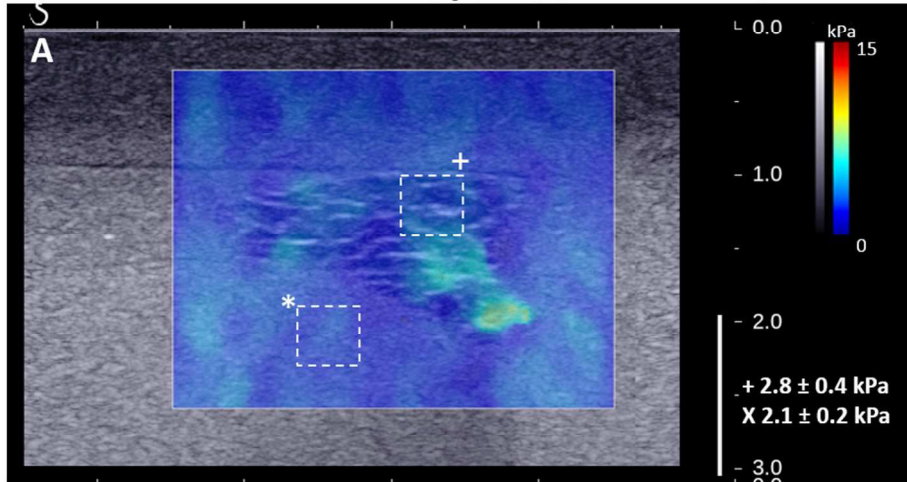


Only

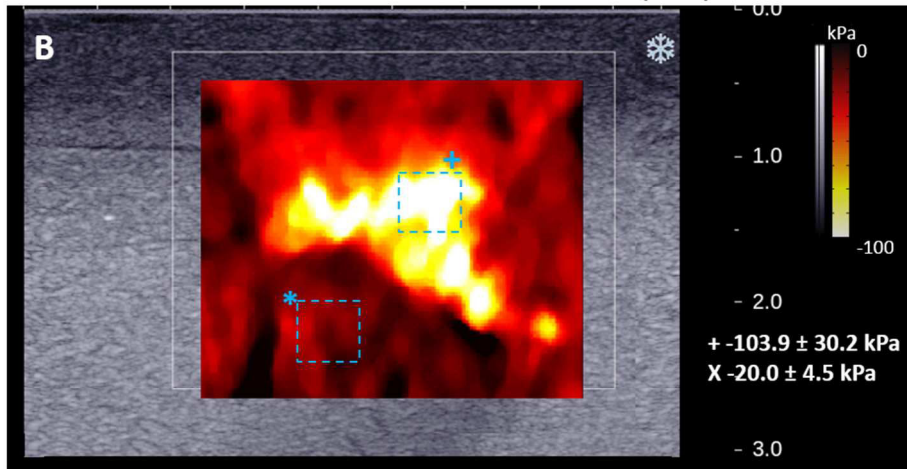


1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

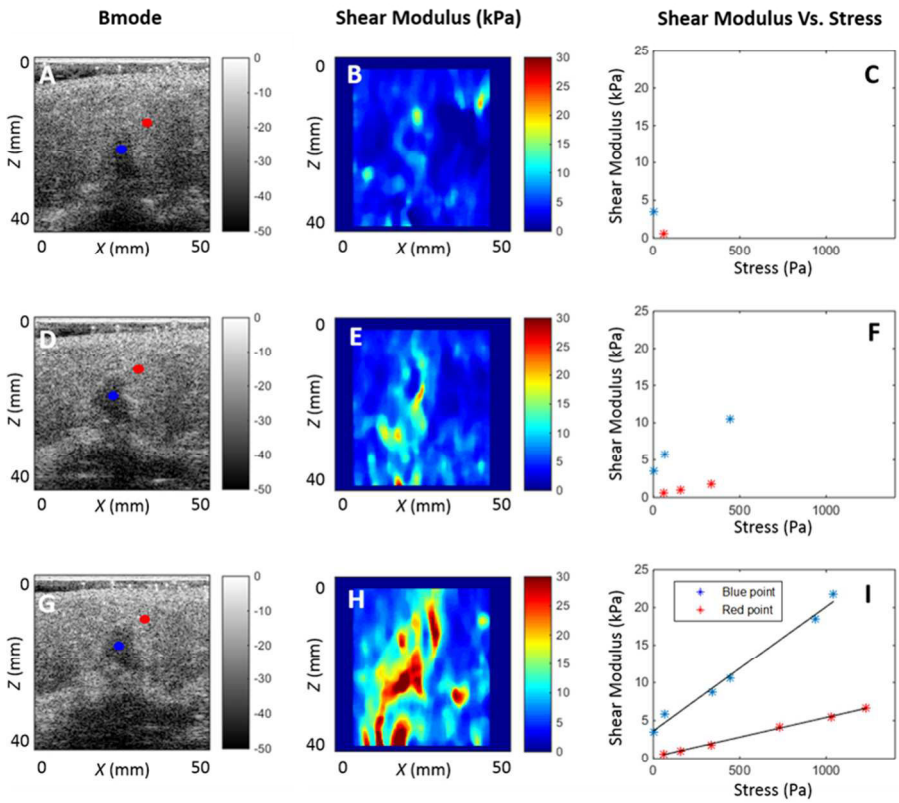
Shear Modulus  $\mu_0$  (kPa) (at free stress)



Non Linear Shear Modulus A (kPa)

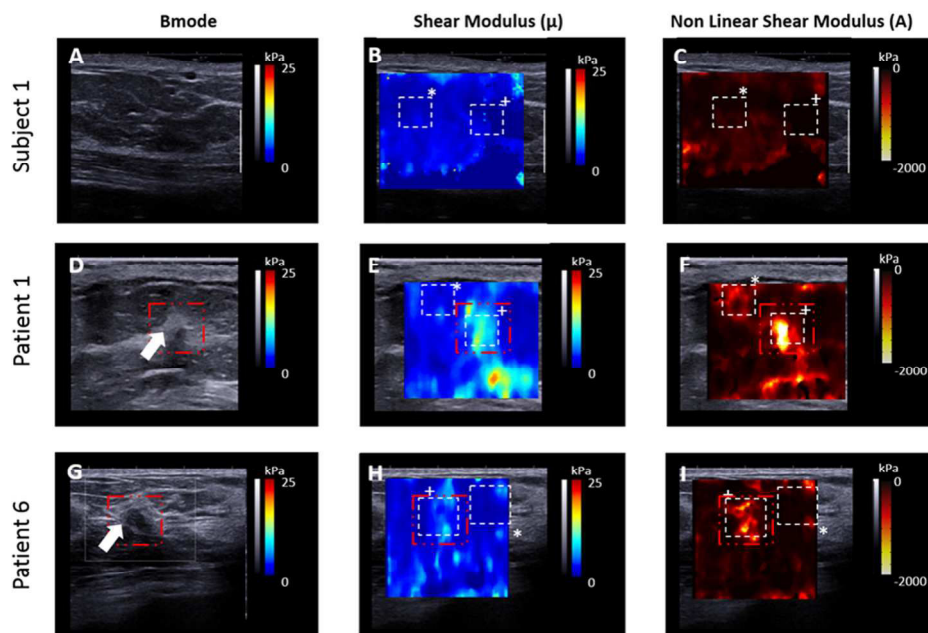


1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



Only

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



View Only

# RESUME

« Elastographie des tumeurs du sein et de la réponse au traitement »

**Introduction :** L'élastographie shear wave (ESW) est une technique récente d'échographie qui évalue quantitativement la dureté des tissus et permet d'améliorer la caractérisation des lésions mammaires. Comme toute nouvelle technique d'imagerie, l'ESW nécessite une validation préclinique pour définir les conditions d'utilisations et établir les limites des champs d'applications dans lesquelles la technique pourra être considérée comme valide.

**Matériels et méthodes :** Dans une première partie effectuée au laboratoire de recherche en Imagerie nous avons étudié les éléments histologiques sous tendant l'image d'ESW sur un modèle de cancer du sein implanté chez la souris, au cours de sa croissance puis sous traitement. Dans une deuxième partie, nous avons étudié chez des patientes le rôle de la compression manuelle en ESW pour la caractérisation des lésions mammaires. Dans une dernière partie, effectuée en collaboration avec une équipe de l'Institut Langevin Ondes et Images, nous avons étudié la faisabilité d'un nouveau paramètre, le module de cisaillement non linéaire pour l'analyse des lésions mammaires.

**Résultats :** Au laboratoire, nous avons établi des corrélations entre la dureté mesurée en élastographie et les caractéristiques histologiques des tumeurs, y compris sous traitement. Nous avons montré que la fibrose était associée à une dureté élevée et la nécrose à une dureté moindre. Notre étude clinique a montré qu'une compression manuelle minimale était nécessaire pour obtenir de bonnes performances de l'ESW et qu'une pression trop élevée devait être évitée. Enfin nous avons montré la faisabilité en imagerie mammaire d'un nouveau paramètre quantitatif obtenu en élastographie shear wave : le module de cisaillement non linéaire.

**Conclusion :** A partir de travail de thèse, une meilleure compréhension de la part des éléments biologiques et techniques en ESW du sein est possible et des recommandations pour l'utilisation clinique peuvent être formulées. Nos observations cliniques ont entraîné la mise au point d'un nouveau paramètre diagnostique quantitatif : le module de cisaillement non linéaire.