Caractérisation ex vivo et in vivo des tissus mous humains pour la modélisation biomécanique du sein

Noémie Briot

▶ **To cite this version:**

Noémie Briot. Caractérisation ex vivo et in vivo des tissus mous humains pour la modélisation biomécanique du sein. Biomécanique [physics.med-ph]. Université Grenoble Alpes [2020-..], 2022. Français. ⟨NNT : 2022GRALS034⟩. ⟨tel-04052854⟩

HAL Id: tel-04052854

https://theses.hal.science/tel-04052854v1

Submitted on 30 Mar 2023

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.

HAL Authorization

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

École doctorale : ISCE - Ingénierie pour la Santé la Cognition et l'Environnement
Spécialité : BIS - Biotechnologie, instrumentation, signal et imagerie pour la biologie, la médecine et l'environnement
Unité de recherche : Translational Innovation in Medicine and Complexity

Caractérisation ex vivo et in vivo des tissus mous humains pour la modélisation biomécanique du sein

Ex vivo and in vivo characterisation of biological soft tissues for the biomechanical modelling of human breast

Présentée par :

Noémie BRIOT

Direction de thèse :

Yohan PAYAN DIRECTEUR DE RECHERCHE, Université Grenoble Alpes	Directeur de thèse
Grégory CHAGNON PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Grenoble Alpes	Co-directeur de thèse

Rapporteurs :

KARINE BRUYERE-GARNIER
Directeur de recherche, UNIVERSITE GUSTAVE EIFFEL
FABRICE MORESTIN
Professeur des Universités, INSA LYON

Thèse soutenue publiquement le **29 novembre 2022**, devant le jury composé de :

YOHAN PAYAN Directeur de recherche, CNRS DELEGATION ALPES	Directeur de thèse
GREGORY CHAGNON Professeur des Universités, UNIVERSITE GRENOBLE ALPES	Co-directeur de thèse
CHRISTIAN GEINDREAU Professeur des Universités, UNIVERSITE GRENOBLE ALPES	Président
ALINE BEL-BRUNON Maître de conférences HDR, INSA LYON	Examinatrice
KARINE BRUYERE-GARNIER Directeur de recherche, UNIVERSITE GUSTAVE EIFFEL	Rapporteure
FABRICE MORESTIN Professeur des Universités, INSA LYON	Rapporteur

Invités :

NATHANAEL CONNESSON
Maître de conférences, UNIVERSITE GRENOBLE ALPES
EDOUARD GIRARD
Praticien-Hospitalier HDR, UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Remerciements

Je souhaite remercier, en premier lieu, l'ensemble des membres du jury. Pour commencer, merci à Christian Geindreau d'avoir accepté de présider ce jury de thèse avec toute la responsabilité et l'engagement que cela représente. Merci à Karine Bruyère-Garnier et Fabrice Morestin d'avoir rapporté ce manuscrit avec professionnalisme et rigueur. Merci à Aline Bel-Brunon et Christian Geindreau d'avoir assisté attentivement à cette soutenance de thèse, pour leurs questions pertinentes ainsi que pour avoir enrichi mon point de vue sur ce vaste sujet. Enfin, merci aux deux invités membres du jury, à Édouard Girard pour sa participation et son aide médicale tout au long de ces années de thèse et à Nathanaël Connesson pour ses collaborations scientifiques toujours captivantes et pertinantes.

Pour continuer, je souhaite remercier l'ensemble de mes directeurs de thèse. Pour commencer, merci à Alexandre Moreau-Gaudry et Sandrine Voros avec qui la collaboration aura été brève, mais formatrice. Je les remercie, et plus particulièrement Alexandre, de m'avoir permis et aidé à trouver ma voix dans le monde de la recherche. Enfin, je souhaite, tout particulièrement remercier Yohan Payan et Grégory Chagnon d'avoir encadrer cette thèse et l'ensemble de mon travail avec brio. J'ai pu, tout au long de ma thèse, apprécier leurs conseils, leur disponibilité, leur pertinence scientifique, ainsi que leur bienveillance toujours dans l'intérêt du bon déroulement de ma thèse.

Je suis, de même, extrêmement reconnaissante envers la communauté scientifique dans laquelle j'ai pu réaliser ma thèse. Notamment, je remercie mon équipe au sein du laboratoire TIMC et les membres qui la compose pour l'ensemble des collaborations que nous avons pu mettre en place et les bons moments passés ensemble. Je remercie également toute l'équipe de LADAF avec qui nous avons collaboré pour l'ensemble des dissections réalisées. Merci pour leur professionnalisme, leur dévotion pour la recherche et l'effort sans limites qu'ils mettent dans la formation des étudiants.

Enfin, je souhaite remercier ma famille et mes ami.e.s pour leur accompagnement tout au long de ces 10 années d'étude et plus particulièrement pour ces dernières années de thèse. Merci également à toutes celles qui ont participé activement à mes travaux de thèse. Pour finir, je souhaite remercier plus particulièrement, Corentin et Nox pour leurs encouragements au quotidien de par leur présence et leur soutien moral.

Table des matières

1 Chapitre 1 - Etat de l'art **10**

1.1 Anatomie du sein . . . 10

1.1.1 Anatomie externe . . . 10

1.1.2 Anatomie interne . . . 10

1.1.2.1 La peau . . . 11

1.1.2.2 La glande mammaire . . . 11

1.1.2.3 Les fascias . . . 12

1.1.2.4 Les ligaments . . . 13

1.1.2.5 Les ligaments de Cooper . . . 13

1.1.2.6 Les muscles et les os . . . 13

1.1.3 Evolution du sein avec l'âge . . . 14

1.2 Mécanique des tissus mous . . . 15

1.2.1 Caractérisation *ex vivo* . . . 15

1.2.1.1 Essais mécaniques classiques . . . 15

1.2.1.2 Test de compressibilité . . . 17

1.2.1.3 Conclusion . . . 18

1.2.2 Caractérisation *in vivo* . . . 18

1.2.2.1 Test par élastographie . . . 18

1.2.2.2 Test par succion . . . 19

1.2.2.3 Test par indentation . . . 19

1.2.3 Conclusion . . . 19

1.3 Caractérisation mécanique des tissus du sein dans la littérature . . . 20

1.3.1 *Ex vivo* . . . 21

1.3.2 *In vivo* . . . 22

1.3.3 Comparaison des résultats *ex vivo* et *in vivo* . . . 22

1.4 Conclusion Chapitre 1 . . . 22

2 Chapitre 2 - Tests *ex vivo* réalisés au cours de cette thèse **24**

2.1 Caractérisation expérimentale et modélisation des ligaments de Cooper . . . 24

2.1.1 Introduction à l'article . . . 24

2.1.2 Résumé en français . . . 24

2.1.3 Article . . . 24

2.1.4 Conclusion . . . 37

2.2 Compressibilité des tissus mous du sein . . . 37

2.2.1 Dispositif expérimental pour mesurer le coefficient de compressibilité des tissus mous . . . 37

2.2.1.1 Introduction à l'article . . . 37

2.2.1.2 Résumé en français . . . 37

2.2.1.3 Article . . . 38

2.2.1.4 Conclusion . . . 58

2.2.2 Mesure expérimentale du coefficient de compressibilité des tissus du sein . . . 58

2.2.2.1 Introduction à l'article . . . 58

2.2.2.2 Résumé en français . . . 58

2.2.2.3 Article . . . 58

2.2.2.4 Conclusion . . . 69

2.3 Conclusion Chapitre 2 . . . 69

3 Chapitre 3 - Test *in vivo* réalisés au cours de cette thèse **71**
3.1 Identification de la raideur de tissus mous bicouches par aspiration 71
3.1.1 Introduction à l'article 71
3.1.2 Résumé en français 71
3.1.3 Article 72
3.1.4 Conclusion 111
3.2 Mesure *in vivo* de la raideur des tissus du sein utilisant un dispositif l'aspiration . 111
3.2.1 Introduction à l'article 111
3.2.2 Résumé en français 111
3.2.3 Article 112
3.2.4 Conclusion 119
3.3 Conclusion Chapitre 3 119

4 Conclusion générale **121**

5 Annexe - Estimation des coefficients de compressibilité de différents tissus mous **123**

Introduction

Cette thèse est un des nombreux exemples de la mise en application de la recherche dans le domaine mécanique au service des avancées médicales. En effet, la médecine s'appuye aujourd'hui sur les évolutions faites par l'informatique, la mécanique ou encore la physique pour toujours s'améliorer et soigner au mieux les patients.

Dans le cadre du cancer du sein, qui est la motivation de cette étude, les taux de guérisons sont de plus en plus favorables au regard du grand nombre de femmes concernées par cette maladie. Toutefois, il a été montré le fort impact psychologique que la mastectomie (ablation du sein) peut avoir sur les femmes opérées de ce type de cancer [Harcourt et al., 2003]. C'est pourquoi une des voies de la recherche médicale actuelle tend à diminuer le volume de sein retiré tout en s'assurant que l'ensemble des tissus touchés par la tumeur a bien été retiré.

Lors du processus préopératoire, la patiente est amenée à réaliser une IRM en décubitus ventral (position sur le ventre), seins pendants, permettant d'obtenir une image 3D avec le maximum de précision de la tumeur ainsi que sa localisation. Toutefois, au moment de l'opération chirurgicale, la patiente se trouve en décubitus dorsal (position sur le dos). Les seins se retrouvent alors avec une forme très différente de celles mesurées via l'IRM (Figure 1). Le chirurgien perd alors ses repères par rapport à l'imagerie préopératoire ce qui rend difficile la localisation exacte de la tumeur. L'enjeu de ce travail de thèse se situe dans le contexte de la modélisation biomécanique patiente-spécifique du sein à partir des données IRM préopératoires et de l'utilisation de ce modèle pour prédire les déformations du sein lorsque la patiente est allongée sur le dos, afin d'anticiper la position exacte de la tumeur lors de l'intervention chirurgicale.

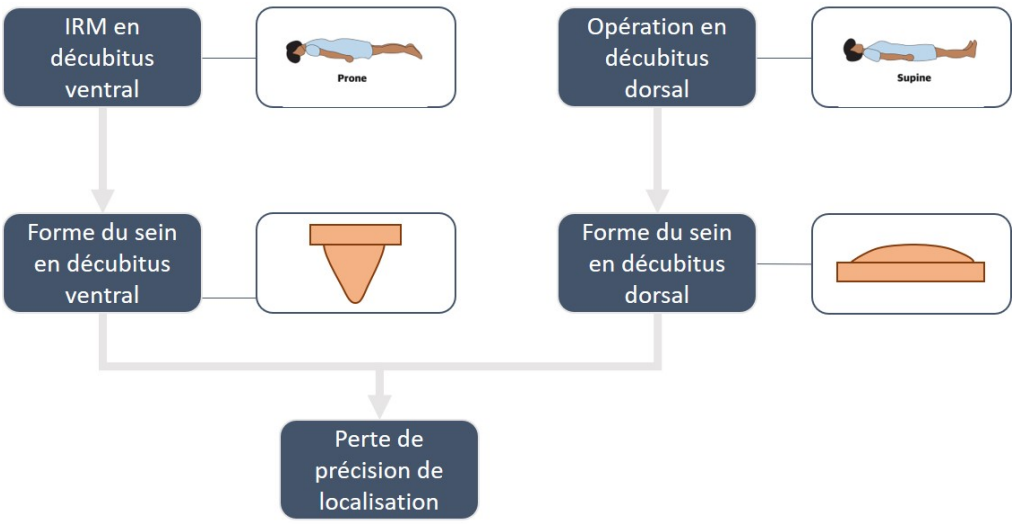

FIGURE 1 – Forme du sein au court des différentes étapes du traitement médico-chirugical

Le processus de modélisation biomécanique peut être dissocié en trois étapes : la phase expérimentale, la phase de modélisation et la phase de simulation par éléments finis. La phase expérimentale est une phase dans laquelle le comportement du tissu étudié est analysé pour ensuite être modélisé par des modèles mathématiques permettant de décrire leurs propriétés mécaniques. La phase de simulation numérique utilise ces propriétés mécaniques ainsi que l'ensemble des données anatomiques comme la position initiale des tissus, pour en déduire la forme finale du tissu. Les modèles biomécaniques par éléments finis du sein développés dans la littérature doivent faire des hypothèses sur les lois de comportements choisies (et les valeurs de leurs paramètres) pour chaque tissu inclus dans le modèle (peau, glande, graisse, muscles, ligaments).

Les études sur les tissus humains concernant la phase expérimentale sont très variées. Dans l'ensemble des cas, il s'agit de mesurer la réponse d'un tissu à une sollicitation mécanique, puis modéliser le comportement grâce à un modèle mathématique pour en déduire les caractéristiques mécaniques propres à ce tissu. Pour ce qui concerne les études sur la phase de modélisation, elles sont nombreuses aussi à utiliser l'imagerie pour réaliser un modèle 3D par éléments finis des tissus et ainsi modéliser les comportements des tissus numériquement.

Pour ce qui concerne le sein, il existe plusieurs études ayant réalisé des modèles 3D par EF de la poitrine. On note, par exemple, les travaux de [Azar et al., 2000, 2001, Samani et al., 2001, Del Palomar et al., 2008, Zain-Ul-Abdein et al., 2013] et plus récemment de Mîra et al. [2018] au laboratoire TIMC. Toutefois, quelle que soit l'étude, un manque de données expérimentales est constaté sur l'ensemble des tissus du sein. Typiquement, dans leur travail Mîra et al. [2018] ont montré l'importance du coefficient de Poisson dans les résultats obtenus par EF sans avoir de valeur de référence à utiliser. De même, l'influence de la structure spongieuse à l'intérieur du sein (appelée ligaments de Cooper) a une grande importance sur le comportement mécanique global du sein et reste encore indéterminée. Le manque de données mécaniques expérimentales *ex vivo* est important, mais il est encore plus criant pour les données *in vivo*.

C'est face à ce manque de données que la présente thèse se positionne. L'objectif de cette étude est de caractériser de façon expérimentale l'ensemble des tissus du sein en se focalisant sur certains aspects tels que la compressibilité des tissus, les tests *in vivo* et l'analyse du comportement mécanique des ligaments de Cooper. Les enjeux de cette thèse sont ainsi multiples.

L'ensemble des travaux ont été menés dans le temps et les moyens mis à partie pour la réalisation de la thèse dans le cadre de la pandémie de COVID-19 avec des restrictions importantes pour l'accès aux sujets anatomiques. De plus, l'ensemble des travaux conduits ont pour but de modéliser, au mieux, les comportements réels du sein tout en respectant les règles éthiques et morales en ce qui concerne l'ensemble des tests réalisés que ce soit sur volontaire ou sur cadavre. Toutes les démarches administratives pour obtenir les autorisations de tests ont été effectuées et validées.

Enfin, cette thèse est rédigée sous un format d'articles (cinq articles au total). Elle est présentée en trois parties. La première est un état de l'art qui présente l'ensemble des données anatomiques nécessaires à la compréhension des travaux qui suivent ainsi qu'un tour d'horizon des différentes techniques des tests sur les tissus mous. La deuxième partie, constituée des chapitres 2 et 3, détaille l'ensemble des travaux conduits sur des tissus *ex vivo*. Dans un premier temps, l'analyse expérimentale et la modélisation du comportement mécanique des ligaments de Cooper sont proposées. Dans un second temps, l'analyse de la compressibilité des tissus biologiques est proposée avec le développement d'un dispositif expérimental de compression confinée puis son application aux tissus du sein. La troisième partie concerne la caractérisation *in vivo* des tissus du sein. Dans un premier temps, une méthode d'aspiration est développée pour estimer les propriétés mécaniques de matériaux bicouches. Dans un deuxième temps, la méthode est appliquée aux tissus du sein pour déterminer les propriétés mécaniques de la peau et des tissus fibroglandulaires.

Pour une compréhension plus aisée de ce document de thèse et une totale transparence, mon rôle et mon implication dans chacun des articles présents sont détaillés dans le tableau ci-dessous. L'état d'avancement des publications est également précisé.

Titre Article	**Rôle**	**Etat de publication**	**Journal**
Experimental characterisation and modelling of breast Cooper's ligaments	Auteure principale	Publié (avril 2022)	Biomechanics and Modeling in Mechanobiology
Experimental device to measure the compressibility coefficient of soft materials	Auteure principale	En révision (août 2022)	International Journal of Mechanical Sciences
Mesure expérimentale du coefficient de compressibilité des tissus du sein	Auteure principale	En fin de rédaction (à soumettre, oct. ou nov. 2022)	
Bi-layer stiffness identification of soft tissues by aspiration	Auteure secondaire (participation à la partie expérimentale et à la validation)	En révision (juillet 2022)	Experimental Mechanics
In vivo measurement of breast tissues stiffness using a light aspiration device	Auteure principale	Publié (août 2022)	Clinical Biomechanics

TABLE 1 – Récapitulatif des articles qui composent cette thèse

1 Chapitre 1 - Etat de l'art

L'objectif de la thèse est de proposer des méthodes et dispositifs pour améliorer la connaissance des propriétés mécaniques des différents constituants du sein. Le sein est un organe complexe avec une architecture tissulaire particulière qui est décrite dans la première partie de ce chapitre. Le but est de mettre en avant les différentes structures anatomiques le composant et ainsi identifier les différentes échelles de travail. La caractérisation mécanique des tissus mous se répand dans la littérature biomécanique et des méthodes assez classiques sont aujourd'hui utilisées, tandis que d'autres se développent. La deuxième partie de ce chapitre va se focaliser sur la description des méthodes existantes et leurs utilisations dans le cadre de la caractérisation des tissus mous. Une attention plus particulière sur les données de la littérature concernant les propriétés mécaniques des constituants du sein clôturera ce chapitre. Les données disponibles et les données manquantes seront mises en avant.

1.1 Anatomie du sein

Afin de décrire le sein de la façon la plus précise possible, son anatomie externe est détaillée dans un premier temps. Puis une description approfondie de l'anatomie interne du sein est proposée et pour finir, un dernier paragraphe explique l'évolution de l'organe au cours de la vie de la personne.

1.1.1 Anatomie externe

Le sein est un organe externe, c'est-à-dire visible depuis l'extérieur. Il existe donc des repères anatomiques afin de pouvoir en délimiter la localisation. Le sternum et la clavicule délimitent respectivement la limite médiale et la limite haute du sein. Le prolongement du creux axillaire sur les côtés décrit la limite latérale du sein. Enfin, le sillon infra-mammaire impose la limite basse. L'ensemble de ces limites sont représentées sur la Figure 2.

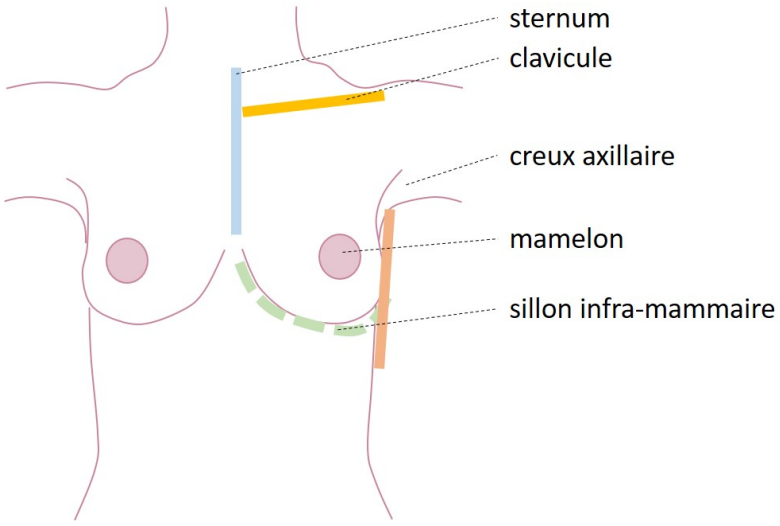

FIGURE 2 – Délimitation externe du sein

1.1.2 Anatomie interne

Le sein est composé d'un ensemble de tissus mous. Le point clé est de connaitre l'ensemble des tissus qui le composent ainsi que leurs emplacements. Les travaux de Woo and Levine [1998],

Netter [2014], Mugea et al. [2015], Mîra et al. [2018], Gaskin et al. [2020] ont été utilisés pour permettre de décrire ci-dessous l'anatomie du sein.

Le sein est composé de plusieurs couches de tissus. De l'extérieur vers l'intérieur, on trouve comme illustré sur la Figure 3 : la peau, les fascias, les ligaments de Cooper, la glande mammaire (ou lobules glandulaires), les muscles et les os (clavicule, côtes). Chacun de ces constituants sont détaillés dans les paragraphes suivants.

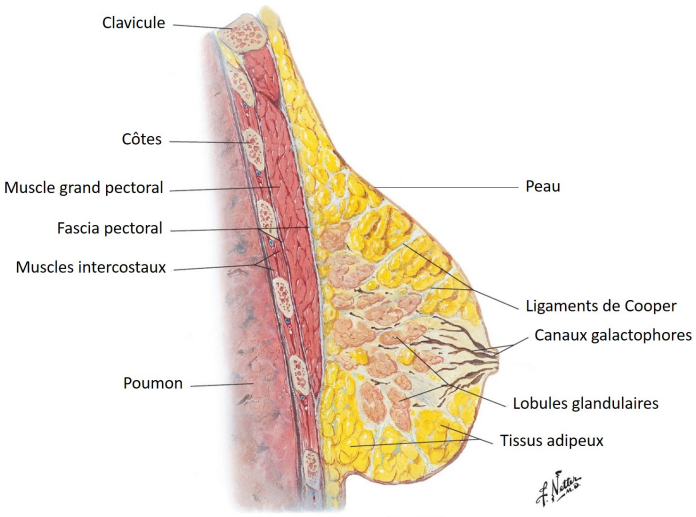

FIGURE 3 – Vue de profil d'une coupe du sein (d'après Netter [2014])

1.1.2.1 La peau

La peau du sein, comme la peau du corps en général, est composée de trois parties distinctes : l'épiderme, le derme et l'hypoderme comme illustré sur la Figure 4.

L'épiderme est la couche la plus superficielle de la peau. C'est elle qui crée la barrière étanche et protège le corps humain des agressions extérieures. Elle est composée essentiellement de cellules mortes. Le derme est la couche intermédiaire de la peau. C'est là que se situe l'ensemble des glandes, les follicules pileux et les terminaisons nerveuses. Elle est composée de fibres qui sont responsables de l'élasticité et de la solidité de la peau [Agache, 2000]. Pour finir, l'hypoderme est la couche la plus profonde de la peau. Elle est composée de tissus adipeux. Cette couche est vascularisée par des vaisseaux sanguins. Elle sert de protection contre le froid et de réserve énergétique.

Dans leur article, Sutradhar and Miller [2013] mesurent une épaisseur de peau moyenne du sein variant entre 0.83 et 2.35 mm sur un échantillon de 23 femmes avec une moyenne à 1.55 ± 0.04 mm. Ils mesurent aussi le module élastique de la peau grâce à un dispositif d'aspiration. Une valeur moyenne de 344 ± 88 kPa est estimée pour un intervalle de valeurs variant de 195 à 480 kPa.

1.1.2.2 La glande mammaire

La glande mammaire est la partie qui compose la majeure partie du sein. C'est elle qui donne son volume à l'organe. Elle est composée de tissu adipeux et de lobules mammaires représentés sur la Figure 3. La glande mammaire est globalement centrée autour du mamelon et est entourée au-dessus et en-dessous d'une couche de tissu adipeux [Jesinger, 2014]. Elle est aussi

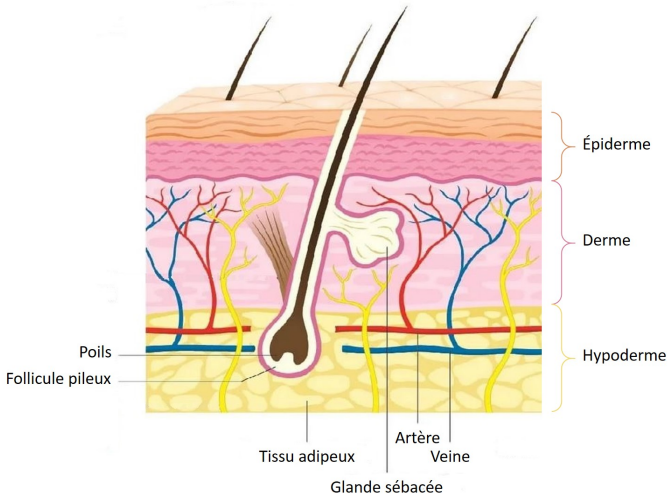

FIGURE 4 – Représentation en coupe des couches de la peau (d'après *Information Hospitalière*)

composée de canaux galactophores et de vaisseaux sanguins. Les canaux galactophores et les lobules mammaires servent à la production de lait lors de l'allaitement et subissent une forte évolution pendant et après la grossesse. A partir de la ménopause, on constate une disparition ou un remplacement progressif de la glande mammaire par des tissus adipeux.

1.1.2.3 Les fascias

Les fascias sont de fines membranes de collagène qui permettent d'attacher, stabiliser et séparer les muscles et autres organes en les enveloppant. Dans le sein, les fascias se développent avec l'âge comme présenté sur la Figure 5. Dans l'enfance, on note uniquement la présence de deux fascias : le fascia superficiel juste sous la peau et le fascia profond qui marque la limite interne du sein. Lorsque la glande mammaire se développe un fascia se crée et enveloppe la glande dans la partie profonde. Il n'est pas clairement établi à ce jour si ce fascia est distinct et nouveau ou s'il est le résultat d'une division du fascia superficiel. Cette croissance se fait lors de l'adolescence jusqu'à l'âge adulte. Dans le cas présent, la thèse concerne exclusivement des femmes d'âge adulte dont le sein est complètement développé. C'est donc la configuration D de la Figure 5 à laquelle nous nous intéresserons plus particulièrement.

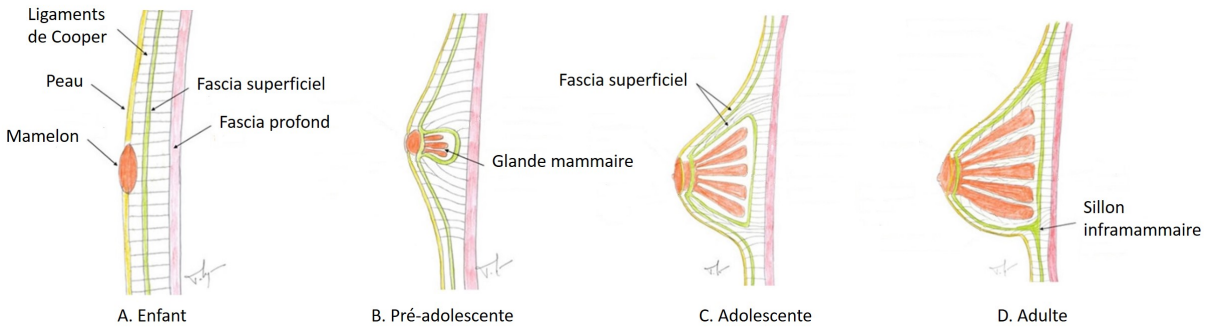

FIGURE 5 – Représentation de l'évolution des fascias au court de l'évolution de la femme entre l'enfance et l'âge adulte (d'après Mugea et al. [2015])

1.1.2.4 Les ligaments

Les ligaments sont, comme les fascias, composés de fibres de collagène. Ce sont des tissus purement passifs qui sont, en général, attachés entre deux structures osseuses. On les retrouve d'ailleurs dans les articulations pour maintenir les os attachés les uns aux autres. Dans le cas du sein, plusieurs ligaments permettent de soutenir l'organe. Mugea et al. [2015] décrivent quatre ligaments et deux diaphragmes illustrés sur la Figure 6. Ces ligaments relient les côtes et le sternum d'une part, et la clavicule et le sternum d'autre part. Selon la littérature [Mugea et al., 2015], il semblerait qu'ils aient une forte incidence sur la forme globale du sein.

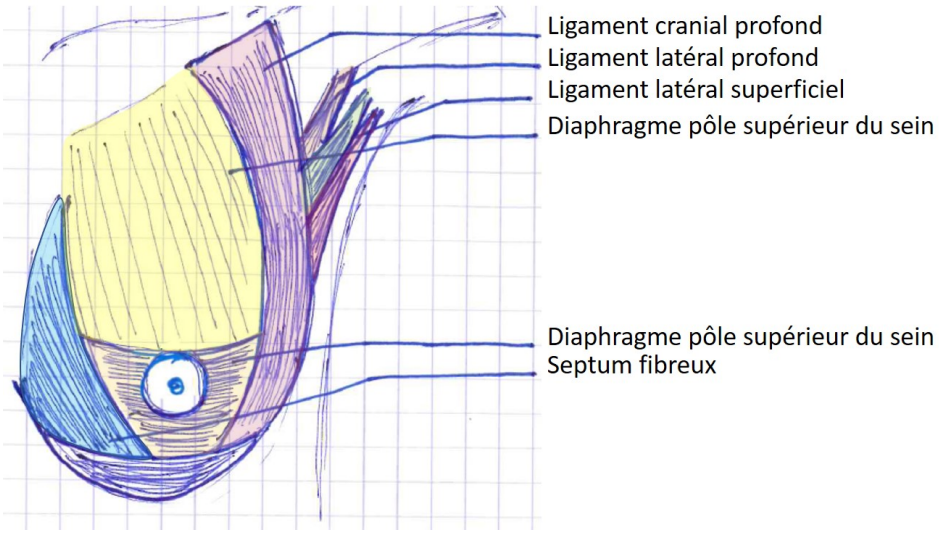

FIGURE 6 – Représentation des différents ligaments du sein

1.1.2.5 Les ligaments de Cooper

D'autres tissus collagéniques, qui portent le nom de ligaments de Cooper, sont présents dans le sein. Leur structure et leur finesse sont proches de celles des fascias. L'appellation «ligaments» peut ici porter à confusion car cette structure collagénique n'a pas pour fonction d'assurer un lien entre deux os. Les ligaments de Cooper ont en effet une structure globale en forme de maillage 3D emprisonnant les tissus fribro-gladulaires (ensemble de tissus regroupant la graisse et la glande mammaire) dans de petites poches [Gaskin et al., 2020], visibles sur la Figure 7.

1.1.2.6 Les muscles et les os

Les muscles pectoraux sont en contact direct avec le sein. Ils sont composés de deux parties principales : le grand pectoral et le petit pectoral. Ces muscles sont chacun enrobés de fascias qui leur permettent de glisser les uns par rapport aux autres et ainsi limiter les adhérences. Chaque muscle est relié aux os par des tendons.

Le petit pectoral se situe le plus près de la cage thoracique. Il est principalement constitué de trois fuseaux comme présenté sur la Figure 8.a. Chaque fuseau est lié à la scapula (anciennement appelée l'omoplate) dans son extrémité supérieure et à une côte dans son extrémité inférieure.

Le grand pectoral se situe au-dessus du petit pectoral. Il est lui aussi composé de plusieurs fuseaux comme présenté sur la Figure 8.b. Les attaches osseuses se situent d'un côté sur le haut de l'humérus et de l'autre sur la clavicule et le sternum.

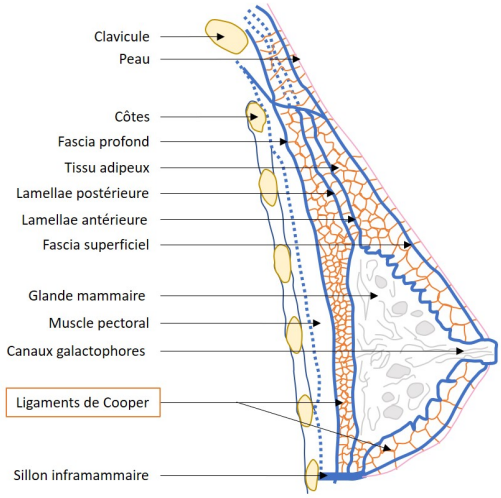

FIGURE 7 – Description anatomique du sein, les ligaments de Cooper sont représentés en orange sur l'ensemble de la figure (d'après Gaskin et al. [2020])

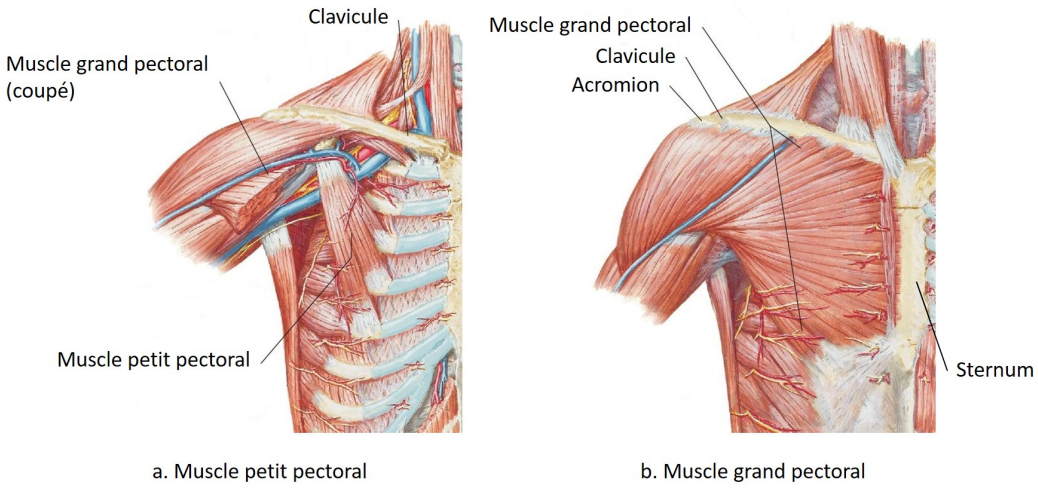

FIGURE 8 – Représentation du grand et de petit pectoral (d'après [Netter, 2014])

1.1.3 Evolution du sein avec l'âge

Le sein est un organe qui évolue énormément lors de la vie d'une femme. En effet, la poitrine se développe lors de la préadolescence et l'adolescence. Elle évolue aussi lors d'une éventuelle grossesse et lors de l'allaitement. La pré-ménopause et la ménopause représentent le dernier changement majeur de la poitrine même si elle évolue aussi chaque mois lors du cycle menstruel de la femme puisque les lobules mammaires grossissent et diminuent lors de ce cycle. Ces lobules perdent aussi progressivement du volume après la ménopause. Les ligaments et les fascias évoluent, eux aussi, avec l'âge. Ils se détendent petit à petit et perdent de l'élasticité. La peau perd elle aussi son élasticité et sa résistance avec l'âge.

Enfin, il faut noter que le cancer du sein va modifier l'élasticité locale du sein puisqu'en se développant dans la glande mammaire, les cellules cancéreuses acquièrent une rigidité plus importante que les cellules saines. C'est d'ailleurs en palpant la poitrine que le clinicien peut

détecter la présence d'une tumeur.

1.2 Mécanique des tissus mous

D'une manière générale, les caractérisations mécaniques peuvent se faire *ex vivo* ou *in vivo*. Les expérimentations *ex vivo* conduisent à la destruction du tissu et sont généralement réalisées en *post mortem*. Les méthodes *in vivo* sont des expérimentations plus délicates à mettre en place pour ne pas générer de douleur ou blessure chez les volontaires. Les principales méthodes existantes sont détaillées dans ce paragraphe.

1.2.1 Caractérisation *ex vivo*

Les essais réalisés *ex vivo* sur des échantillons *post mortem* s'inspirent de la mécanique des matériaux industriels, avec des tests classiques adaptés aux tissus biologiques. La principale difficulté vient de la création d'échantillons standardisés et homogènes permettant la réalisation de ces essais. En effet, de tels échantillons sont indispensables pour garantir un état homogène de déformation sur une géométrie facilement observable.

Nous revenons ci-dessous sur l'ensemble des tests mécaniques classiquement utilisés sur des matériaux industriels.

1.2.1.1 Essais mécaniques classiques

Test de traction uniaxiale Le test de traction uniaxiale est le test mécanique le plus commun. Il consiste à appliquer un effort de traction sur un échantillon homogène de forme allongée et de fine épaisseur afin de ne le solliciter que suivant une seule direction (Figure 9.a).

Ce test de traction est devenu classique pour la mécanique des matériaux biologiques, et a été utilisé sur de nombreux tissus comme par exemple le cerveau [Velardi et al., 2006], l'aorte [Sherebrin et al., 1989] ou le foie [Brunon et al., 2010].

Test de traction plane Le test de traction plane est très similaire au test de traction uniaxiale. En effet, il sollicite l'échantillon suivant une seule direction. La différence réside dans la forme de l'échantillon qui n'est plus sollicité sur sa longueur mais dans sa largeur. La force est alors répartie sur une surface plus importante (Figure 9.b). Ce test peut s'effectuer sur une machine de traction/compression classique à l'aide de mors de traction adaptés. La géométrie de l'échantillon permet d'augmenter l'effort de chargement et de réduire la part de bruit dans le signal.

Comme exemple d'utilisation de la traction plane pour la caractérisation de tissus mous biologiques, on trouve l'étude faite sur l'urètre parMasri et al. [2018] ou sur la voie biliaire par Girard et al. [2019].

Test de traction biaxiale Le test de traction biaxiale est plus complexe à mettre en œuvre du fait de la gestion coordonnée de deux directions de sollicitations mécaniques. Toutefois, ce test est de plus en plus utilisé pour la caractérisation des tissus biologiques car il permet de simuler bon nombre de sollicitations naturelles comme c'est le cas dans des structures biologiques cylindriques (e.g. artères, veines ou vaisseaux). Un test biaxial consiste à soumettre un échantillon de fine épaisseur à deux efforts de traction de direction différente (classiquement à 90°) (Figure 9.c). Les efforts peuvent être de même amplitude (traction équibiaxiale) comme de normes différentes.

Il existe différents types de dispositifs permettant de solliciter un échantillon de façon biaxiale. Les tests réalisés par Mohan and Melvin [1983] sur l'aorte sont un exemple de tests de traction

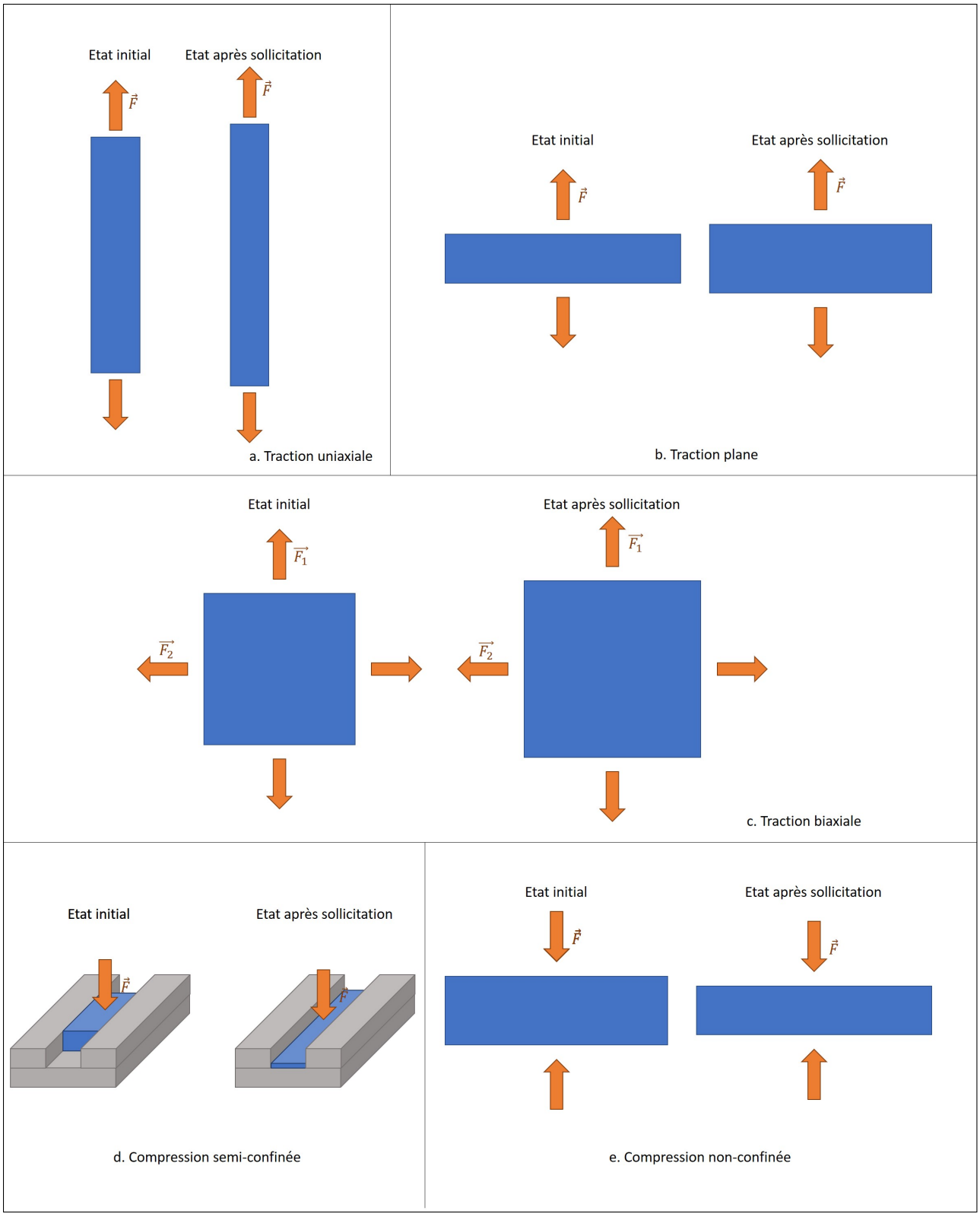

FIGURE 9 – Les cinq tests mécaniques présentés dans ce paragraphe avec, pour chacun d'eux, les configurations non déformée et déformée

biaxiale sur tissus mous. Ils consistent à gonfler une membrane de tissu aortique à une pression déterminée grâce à un dispositif de forme annulaire. La contrainte obtenue est ensuite déduite

de la courbure de la membrane obtenue (Figure 10). Sommer et al. [2015] ont aussi réalisé un test de traction biaxiale sur le myocarde en appliquant des efforts simultanément sur les quatre côtés d'un échantillon carré.

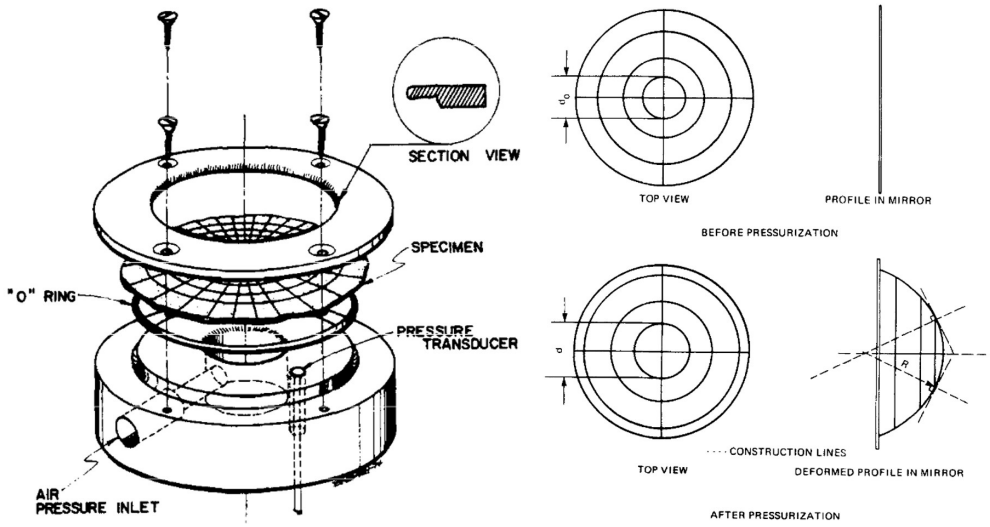

FIGURE 10 – Schéma de principe du dispositif de mesure de Mohan and Melvin [1983]

Test de compression non confinée Le test de compression consiste à appliquer un effort sur un échantillon homogène de forme classiquement rectangulaire ou cylindrique. La hauteur est généralement faible en comparaison des autres dimensions pour éviter les problèmes de flambement. Le test consiste à comprimer cet échantillon et à mesurer son élargissement sous l'effet de la contrainte (Figure 9.e). La difficulté du test est que l'on constate souvent une non-homogénéité des déformations avec le phénomène d'«effet tonneau» lié au frottement entre les mors et l'échantillon.

Ce test n'est pas complexe à mettre en œuvre, mais il est délicat d'obtenir des résultats parfaitement fiables. Malgré cela, Il a été proposé dans la littérature pour plusieurs types de tissus mous. On peut citer par exemple Wu et al. [2007] qui ont mis en place ce type d'essais sur des échantillons de peau et de tissus sous-cutanés.

Test de compression semi confinée Le test de compression semi-confinée part du même principe que le test de compression non-confinée mais dans ce cas la déformation de l'échantillon est canalisée dans une seule direction, avec un échantillon placé dans une goulotte. Un effort de compression est appliqué sur l'échantillon qui ne peut alors se déformer que suivant l'axe de la goulotte (Figure 9.d).

Le travail réalisé par Miller [2005] permet d'appliquer cette méthode aux tissus mous tels que le cerveau, le rein, le foie ou la prostate.

1.2.1.2 Test de compressibilité

Dans la littérature, les tissus mous biologiques sont très souvent considérés comme incompressibles (ou a minima « quasi-incompressibles ») car majoritairement constitués d'eau. Cette hypothèse a malheureusement été très peu vérifiée, avec un petit nombre d'articles faisant référence à des mesures expérimentales. Quelques études existent tout de même, comme celle présentée par

Carew et al. [1968] qui met en œuvre un essai sur une aorte dont un échantillon est compressé dans une chambre pleine de fluide. La variation de volume en fonction de la sollicitation se lit sur un capillaire relié à la chambre de test. Même s'il est difficile d'envisager l'utilisation, pour le cas des tissus biologiques, de dispositifs développés pour les matériaux industriels, il est intéressant de faire le bilan des dispositifs existant. Les grandes familles de dispositifs se divisent en trois : la méthode par ondes sonores, la méthode par compression confinée et la méthode consistant à mesurer la variation de volume lors d'un test mécanique dans un milieu fermé. Ces différentes méthodes seront détaillées dans l'introduction de l'article sur le dispositif de compressibilité (cf paragraphe suivant : 2.2.1.3. Article).

1.2.1.3 Conclusion

Pour conclure, l'application de ces différents tests aux tissus mous biologiques peut s'avérer compliquée, puisque les tissus sont souvent très fragiles, non-homogènes ou encore présents en trop petite quantité. En effet, pour l'ensemble de ces méthodes, il faut pouvoir découper le tissu prélevé en échantillon de forme standard et homogène. De plus, le mode de conservation des tissus (formol et/ou congélation) ainsi que la dégradation naturelle des tissus post-mortem ou post-prélèvement peuvent modifier leurs propriétés mécaniques [Gefen and Margulies, 2004, Girard et al., 2019]. Il est néanmoins possible de réaliser ces tests sur des tissus «frais», c'est-à-dire les plus proches possibles du décès de la personne. Toutefois, on ne pourra pas affirmer que le comportement mécanique est similaire à ce qui est observé sur le tissu vivant. C'est pourquoi il est important de pouvoir comparer les résultats obtenus avec des essais mécaniques réalisés *in vivo* et *in situ*.

1.2.2 Caractérisation *in vivo*

Le paragraphe précédent fait référence à l'ensemble des techniques réalisables sur des échantillons de tissus *ex vivo*. Or, comme expliqué, ce type de test impose la plupart du temps une destruction des tissus ce qui n'est pas humainement ni éthiquement possible sur des échantillons *in vivo*, *in situ*. De plus, même si les résultats des tests *ex vivo* sont une première approximation nécessaire, il reste cependant un doute sur leur capacité à se rapprocher du *in vivo*, *in situ* [Ottensmeyer, 2002, Gefen and Margulies, 2004, Kerdok et al., 2006, Girard et al., 2019]. C'est pourquoi des techniques de tests ont été proposées pour estimer les propriétés mécaniques des tissus directement sur une personne vivante, sans mettre la personne dans un quelconque inconfort et a fortiori sans destruction des échantillons. Des méthodes telles que l'élastographie, la succion ou encore l'indentation sont présentées dans les paragraphes ci-dessous.

1.2.2.1 Test par élastographie

La technique de caractérisation mécanique par élastographie est à l'heure actuelle la plus répandue et utilisée dans le milieu médical. Le principe est de mesurer les déformations internes à un tissu mou soumis à une sollicitation sous forme d'ondes mécanique ou ultrasonore. Dans le cas des ondes mécaniques, c'est le déplacement tissulaire qui est mesuré. Dans le cas des ondes ultrasonores, c'est la célérité des ondes de cisaillement qui est mesurée. Ces mesures peuvent être réalisées grâce à différents types d'appareil d'imagerie comme l'échographe ou l'IRM, comme le montre l'étude réalisée par Tang et al. [2015] sur le foie, ou encore via un dispositif de tomographie par cohérence optique, comme illustré dans l'étude faite par Liang and Boppart sur la peau. Cependant, les raideurs estimées par ce dispositif ne concernent que les petites déformations. De plus, les valeurs absolues fournies par les dispositifs sont très sensibles à l'inhomogénéité des tissus ainsi qu'à leur anisotropie (les valeurs mesurées sont des moyennes isotropes), en particulier pour des structures en couches fines (comme la peau). Dès que ces couches sont inférieures à 1cm

voire 5mm d'épaisseur, les valeurs fournies ne sont pas complètement fiables [Nguyen et al., 2011, Brum et al., 2014, Abou Karam et al., 2022].

1.2.2.2 Test par succion

Une autre façon de solliciter les tissus mous *in vivo* est le test de succion. A l'heure actuelle, le cutomètre est le dispositif de test par succion le plus connu. Le principe est de réaliser une petite aspiration grâce à une aperture de faible diamètre et de mesurer la quantité de tissu aspiré grâce à un capteur laser. Ce dispositif, représenté Figure 11, est principalement utilisé sur la peau comme dans l'étude réalisée par Barbarino et al. [2011]. L'inconvénient principal de cette méthode est qu'elle ne sollicite que la surface du tissu étudié. De plus, le cutomètre ne fournit pas une raideur ou un module de Young mais une élastance (en mm/mbar) ce qui se trouve être difficilement exploitable dans le cadre d'un modèle par EF.

FIGURE 11 – Cutometer MPA 580 utilisé par [Barbarino et al., 2011] (d'après *Monaderm*)

Une autre technique d'aspiration a été développée par Elahi et al. [2018, 2019]. Le principe est de réaliser une aspiration sur un tissu mou grâce à une coupelle représentée Figure 12. La caractérisation mécanique se fait ensuite grâce à l'analyse de la variation de pression en fonction de la variation de volume aspiré. Cette technique a été mise en œuvre sur les tissus de la langue par Kappert et al. [2021]. Ce dispositif permet de s'affranchir du système optique de mesure en utilisant une pré-calibration et un capteur de variation de pression pour estimer la raideur du tissu (module de Young).

1.2.2.3 Test par indentation

Le test par indentation est une technique utilisée classiquement sur des matériaux durs, qui permet d'obtenir le coefficient de durée d'un matériau en fonction de l'enfoncement d'un poinçon dans l'échantillon. Lorsqu'il est appliqué aux tissus mous *ex vivo* ou *in vivo*, le principe est le même : l'effort est mesuré en fonction du déplacement appliqué. Toutefois, dans le cas des tests *in vivo*, les dispositifs d'indentation sont paramétrés pour ne réaliser aucun dommage sur le volontaire. Ce genre de dispositif est principalement utilisé sur la peau comme dans l'exemple suivant réalisé par Pailler-Mattei et al. [2008] illustré Figure 13. Une des difficultés de ce test consiste à limiter autant que possible les mouvements du sujet par rapport au support d'indentation.

1.2.3 Conclusion

Des méthodes classiques de caractérisation mécanique *ex vivo* existent ; d'autres méthodes ont également été développées pour aborder l'*in vivo*. Ces méthodes peuvent s'appliquer sur

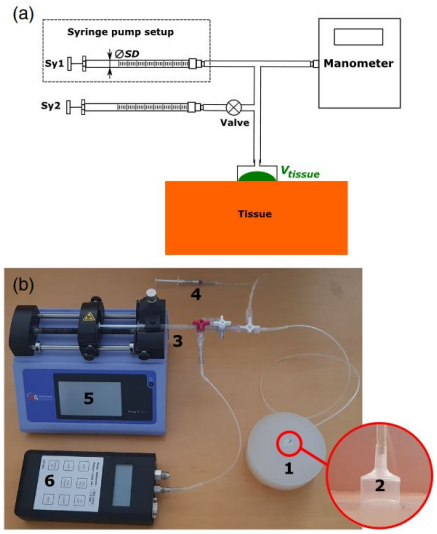

FIGURE 12 – Dispositif d'aspiration -a- schéma et -b- photo du dispositif : (1) échantillon de silicone, (2) tête d'aspiration, (3) Sy1, (4) Sy2, (5) pousse-seringue et (6) manomètre (d'après Elahi et al. [2018])

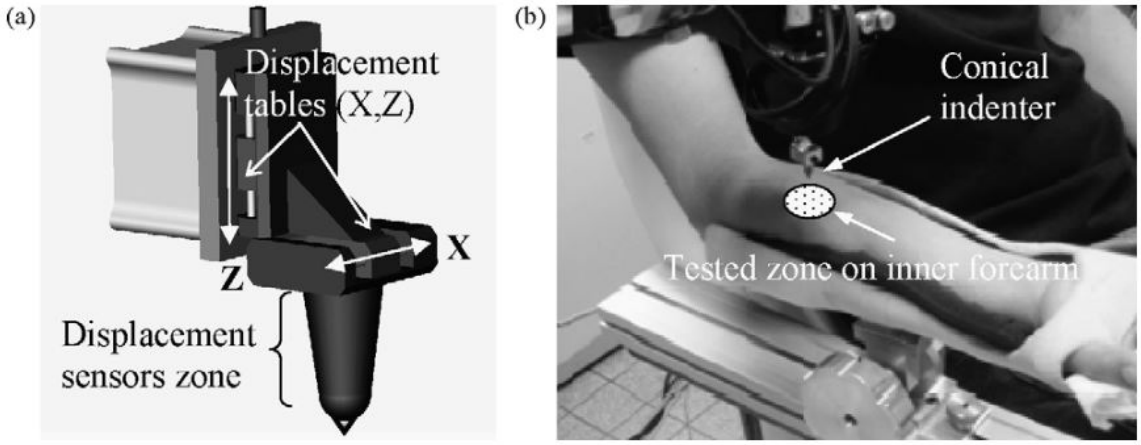

FIGURE 13 – Dispositif de tribomètre cutané -a- représentation schématique du dispositif d'indentation -b- système d'indentation et position du bras du sujet. (d'après Pailler-Mattei et al. [2008])

les tissus mous biologiques moyennant un protocole expérimental précis et un certain nombre de précautions. Le paragraphe suivant détaille les méthodes qui ont été proposées dans la littérature pour étudier le comportement mécanique des tissus du sein.

1.3 Caractérisation mécanique des tissus du sein dans la littérature

Nous revenons dans ce paragraphe sur les études de la littérature qui ont repris les techniques décrites ci-dessus pour estimer les comportements mécaniques des différents constituants du sein. Les études réalisées sur la peau ne seront pas prises en compte puisqu'elles ne sont pas spécifiques à la peau du sein. Le paragraphe s'articule autour de deux parties, la première sur les résultats de tests *ex vivo* et la seconde sur les tests *in vivo*.

1.3.1 *Ex vivo*

Comme expliqué ci-dessus, les tests *ex vivo* sont réalisés sur des échantillons provenant de cadavres ou de tissus prélevés au cours de l'intervention chirurgicale. Chaque sous-structure composant le sein (graisse, glande, tissu fibreux, etc.) peut ainsi être sollicitée de manière indépendante. Les échantillons prélevés peuvent alors être endommagés par les tests *ex vivo* réalisés.

Dans l'état de l'art actuel, l'indentation est très majoritairement le test choisi par les différentes équipes de recherche. Des tests ex vivo ont ainsi été proposés dans la littérature, sur des échantillons post mortem prélevés pour solliciter indépendamment les tissus adipeux, la glande et les tissus fibreux. La plupart des études ont été réalisées sur des tissus issus de prélèvements opératoires. On peut citer par exemple des tests d'indentation réalisés sur tissus graisseux ou glandulaires : Krouskop et al. [1998], Wellman et al. [1999], Samani et al. [2007], Matsumura et al. [2009], Umemoto et al. [2014]. Les protocoles expérimentaux varient sensiblement d'une étude à l'autre, notamment au niveau des précontraintes appliquées pour réaliser le test d'indentation. Chaque étude propose des valeurs de modules de Young pour les tissus mammaires, rassemblé dans le Tableau 2.

Auteurs	**Mesure**	**Module de Young [kPa]**		
		Tissu adipeux	**Tissu glandulaire**	**Tissu fibreux**
Krouskop et al. [1998]	A partir de 5% de compression	18 ± 7 à 22 ± 12	28 ± 14 à 35 ± 14	96 ± 34 à 116 ± 28
	A partir de 20% de compression	20 ± 8 à 24 ± 6	48 ± 15 à 66 ± 17	218±87 à 244±85
Matsumura et al. [2009]	Entre 0 et 0.2 de contrainte	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	
	Entre 1.1 et 1.2 de contrainte	17.3 ± 4.8	15.4 ± 3.9	
Samani et al. [2007]	A partir de 5% de compression	3.25 ± 0.9	3.24 ± 0.61	
Umemoto et al. [2014]	Entre 0 et 0.2 de contrainte	0.69 ± 0.19	0.73 ± 0.18	
	Entre 1.1 et 1.2 de contrainte	19.08 ± 4.99	16.99 ± 4.92	
Wellman et al. [1999]	A 1% de déformation	4.8 ± 2.5	17.5 ± 8.6	
	A 5% de déformation	$17.4 \pm 8.$	217.8 ± 67.7	

TABLE 2 – Récapitulatif de l'ensemble des résultats obtenus sur l'indentation *ex vivo* des tissus du sein

Dans quasiment l'ensemble de ces études, on constate que les modules de Young obtenus pour les tissus adipeux et glandulaires sont très proches. A notre connaissance, une seule étude a testé les tissus fibreux [Krouskop et al., 1998] sans que les auteurs aient exprimé clairement ce qu'ils entendaient par tissus fibreux d'un point de vue anatomique.

Les tissus testés dans la plupart de ces études sont issus de prélèvements postopératoires. Ils évitent donc les procédés de conservation tel que la formolisation ou la congélation. Cependant, comme souligné plus haut dans le texte, les tests réalisés ne reflètent probablement pas complètement les comportements *in vivo* des tissus mammaires.

1.3.2 *In vivo*

Les tests *in vivo* permettent d'obtenir les caractéristiques mécaniques des tissus mous directement sur une personne volontaire. Ils doivent donc être non invasifs, non irritants et sans douleur. Pour ce qui concerne le sein, on constate surtout la présence de tests *in vivo* de type optique qui ont l'avantage d'être pleinement non-invasifs.

Parmi les différentes méthodes d'imagerie utilisées, on retrouve les 3 principales méthodes d' présentées dans le paragraphe 1.2.2.1. Test par élastographie qui sont : l'élastographie par ultrasons, par résonnance magnétique et par tomographie à cohérence optique. Des exemples d'étude pour chacune des différentes méthodes sont référencés ci-après.

L'élastographie par ultrasons est de loin la méthode la moins quantitative de toutes. Aucune étude ne donne de valeur précise du module de Young des différentes parties du sein. On trouve seulement des comparaisons entre les tissus sains et les zones cancéreuses dont la raideur est plus grande. L'étude réalisée par [Thomas et al., 2006] en est un bon exemple.

Avec l'élastographie par résonance magnétique, il est là en revanche possible d'obtenir des résultats quantitatifs sur les différents tissus du sein. Un petit nombre d'études ont employé cette technique pour mesurer autant les tissus adipeux que la glande mammaire [Lawrence et al., 1998, Sinkus et al., 2000, McKnight et al., 2002, Van Houten et al., 2003, Xydeas et al., 2005, Chen et al., 2013]. L'étude menée par Van Houten et al. [2003] permet aussi d'obtenir un coefficient de Poisson. Toutefois, on peut constater que les valeurs obtenues semblent faibles comparées à l'hypothèse de quasi-incompressibilité des tissus mous faite usuellement.

Pour finir avec les tests *in vivo* sur les seins, la dernière méthode d'élastographie proposée dans la littérature est celle par tomographie par cohérence optique, même si peu d'études ont été faites sur les seins avec cette méthode. La seule qui sera citée ici est celle réalisée par Srivastava et al. [2011].

Afin de conclure ce paragraphe, le Tableau 3 reporte l'ensemble des résultats obtenus par les études précédemment citées sur les tissus adipeux et glandulaires du sein.

1.3.3 Comparaison des résultats *ex vivo* et *in vivo*

Lorsqu'on fait une moyenne des résultats obtenus pour chacun des différents tissus, les résultats suivants sont trouvés (Tableau 4) :

La comparaison des résultats trouvés sur ces deux types de tissus permet de se rendre compte de la différence d'un facteur d'en moyenne 2 à 4 entre les résultats trouvés sur des tissus *ex vivo* et des tissus *in vivo*. Ceci va dans le sens de l'étude menée par Girard et al. [2019] sur l'influence du mode de conservation des tissus, avec des tissus formolés qui sont plus rigides que les tissus frais.

1.4 Conclusion Chapitre 1

En conclusion de ce chapitre, on se rend compte que l'état de l'art sur les propriétés mécaniques du sein est limité. Il reste de nombreuses lacunes sur l'ensemble des données nécessaires à une bonne caractérisation mécanique des constituants du sein. Ceci met des freins, à l'heure actuelle, a beaucoup de modélisation par Eléments Finis. Les tissus fibreux comme les ligaments de Cooper n'ont à ce jour, à notre connaissance, pas été caractérisés. Les coefficients de Poisson sont souvent pris arbitrairement à 0.5 ou 0.49 (voire 0.35) et la caractérisation du tissu fibroadipeux *in vivo* reste peu explorée. Proposer des valeurs à l'ensemble de ces manques de la littérature constitue un des objectifs principaux de cette thèse.

Auteurs	**Type d'élastographie**	**Fréquences de sollicitation [Hz]**	**Tissu adipeux**	**Tissu glandulaire**
			Module de Young [kPa]	
Chen et al. [2013]	IRM		0.33	0.64
McKnight et al. [2002]	IRM	100 Hz	3.3 ± 1.9	7.5 ± 3.6
Sinkus et al. [2000]	IRM	60 Hz	$0.5 - 1$	
Srivastava et al. [2011]	IRM		4.17 ± 0.07	
Xydeas et al. [2005]	IRM	65 Hz	1.2 ± 0.2	
Van Houten et al. [2003]	IRM		20.9 ± 3.5	26.3 ± 3.4
			Coefficient de Poisson	
Van Houten et al. [2003]	IRM		0.377 ± 0.064	0.400 ± 0.048
			Module de cisaillement [kPa]	
Lawrence et al. [1998]	IRM		0.43 ± 0.07	2.45 ± 0.2

TABLE 3 – Récapitulatif de l'ensemble des résultats obtenus sur les tissus du sein *in vivo*

	Module de Young [kPa]	
	Tissu adipeux	**Tissu glandulaire**
Ex vivo	0.69 à 24	0.8 à 272
In vivo	0.33 à 20.9	0.64 à 26.3

TABLE 4 – Comparatif des résultats *ex vivo* et *in vivo* en fonction des données de la bibliographie

2 Chapitre 2 - Tests *ex vivo* réalisés au cours de cette thèse

2.1 Caractérisation expérimentale et modélisation des ligaments de Cooper

2.1.1 Introduction à l'article

Comme expliqué dans le chapitre précédent, parmi l'ensemble des tissus qui composent les seins, les ligaments de Cooper sont de loin les moins étudiés, puisqu'aucune valeur numérique de propriétés mécaniques n'a été proposée. Il existe des études sur des tissus similaires comme celle réalisée par Sednieva et al. [2020] sur la sollicitation des fascias de la jambe, ou encore celle réalisée par Bel-Brunon et al. [2013] qui étudie le comportement à la rupture de fins tissus fibreux (comme le sont les ligaments de Cooper) qui permettent d'avoir une idée sur le comportement des ligaments de Cooper sans pour autant pouvoir l'affirmer.

Pour pallier ce manque, les ligaments de Cooper ont été modélisés de façons très différentes dans la littérature. Samani et al. [2001] ont proposé d'utiliser un modèle global du sein qui ne comprenait pas les différents constituants des tissus mammaires tels que la peau, les muscles, les ligaments, les fascias, la graisse ou le tissu glandulaire. Mira [2018] ont mis en évidence dans les simulations EF l'importance des ligaments suspenseurs ainsi que des fascias superficiels et profonds. Les modèles proposés par Azar et al. [2000, 2001] ont tenté de prendre en compte l'influence mécanique des ligaments de Cooper en utilisant un paramètre global pour représenter à la fois la graisse et les ligaments ou le tissu glandulaire et les ligaments.

Toutes ces simulations EF rencontrent des difficultés pour estimer les propriétés mécaniques de chaque constituant des tissus mammaires. Si certaines lois constitutives ont été proposées dans la littérature pour modéliser les tissus cutanés, musculaires et graisseux, très peu de données sont disponibles concernant les ligaments et les fascias du sein.

C'est pourquoi cette étude expérimentale propose de caractériser et modéliser le comportement mécanique à la traction uniaxiale des ligaments de Cooper.

2.1.2 Résumé en français

L'objectif de cette étude était de caractériser le comportement mécanique des ligaments de Cooper. Ces ligaments sont des tissus mammaires collagéniques qui créent une structure tridimensionnelle sur l'ensemble du volume mammaire. Dix ligaments ont été extraits d'un cadavre humain, à partir desquels 28 échantillons ont été coupés et utilisés pour effectuer des tests de traction uniaxiale.

L'analyse histologique a montré que la direction principale des fibres visibles à l'œil nu correspond à l'orientation des fibres à l'échelle microscopique. Les spécimens ont été coupés selon cette orientation, ce qui a permis d'étirer l'échantillon dans la direction principale des fibres. À partir de ces courbes expérimentales d'étirement/contrainte, une loi constitutive hyperélastique anisotrope originale a été proposée pour modéliser le comportement des ligaments de Cooper. Enfin, la validité des paramètres du matériau a été discutée.

2.1.3 Article

Biomechanics and Modeling in Mechanobiology (2022) 21:1157–1168
https://doi.org/10.1007/s10237-022-01582-5

ORIGINAL PAPER

Experimental characterisation and modelling of breast Cooper's ligaments

N. Briot[1] · G. Chagnon[1] · L. Burlet[3] · H. Gil[4] · E. Girard[2,3] · Y. Payan[1]

Received: 24 September 2021 / Accepted: 25 March 2022 / Published online: 28 April 2022
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2022

Abstract

The aim of this study was to characterise the mechanical behaviour of Cooper's ligaments. Such ligaments are collagenous breast tissue that create a three-dimensional structure over the entire breast volume. Ten ligaments were extracted from a human cadaver, from which 28 samples were cut and used to perform uniaxial tensile tests. Histological analysis showed that the main direction of the fibres visible to the naked eye corresponds to the orientation of the fibres on a microscopic scale. The specimens were cut according to this orientation, which allowed the sample to be stretched in the main fibre direction. From these experimental stretch/stress curves, an original anisotropic hyperelastic constitutive law is proposed to model the behaviour of Cooper's ligaments and the material parameter validity is discussed.

Keywords Breast · Mechanical · Soft tissues · Cooper's ligaments · Uniaxial tensile test · Anisotropic hyperelastic constitutive model

1 Introduction

Numerous studies propose biomechanical modelling of human breast tissues with different goals such as the localisation of breast tumours during surgery (Del Palomar et al. 2008; Samani et al. 2007), the prediction of breast behaviour after the implantation of a prosthesis Lapuebla-Ferri et al. (2011), surgical training for biopsy (Azar et al. 2001) or computer-assisted medical interventions (Carter 2009; Han et al. 2011; Ruiter et al. 2006). Most studies use Finite Element (FE) modelling. The expected results are numerous and various, such as the prediction of the shape of the breast, the pain experienced by a patient during a mammogram Chung et al. (2008), or the deformation of tissue due to a biopsy needle (Azar et al. 2000).

Different approaches of modelling are provided in the literature. Samani et al. (2001) proposed to use a global model of the breast that did not include the various constituents of breast tissues such as skin, muscles, ligaments, fascia, fat or glandular tissue. Mîra et al. (2018) highlighted in FE simulations the importance of suspensory ligaments, as well as superficial and deep fasciae. The models proposed by Azar et al. (2000, 2001) tried to consider the mechanical influence of the Cooper's ligaments by using a global parameter to represent both fat and ligaments or glandular tissue and ligaments.

All these FE simulations face difficulties in estimating the mechanical properties of each constituent of breast tissue. If some constitutive laws were proposed in the literature to model skin, muscle and fat tissues, very little data are available concerning breast ligaments and fasciae.

Amongst all the structures of the breast, the suspensory ligaments, and in particular the Cooper ligaments, have a specific role. These ligaments form a kind of 3D mesh, which includes fat lobules and mammary lobules. To our knowledge, there is no FE model that includes the Cooper's ligaments as such or uses the intrinsic mechanical properties of these ligaments. This may be due to the fact that no

✉ N. Briot
noemie.briot@univ-grenoble-alpes.fr

1 University of Grenoble Alpes, CNRS, UMR 5525, VetAgro Sup, Grenoble INP, TIMC, 38000 Grenoble, France

2 University of Grenoble Alpes, CNRS, UMR 5525, VetAgro Sup, Grenoble INP, CHU Grenoble Alpes, TIMC, 38000 Grenoble, France

3 Laboratoire d'Anatomie des Alpes Française, Faculté de Médecine, Domaine de la Merci, 38700 La Tronche Cedex, France

4 Département d'anatomopathologie et cytologie, Centre Hospitalier Grenoble-Alpes, 38000 Grenoble, France

experimental data are available to estimate the mechanical properties of these ligaments.

In a preliminary study presented during the 25th Conference of the French Biomechanical Society Briot et al. (2020), an ex vivo experiment of the mechanical behaviour of Cooper's ligaments under uniaxial tensile test was performed (based on a cadaver dissection) in order to propose a constitutive model for these ligaments. This paper aims at completing this preliminary study, with a detailed analysis of the 28 uniaxial tensile tests and with the proposal of an original anisotropic hyperelastic constitutive law to model the mechanical behaviour of Cooper's ligaments.

In the following, the 'Material and methods' section introduces Cooper's ligaments and describes the uniaxial tensile tests. These tests are then analysed in the 'Results and discussion' section, with the proposal of an original anisotropic, hyperelastic constitutive law. The paper ends with a conclusion and some perspectives.

2 Material and methods

Firstly, details are given about the anatomy of the breast, while secondly, the preparation of the specimens and the mechanical tests are described.

2.1 Cooper's ligaments

2.1.1 Anatomical description of the breast

The breast is a passive organ presenting a complex structure (Gaskin et al. 2020). Breast anatomy can be described as a set of layers of various tissues as presented in Fig. 1. The organ originates in its upper part at the level of the clavicle and ends in its lower part at the level of the sixth rib. Laterally, the breast is located between the sternum and the lateral part of the rib cage starting from the axillary hollow.

From a superficial point of view, the breast is covered with skin, like the whole body. This skin is mainly composed of three layers: the epidermis, the dermis and the hypodermis. In the centre of the skin's superficial layer is the nipple surrounded by the areola. Internally, the entire breast rests on the pectoralis muscles, which are attached to the ribs.

Right in the middle of the breast volume is the mammary gland. This gland is made up of lobules which are themselves responsible for the production of milk. These mammary lobules group together to form the galactophoric ducts which join the nipple to convey the milk. The mammary gland is itself surrounded by adipose tissue that forms the main volume of the breast.

There are several conjunctive tissues composed of collagen throughout the entire breast volume. The first type of collagenous tissue is fascia: the deep fascia located between

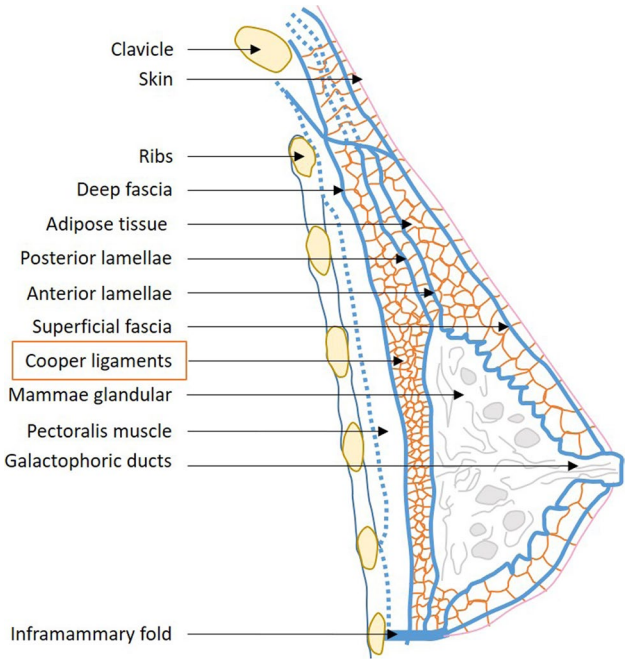

Fig. 1 Breast anatomical description

the pectoral muscles and the breast volume (gland + adipose tissue) and the superficial fascia located between the skin and the breast volume. The second type of collagenous tissue are the posterior and anterior lamellae that encompass the entire mammary gland. These two types of collagenous tissue (fascia and lamellae) meet at the level of the clavicle and at the level of the inframammary fold (located at the lower limit of the breast). The third type of collagenous tissue are Cooper's ligaments. Their anatomical description varies from one article to another. Gefen and Dilmoney (2007) describe Cooper's ligaments as the tentacles extending from the mammary gland, while Gaskin et al. (2020) describe them as a three-dimensional mesh forming pockets of adipose tissue. This description of Cooper's ligaments from Gaskin et al. (2020) is adopted here since it corresponds to what was observed during our experimental dissections as illustrated in Fig. 2.

2.1.2 Sample extraction

In accordance with French regulations on postmortem testing, a breast anatomical dissection was performed at the Anatomy Laboratory, Grenoble Faculty of Medicine, on a female cadaver (100 years old, 164 cm tall and 70 kg). Because of the COVID-19 pandemic situation, fresh cadavers were not available for dissection. The cadaver was embalmed using a formalin solution, injected in the carotid artery and drained from the jugular vein and then

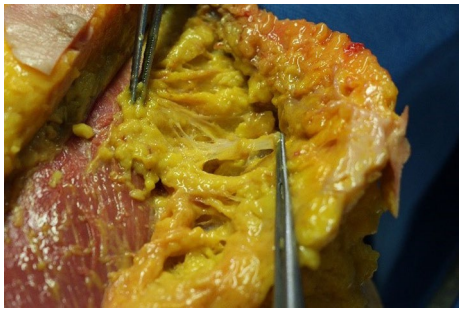

Fig. 2 Dissection picture of the three-dimensional mesh of Cooper's ligaments forming pockets of adipose tissue

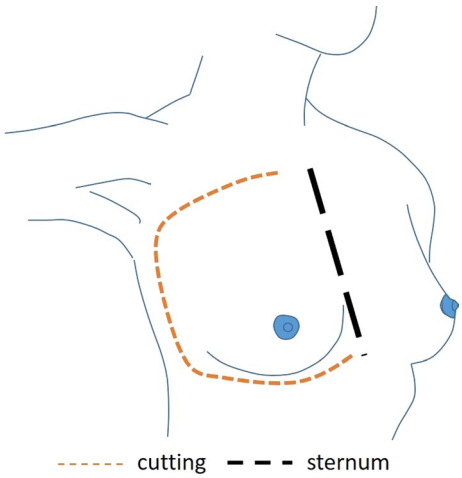

Fig. 3 Dissection method

preserved in a refrigerated room. The dissection occurred 12 days after the death.

To access Cooper's ligaments, the following dissection technique was used. A lateral incision was made, subclavicular then medioaxillary, to expose the chest wall and lay the breast inside out on the sternum. The posterior part of the breast was thus exposed, which facilitates the extraction of the cooperating ligaments. Dissection of the breast was then performed from the posterior to the anterior plane. The corresponding cutting diagram is shown in Fig. 3. The advantage of this method is that it provides clear anatomical landmarks (the pectoralis muscles are easily identifiable), which allows to better discern and locate the samples. Ten extractions (from the two breasts of our single corpse) were carried out, from which 28 samples were cut.

As illustrated in Fig. 2, Cooper's ligaments form a 3D mesh structure that creates pockets containing adipose tissue. This adipose tissue had to be removed to extract the Cooper's ligaments.

2.1.3 Histological analysis

By eye, the ligament gives the impression of having a structure with unidirectional fibres that are aligned in the direction of the ligament. To confirm this visual inspection and to analyse the tissue in detail, a histological analysis was performed.

Samples were conserved in formaldehyde, fixed first in formalin 10% for 24 h at 4 °C and then embedded in parafin according to the usual protocol Canene-Adams (2013). Sections of 3 μm were then realised with a microtome Leica RM 2245 (Wetzlar, Germany). The slices were then stained with Hematoxylin Eosin Saffron (HES) to see nucleic acids and connective tissue (amongst other collagen), or with Orcein staining to highlight elastin fibres. Slices were then examined qualitatively by light microscopy focusing particularly on the elastin and collagen fibres' orientation. Pictures were acquired by a digital camera (Leica Microsystems) connected to an optical microscope (Leica Microsystems) and are presented in Fig. 4.

Elastin and collagen fibres have a predominant orientation in the longitudinal direction of the Cooper's ligament which corresponds to the direction visible to the naked eye. With the HES staining technique, elastin fibres appear purple on the histological scan and collagen fibres appear golden yellow.

The images confirm that the tissue fibres are oriented in one main direction. The material can thus be considered as a unidirectional composite material with the direction of reinforcement corresponding to the main direction of the ligament.

2.2 Description of uniaxial tensile tests

The histological study showed that the material has a fibrous direction. So, in principle, tests along two directions are needed to perfectly characterize the tissue, namely the fibre direction and the orthogonal one. Nevertheless, given the geometry of the ligaments (Fig. 2), it was not possible to cut specimens along the orthogonal direction; so the study was limited to uniaxial tensile tests in the direction of the fibres.

The tensile tests were carried out using a MTS machine model C42 503, equipped with a +/-25N load cell. This tensile machine was equipped with a watertight tank Masri et al. (2017). To get as close as possible to the physiological conditions of stress, the tank was filled with a physiological saline maintained at a temperature of 37 °C. Each uniaxial tensile test was carried out in the watertight tank by using immersed grips, an illustration at which is presented in Fig. 5. These grips have the specific feature of being able to prevent the samples from slipping. The tests were conducted at a speed of 1%/s. A small

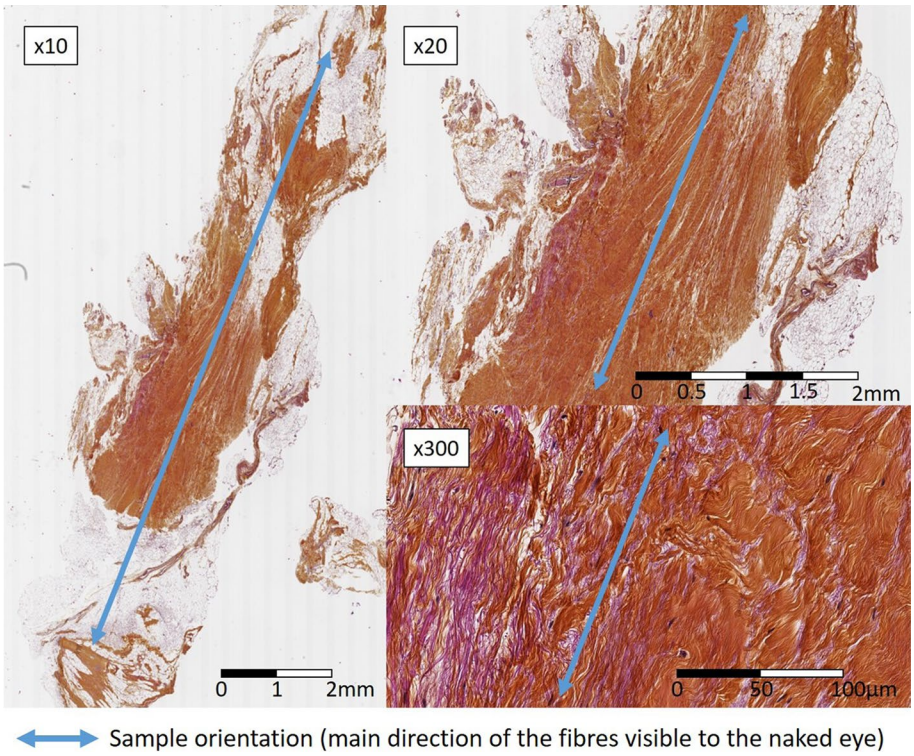

Fig. 4 Histology scan of a longitudinal section of a Cooper's ligament-HES (hematoxylin eosin saffron)-zoom ×10, ×20 and ×300

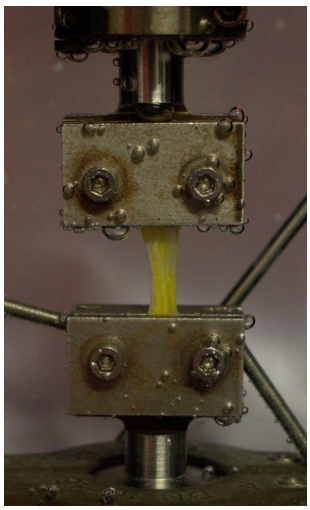

Fig. 5 Cooper's ligament sample in grips without the watertight tank for photography needs

pre-load in the range of 0.1N was applied to the samples to ensure their initial shape and avoid possible buckling.

The force and displacements were measured for each test, allowing for the evaluation of the stretch and the stress in the ligament. The uniaxial Cauchy stress is defined by

$$\sigma = \frac{F}{A} \tag{1}$$

where F is the force applied to the sample and A the current cross section area of the sample (evaluated from the initial section with the incompressibility hypothesis). The stretch is defined by

$$\lambda = \frac{l}{L_0} \tag{2}$$

where l is the current grip-to-grip length of the sample and L_0 is the initial grip to grip length of the sample.

3 Results and discussion

3.1 Specimen analysis

The geometry of Cooper's ligaments is different depending on their location in the breast, and their width and thickness can vary significantly. This explains why samples of different shapes were extracted from the dissection: sample lengths vary between 13.9 and 15.1 mm, while their widths and thicknesses were measured between 1.4 and 4.9 mm and between 0.04 and 0.3 mm, respectively.

Normally, a tensile test requires that the sample height/width ratio is sufficient to remain within the uniaxial reaction assumptions. Figure 6 shows the distribution of this ratio for all 28 specimens. Specimens with a ratio of less than 5 are supposed to be under the limit of the uniaxial

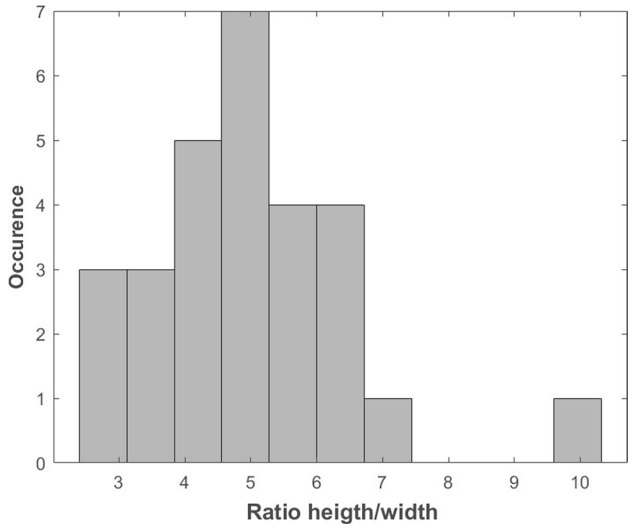

Fig. 6 Histogram of height to width ratio for the different specimens

stress assumptions. But it should be remembered that the shape and size of the specimens are mainly related to the morphological conditions and to the location where the samples were taken.

Cooper's ligament samples have a fluctuating proportion of fat which strongly influences the thickness of the samples. Although the outer fat was removed as carefully as possible, it was very difficult and sometimes impossible to remove the central fat from the thicker specimens. Thus, when the samples were the thickest, this meant that adipose tissue could be present in the specimen. Conversely, when the specimens were thinner, this encouraged the appearance of holes in the specimen. In both cases, this could distort the homogeneity.

Because of this high variability in terms of sample thickness, it was decided to define three groups gathering (1) the 'too thin' samples with thicknesses below 0.063 mm, (2) the 'too thick' samples with thicknesses above 0.21 mm and (3) the other samples with thicknesses that range between 0.063 and 0.21 mm which correspond to a standard deviation thickness around the average value.

3.2 Experimental results

A typical stress/stretch curve is presented in Fig. 7. The beginning of the curve ($\lambda < 1.01$) has a relatively low slope and then presents a hardening until tearing starts to occur ($\lambda = 1.045$). The curve then presents different angular points corresponding to the progressive rupture of the ligament. Several breaks can be observed before the measured stress starts to decrease. In this study, the beginning of the tearing is assumed as the rupture of the specimen. Therefore, only the first part of the curve, the black dotted line, in Fig. 7, is

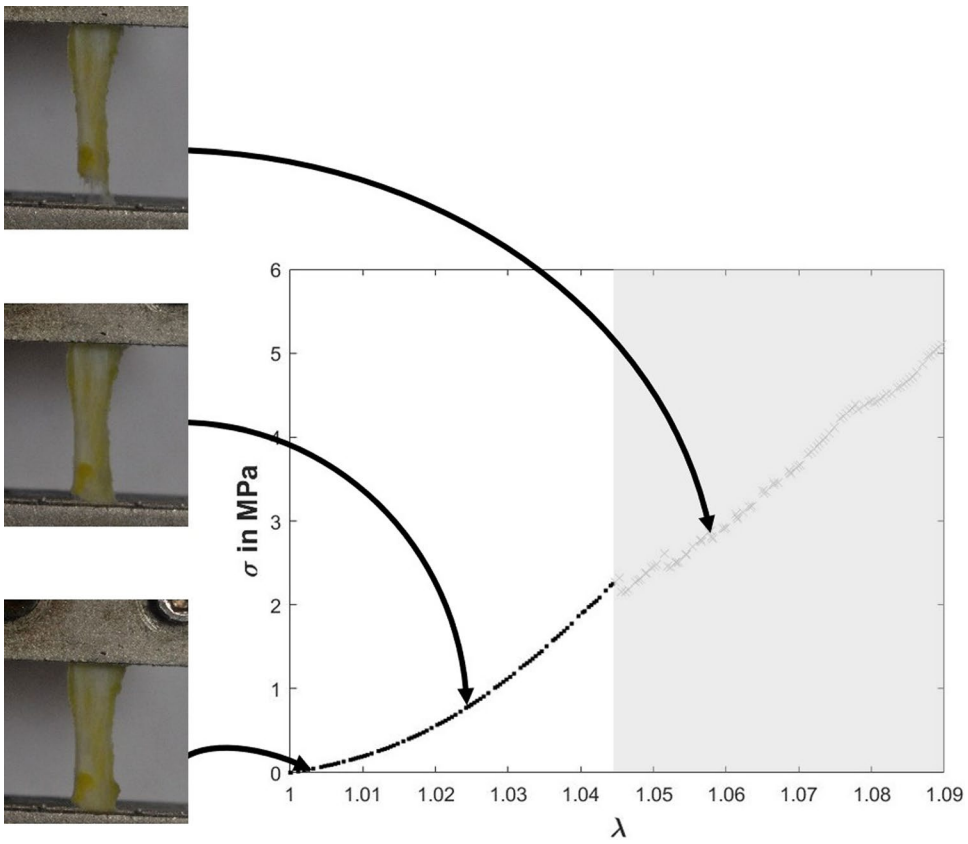

Fig. 7 Typical stress/stretch curve of a Cooper's ligament uniaxial tensile test

considered here. In the remaining paper, the curves will be only presented until the first crack apparition. This will be considered as the rupture point.

The 28 performed uniaxial tensile tests were divided into five groups according to the criteria (height/width ratios and thicknesses) discussed in the previous Section ('Specimen analysis'):

- Group 1: all tests with a height/width ratio of less than 5
- Group 2: all tests with a height/width ratio higher than 5
- Group 3: all tests with a thickness of less than 0.063mm
- Group 4: all tests with a thickness ranging between 0.063 and 0.21mm
- Group 5: all tests with a thickness higher than 0.21mm

Two other subdivisions of the tests were also proposed:

- Standard (Stand): which includes tests that satisfy the normative criteria (ratio>5 and 0.063mm<thickness<0.21mm).
- Non-standard (NStand): all tests that do not respect the classical standard in terms of ratio and thickness.

These two subdivisions are plotted in Fig. 8, thus summarizing the 28 performed uniaxial tensile tests (each presented until the first break). It is to note that a wide dispersion in the results can be observed despite the samples coming from the same person. However, the overall shape of the curves between the starting point and the first tissue break is similar for all the tests. The curves follow a highly nonlinear form, which is classical for human soft tissues.

The first rupture point of each curve is measured and the results are summarised in Table 1.

3.3 Modelling

The ligaments have a clear nonlinear elastic behaviour. It is assumed, in a first approximation, to represent them with a hyperelastic constitutive equation. If the ligaments would have been considered as one-dimension structures, an isotropic constitutive law could have been adopted Briot et al. (2020). The method was effective in describing the stress-strain curve in the fibre direction but it is clear that the response in the orthogonal direction is not representative. However, following our histological observations (Fig. 4), such Cooper's ligaments present a clear composition of fibres and extracellular matrix. Therefore, even if only one loading direction has been tested, it is decided to use an anisotropic constitutive equation. There exist many constitutive equations (and the corresponding strain energy density W) for such anisotropic materials Chagnon et al. (2015). Most equations are composed of two parts, one isotropic part representing the matrix (W_{matrix}) and an anisotropic part representing the fibres (W_{fibres}) so that $W = W_{\text{matrix}} + W_{\text{fibres}}$. This approach will be used here. Due to the limitation of loading cases (it is impossible to perform biaxial or planar tensions test

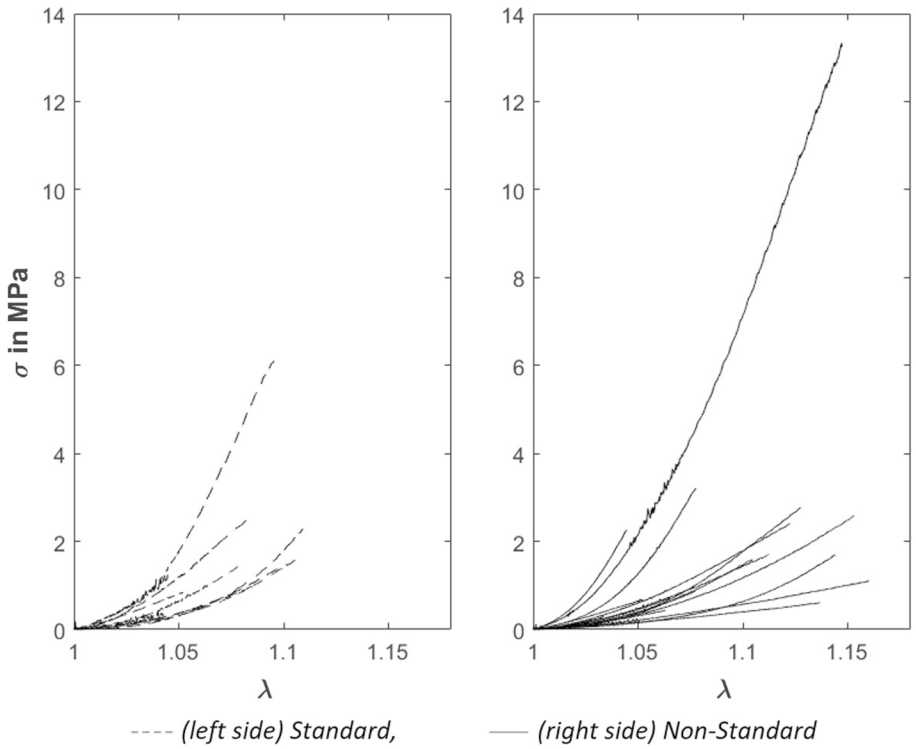

Fig. 8 Results of uniaxial tensile tests for all the Cooper's ligament samples

Table 1 First rupture values estimated from the 28 experimental tests

Group	Nb of tests in a group	Average	Min	Max	SD
		Rupture stretch in %			
1	16	7.7	3.0	15	3.6
2	12	9.8	3.4	16	4.0
3	3	7.8	4.3	15	6.0
4	20	9.1	3.0	16	3.9
5	5	8.5	3.4	13	3.4
Stand	8	7.4	3.0	11	3.0
NStand	20	9.1	3.4	16	4.1
All tests	28	8.9	3.0	76	3.9
		First rupture stress in MPa			
1	16	2.6	0.24	13	3.7
2	12	1.5	0.28	3.2	0.92
3	3	4.9	0.33	13	7.2
4	20	1.7	0.24	6.1	1.3
5	5	1.3	0.28	2.8	0.92
Stand	8	1.9	0.24	6.1	1.9
NStand	20	1.4	0.28	3.2	0.88
All tests	28	2.0	0.24	13	2.5

on Cooper's ligaments), it is decided to focus on representative constitutive equations with a limited number of parameters to avoid non-physical fitting.

The isotropic part of the model is assumed as follows:

- Neo-Hookean modelling Treloar (1943):

$$W_{\text{matrix}} = C_1(I_1 - 3) \tag{3}$$

For the anisotropic part, two models of the literature with a limited number of parameters will be evaluated, namely a polynomial form and an exponential one:

- Triantafyllidis and Abeyaratne (1983) modelling:

$$W_{\text{fibres}} = C_2(I_4 - 1)^2 \tag{4}$$

- Holzapfel et al. (2000) modelling:

$$W_{\text{fibres}} = \frac{k_1}{2k_2}\left(e^{k_2(I_4-1)^2} - 1\right) \tag{5}$$

where C_1, C_2, k_1 and k_2 are material parameters, I_1 represents the first invariant of the right Cauchy Green strain tensor $\overline{C}$ and I_4 the fourth invariant defined by trace $(\overline{C} \cdot \overrightarrow{a_0} \otimes \overrightarrow{a_0})$, where $\overrightarrow{a_0}$ is the initial orientation of the fibres in the ligament (in our case, it corresponds to the tensile direction). The uniaxial Cauchy stress, projected along the stress axis, is defined in the incompressible framework for each model by

$$\sigma = 2\left(\lambda^2 - \frac{1}{\lambda}\right)\frac{\partial W}{\partial I_1} + 2\lambda^2\frac{\partial W}{\partial I_4} \tag{6}$$

The Triantafyllidis and Abeyaratne model has two parameters. The first parameter is related to the Neo-Hookean model which models the behaviour of the extracellular matrix, C_1. The second parameter is linked to the behaviour of the fibres, C_2. The Holzapfel model also has the C_1 parameter for the matrix but has two other parameters k_1 and k_2 for the fibres' behaviour.

Each experimental curve is fitted independently for the 28 tests. The results of the material parameter optimization are presented in Table 2. In this table, for each model, the calculated error is the average of the point-by-point errors in the least squares sense. It appears that for both models, C_1 was obtained null in 28 cases out of 28. This would mean that the contribution of the extracellular matrix Laurent (2018) is zero although it is present in the material. This underlines that the results of a global identification disagree with the experimental observations. This result is due to the fact that the two equations of both models link the material parameters to describe the initial slope of the material. This initial slope can be approximated by a linearisation of equation 6 where we get what some might call the Young's modulus E of the material.

- Triantafyllidis modelling:

$$E = 6C_1 + 8C_2 \tag{7}$$

- Holzapfel modelling:

$$E = 6C_1 + 4k_1 \tag{8}$$

The limits of both modelling are reached here with a small number of test conditions and a global identification of the behaviour of the material. To overcome this problem, it is proposed to introduce a hyperelastic strain energy density where the fibre parameters are only involved in large strain. The objective is to fit the isotropic and anisotropic parameters in different strain zones in order to ensure the uniqueness of the material parameters. It is often considered in the literature that the tissue should endure some per cents of deformation before being stretched. Jemioło and Telega (2001) proposed a series development depending of four invariants, isotropic and anisotropic ones:

$$W_{\text{jemiolo}} = \sum_{\text{klmn}} c_{\text{klmn}}(I_1 - 3)^{a_k}(I_2 - 3)^{b_l}(I_4 - 3)^{c_m}(I_5 - 3)^{d_n} \tag{9}$$

In a first approach, it is decided to limit the number of parameters and keep only two terms:

$$W_{\text{fibres}} = C_1(I_1 - 3) + b_1(I_4 - 1)^{b_2} \tag{10}$$

b_1 and b_2 being material parameters describing the strain hardening. The initial slope is calculated by a linearisation of the strain/stress curve, all the details are given in the Appendix:

$$E = 6C_1 \tag{11}$$

If $b_2 = 2$, the initial slope is given by

$$E = 6C_1 + 8b_1 \tag{12}$$

In the first case, the slope is only depending on the isotropic parameter which is what is required. In the other case ($b_2 = 2$), E is not only dependent on C_1, but finding b_2 strictly equal to 2 is very rare and nearly impossible in a fitting procedure. As a consequence, the fitting process can be decomposed into two steps, C_1 is first fitted at the beginning of the experimental stretch/stress curves and the two other parameters b_1 and b_2 are fitted to describe the rest of the curves.

The values of the parameters estimated for each test are presented in Table 2. First, to note, no C_1 parameter was fitted to 0. As an example, for test N°5, Fig. 9 superimposes the analytical stretch/stress curves computed for all the three models. Those three models were run for all samples. Error bars plotted in this figure correspond to uncertainties in the measurements due to uncertainties in the estimation of the ligament section (width and thickness). If one looks at the curves globally, the three models seem to give results that are consistent with the experimental errors. However, if one zooms in on the initial part of the curve, it can be observed that the power law model is the only one which is able to correctly describe the initial slope. Out of all 28 tests, the Triantafyllidis modelling is within the model validity area (represented by the error bars) in 36% of the cases. The Holzapfel modelling is within the model's area of validity in 57% of the cases. The power modelling is within the validity range of the model in 93% of the cases.

Since all samples come from the same body, the effects of dispersion do not involve variations from one individual to another. Dispersion can therefore only be explained by the fact that the samples are different and because of classical experimental errors and errors arising from difficulties in characterising biological tissue.

Considering the nonlinearity of the results obtained, two parameters are interesting to deal with the slope at the origin and the stiffening (slope at a strain of 5%). The experimental results present a non neglectible dispersion, the standard deviation is 5 MPa for Young's modulus and 20MPa for tangent modulus.

Further to this, a study of the dispersion of the Young's modulus was carried out in order to deduce the range of variation in the Young's modulus of the Cooper's ligaments.

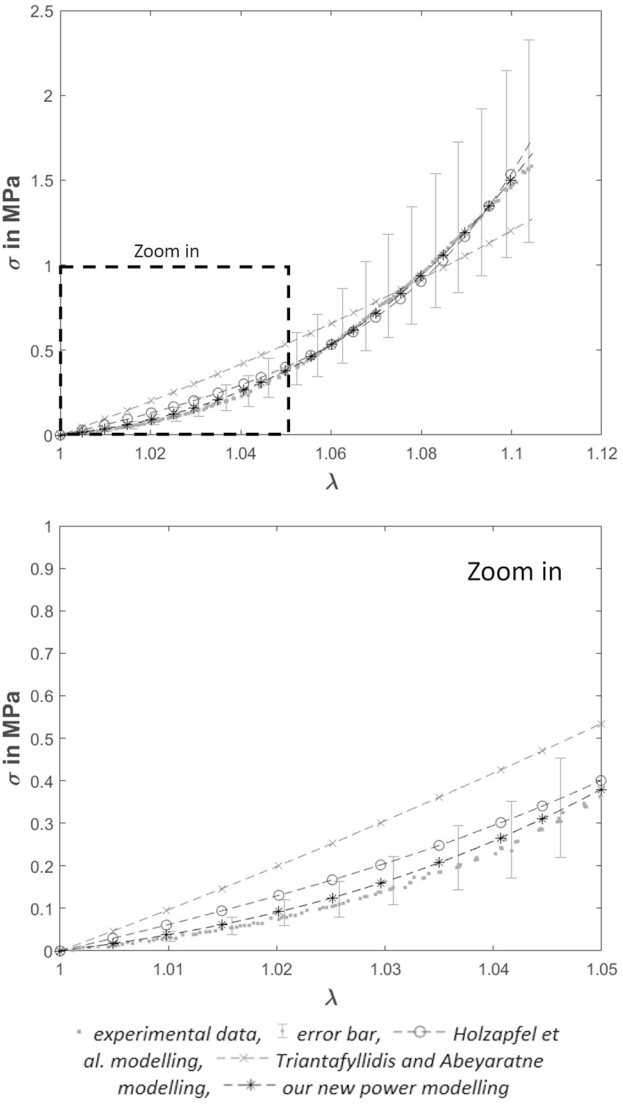

Fig. 9 Comparison of all models for specimen number 5

Table 3 shows for each test the Young's modulus deduced from the C_1 parameter of the new model with the following law:

$$E = 6C_1 \tag{13}$$

Figure 10 shows the overall distribution of the Young's moduli obtained. A distribution law can then be set up to best represent the distribution established.

Frechet's law was chosen for such a distribution because it is generally used to represent the frequency of occurrence of singular phenomena. Its distribution law is defined as follows:

$$P(X \leq x) = \begin{cases} e^{-\left(\frac{x}{s}\right)^{\alpha}} & \text{if } x > 0 \\ 0 & \text{else} \end{cases} \tag{14}$$

Table 2 Material parameters estimated for each fit of the 28 stretch/stress curves

Test	Triantafyllidis			Holzapfel				New model			
	C_1 (MPa)	C_2 (MPa)	Error (MPa)	C_1 (MPa)	k_1 (MPa)	k_2 (MPa)	Error (MPa)	C_1 (MPa)	b_1 (MPa)	b_2 (MPa)	Error (MPa)
1	0	1.23	0.158	0	1.75	5.39	0.051	0.751	3.00	3.13	0.018
2	0	0.569	0.028	0	1.05	1.20	0.016	0.453	0.675	2.61	0.010
3	0	0.388	0.013	0	0.710	1.52	0.008	0.377	0.446	2.72	0.005
4	0	1.38	0.016	0	2.48	13.7	0.009	1.59	3.56	3.11	0.008
5	0	1.18	0.126	0	1.50	15.9	0.042	0.554	5.88	3.29	0.016
6	0	0.668	0.147	0	0.706	12.2	0.022	0.345	5.03	3.93	0.004
7	0	5.35	0.533	0	6.72	19.4	0.224	1.59	26.6	3.14	0.096
8	0	3.18	0.284	0	3.66	36.7	0.071	1.62	40.6	3.62	0.022
9	0	0.646	0.018	0	1.05	21.5	0.005	0.657	3.64	3.39	0.003
10	0	7.30	0.741	0	11.0	4.61	0.339	3.05	14.3	2.79	0.137
11	0	1.25	0.227	0	1.27	23.2	0.050	0.260	13.5	3.69	0.008
12	0	2.80	0.136	0	4.37	14.4	0.058	1.87	8.56	2.95	0.029
13	0	2.09	0.023	0	3.41	100	0.006	2.55	301	4.45	0.008
14	0	1.52	0.105	0	2.05	25.7	0.035	0.854	8.94	3.23	0.015
15	0	1.72	0.020	0	3.09	15.1	0.011	2.00	5.16	3.18	0.009
16	0	1.31	0.086	0	2.09	6.85	0.039	0.843	2.87	2.87	0.019
17	0	1.69	0.111	0	2.72	5.30	0.051	1.05	3.31	2.82	0.023
18	0	0.964	0.040	0	1.42	28.9	0.011	0.831	7.52	3.45	0.006
19	0	4.59	0.161	0	6.20	81.4	0.043	3.78	126	3.74	0.027
20	0	1.63	0.244	0	1.96	11.3	0.095	0.426	6.41	3.19	0.037
21	0	0.813	0.018	0	1.19	114	0.005	0.848	55.4	4.07	0.005
22	0	0.930	0.055	0	1.31	24.4	0.013	0.704	6.51	3.42	0.005
23	0	0.662	0.009	0	1.15	42.2	0.005	0.811	16.1	3.96	0.005
24	0	1.04	0.132	0	1.23	19.2	0.030	0.541	8.41	3.61	0.007
25	0	0.882	0.012	0	1.62	18.1	0.010	1.05	2.33	3.11	0.010
26	0	2.56	0.053	0	4.09	49.4	0.018	2.81	63.1	3.91	0.017
27	0	0.946	0.070	0	1.30	19.9	0.018	0.642	5.77	3.38	0.006
28	0	1.06	0.108	0	1.34	19.5	0.029	0.523	6.40	3.35	0.007

where $\alpha > 0$ is a shape parameter and $s > 0$ is a scale parameter.

As plotted in Fig. 10, the Frechet law that best fits the distribution is obtained with parameters $\alpha = 1.65$ and $s = 3.99$.

The P value relating the theoretical distribution of Frechet's law to the current distribution of Young's moduli is 0.88. Such a P value is high, much larger than the decision threshold of 0.05 (commonly used in frequentist statistics to decide whether the probability that the law correctly represents the data are large or small; here, 0.88 is a high probability) thus providing a very good representation of the Young's moduli distribution with this Frechet's law.

With such a law, the main mode is 3.00 MPa (corresponding to the peak value of the law) and 80% of the Young's moduli population is ranked between 1 and 10 MPa with a high probability around the mode (see Fig. 10).

Such a dispersion of Young's moduli can be considered as high (around one order of magnitude). However, it should be compared with the dispersion of Young's modulus values found in the literature on other human soft tissues. This can be done, for example, thanks to the synthesis work carried out by Gefen and Dilmoney (2007). For leg muscle fascia (to our knowledge, no estimations were provided for pectoral fascia), the Young's modulus values vary between 100 and 2000 MPa. For fat tissue, the data vary between 0.5 and 25 kPa. For the gland, the moduli range from 7.5 to 66 kPa. Finally, the values provided for knee ligaments (taken as a reference for Cooper's ligaments in the Gefen and Dilmoney (2007) study) vary between 80 and 400 MPa. These values show, therefore, similar, or even larger, dispersions as the ones measured for Cooper's ligaments. Stiffening can be seen by the slope of the curve at the largest strains, for example at 5%, or by the evolution of the parameters of the hyperelastic constitutive equation. The stiffening of the material is characterised by the increase in the tangent modulus with the strain. To evaluate the stiffening, the tangent modulus at 5% can be analysed (5% is large enough to reach the hardening and few enough to reach the breaking point).

Table 3 Young's modulus deduced form C_1 (New modelling) and Tangent modulus (at a strain of 5%) for each tests

Test	Young's modulus (MPa)	Tangent modulus (MPa)
1	4.51	11.2
2	2.72	6.05
3	2.26	4.20
4	9.54	14.9
5	3.32	14.8
6	2.07	5.19
7	9.54	78.3
8	9.72	53.6
9	3.94	8.98
10	18.3	74.9
11	1.56	15.1
12	11.2	36.6
13	15.3	NaN
14	5.12	23.4
15	12.0	18.6
16	5.06	15.7
17	6.30	18.3
18	4.99	15.0
19	22.7	NaN
20	2.56	17.0
21	5.09	NaN
22	4.22	13.8
23	4.87	NaN
24	3.25	12.5
25	6.30	NaN
26	16.9	NaN
27	3.85	13.0
28	3.14	14.2

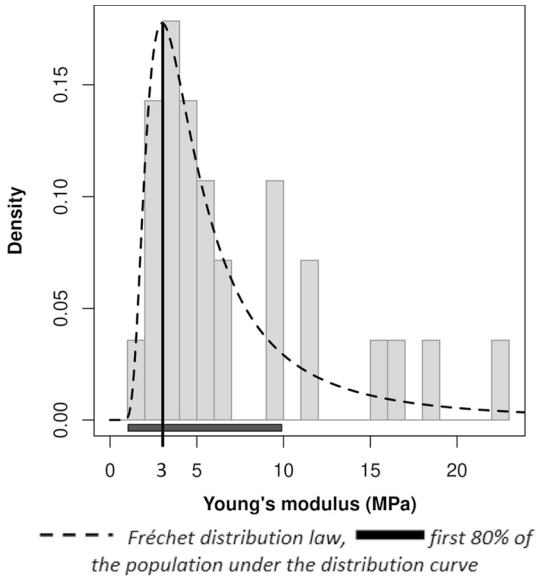

Fig. 10 Histogram representing the distribution density of the 28-Young's moduli obtained from tests

There is a large dispersion of the parameters describing the anisotropic power law. This is due to the significant differences in the experimental results obtained. It can be seen that there can be a ratio of more than 10 on the stress levels for a given strain. This result generates large variations in the parameters of the constitutive equation, due to the curvature of the experimental results. Depending on the curvature of the stiffening, it can be more described by the multiplicative parameter b_1 or the power parameter b_2, so there is a compensation between the two parameters, which is the limit of the model with respect to the experimental dispersion at the stiffening.

4 Conclusion

For the first time in the literature, this paper has characterised the behaviour of breast Cooper's ligaments through uniaxial tensile tests. A new anisotropic, hyperelastic constitutive model had to be introduced in order to fit the experimental stretch/stress curves measured on 28 specimens in this particular case where data are limited.

By looking at the curves for small strains, it was interesting to estimate an order of magnitude of the Young's modulus ($E = 6C_1$ (11) for our proposed constitutive model) for each specimen, despite the dispersion observed. Our results show a distribution of the Young's modulus values that ranges between 1 and 10 MPa, with a mode at 3.00 MPa.

Such results are very different from the Young's modulus values of the Cooper's ligaments which can be found in Gefen and Dilmoney (2007) and that vary between 80 and 400 MPa. However, these values are questionable since they have been deduced from other collagenous tissues such as the knee ligaments. It is also interesting to note that the 1 MPa-10 MPa ranging values obtained from our work show that Cooper's ligaments are two to three order of magnitude stiffer than the other constituents of breast tissue (fat, gland and muscle).

Finally, we must acknowledge that our results were obtained from a single cadaver, namely the body of a 100-year-old embalmed woman. This is a strong limitation and our conclusion will have to be verified with a much larger cohort of bodies, including fresh cadavers. Nevertheless, the results of the analysis are not disturbed by variations from one individual to another. And it remains, to our knowledge, the first study with quantitative proposals for the constitutive behaviour of Cooper's ligaments that can be now used in Finite Element models of the human breast Mîra et al. (2018).

Appendix: Calculation of the initial modulus

An uniaxial tension in $\vec{e_1}$ direction with fibres oriented along $\vec{e_1}$ is considered.

General equations

Stress-Strain relation for a hyperelastic energy density depending of I_1 and I_4 is defined as in a general way and can be written in uniaxial extension:

$$\begin{aligned}\bar{\bar{\sigma}} &= -p\bar{\bar{I}} + 2\frac{\partial W}{\partial I_1}\bar{\bar{B}} + 2\frac{\partial W}{\partial I_4}\bar{\bar{F}}\vec{a}_0 \otimes \vec{a}_0\bar{\bar{F}}^T \\ \begin{bmatrix}\sigma & 0 & 0\\ 0 & 0 & 0\\ 0 & 0 & 0\end{bmatrix} &= -p\begin{bmatrix}1 & 0 & 0\\ 0 & 1 & 0\\ 0 & 0 & 1\end{bmatrix} \\ &\quad + 2\frac{\partial W}{\partial I_1}\begin{bmatrix}\lambda^2 & 0 & 0\\ 0 & \frac{1}{\lambda} & 0\\ 0 & 0 & \frac{1}{\lambda}\end{bmatrix} + 2\frac{\partial W}{\partial I_4}\begin{bmatrix}\lambda^2 & 0 & 0\\ 0 & 0 & 0\\ 0 & 0 & 0\end{bmatrix}\end{aligned} \tag{15}$$

Let's consider $\lambda = 1 + \varepsilon$ where ε is the nominal strain. In the following, ε is considered small for linearisation.

Neo-Hookean and Triantafillidis model

$$\begin{aligned} W &= C_1(I_1 - 3) + C_2(I_4 - 1)^2 \\ \frac{\partial W}{\partial I_1} &= C_1 \\ \frac{\partial W}{\partial I_4} &= 2C_2(I_4 - 1) \\ \sigma &= -\frac{2C_1}{1+\varepsilon} + 2C_1(1+\varepsilon)^2 \\ &\quad + 4C_2\big((1+\varepsilon)^2 - 1\big)(1+\varepsilon)^2 \\ \sigma &= (6C_1 + 8C_2)\varepsilon + o(\varepsilon) \\ E &= 6C_1 + 8C_2 \end{aligned} \tag{16}$$

The Young Modulus can be identified by $6C_1 + 8C_2$.

Neo-Hookean and Holzapfel model

$$\begin{aligned} W &= C_1(I_1 - 3) + \frac{k_1}{2k_2}\Big(e^{k_2(I_4-1)^2} - 1\Big) \\ \frac{\partial W}{\partial I_1} &= C_1 \\ \frac{\partial W}{\partial I_4} &= k_1(I_4 - 1)e^{k_2(I_4-1)^2} \\ \sigma &= -\frac{2C_1}{1+\varepsilon} + 2C_1(1+\varepsilon)^2 \\ &\quad + 2\Big(k_1\big((1+\varepsilon)^2 - 1\big)e^{k_2\left((1+\varepsilon)^2-1\right)^2}\Big)(1+\varepsilon)^2 \\ \sigma &= (6C_1 + 4k_1)\varepsilon + o(\varepsilon) \\ E &= 6C_1 + 4k_1 \end{aligned} \tag{17}$$

The Young Modulus can be identified by $6C_1 + 4k_1$.

Neo-Hookean and new Model

$$\begin{aligned} W &= C_1(I_1 - 3) + b_1(I_4 - 1)^{b_2} \\ \frac{\partial W}{\partial I_1} &= C_1 \\ \frac{\partial W}{\partial I_4} &= b_1b_2(I_4 - 1)^{b_2-1} \\ \sigma &= -\frac{2C_1}{1+\varepsilon} + 2C_1(1+\varepsilon)^2 \\ &\quad + 2b_1b_2\big((1+\varepsilon)^2 - 1\big)^{b_2-1}(1+\varepsilon)^2 \\ \sigma &= -2C_1(1 - \varepsilon + o(\varepsilon)) + 2C_1(1 + 2\varepsilon + o(\varepsilon)) \\ &\quad + 2b_1b_2\big(2\varepsilon + \varepsilon^2\big)^{b_2-1}(1 + 2\varepsilon + o(\varepsilon)) \\ \sigma &= 6C_1\varepsilon + 2b_1b_2(2\varepsilon)^{b_2-1}(1 + 2\varepsilon) + o(\varepsilon) \end{aligned} \tag{18}$$

For $b_2 = 2$:

$$\begin{aligned} \sigma &= 6C_1\varepsilon + 8b_1\varepsilon(1 + 2\varepsilon) + o(\varepsilon) \\ \sigma &= (6C_1 + 8b_1)\varepsilon + o(\varepsilon) \\ E &= 6C_1 + 8b_1 \end{aligned} \tag{19}$$

The Young Modulus can be identified by $6C_1 + 8b_1$.

For $b_2 > 2$:

$$\begin{aligned} \sigma &= 6C_1\varepsilon + 2b_1b_2(2\varepsilon)^{b_2-1}(1 + 2\varepsilon) + o(\varepsilon) \\ \sigma &= 6C_1\varepsilon + o(\varepsilon) \\ E &= 6C_1 \end{aligned} \tag{20}$$

The Young Modulus can be identified by $6C_1$.

Acknowledgements The authors would like to thank Nicolas Glade (Univ. Grenoble Alpes) for his help in the choice of the statistical distribution law used to approximate the data.

References

Azar FS, Metaxas DN, Schnall MD (2000) A finite element model of the breast for predicting mechanical deformations during biopsy procedures. In: Proceedings IEEE workshop on mathematical methods in biomedical image analysis. MMBIA-2000 (Cat. No. PR00737), pp 38–45. IEEE

Azar FS, Metaxas DN, Schnall MD (2001) A deformable finite element model of the breast for predicting mechanical deformations under external perturbations. Acad Radiol 8(10):965–975

Briot N, Chagnon G, Masri C, Girard E, Payan Y (2020) Ex-vivo mechanical characterisation of the breast cooper's ligaments. Comput Methods Biomech Biomed Eng 23(sup1):S49–S51

Canene-Adams K (2013) Preparation of formalin-fixed paraffin-embedded tissue for immunohistochemistry. Methods Enzymol 533:225–233

Carter TJ (2009) Biomechanical modelling of the breast for image-guided surgery. PhD thesis, University of London

Chagnon G, Rebouah M, Favier D (2015) Hyperelastic energy densities for soft biological tissues: a review. J Elast 120(2):129–160

Chung J-H, Rajagopal V, Nielsen PM, Nash MP (2008) Modelling mammographic compression of the breast. In: International conference on medical image computing and computer-assisted intervention, pp 758–765. Springer

Del Palomar AP, Calvo B, Herrero J, López J, Doblaré M (2008) A finite element model to accurately predict real deformations of the breast. Med Eng Phys 30(9):1089–1097

Gaskin KM, Peoples GE, McGhee DE (2020) The fibro-adipose structure of the female breast: a dissection study. Clin Anat 33(1):146–155

Gefen A, Dilmoney B (2007) Mechanics of the normal woman's breast. Technol Health Care 15(4):259–271

Han L, Hipwell JH, Tanner C, Taylor Z, Mertzanidou T, Cardoso J, Ourselin S, Hawkes DJ (2011) Development of patient-specific biomechanical models for predicting large breast deformation. Phys Med Biol 57(2):455

Holzapfel GA, Gasser TC, Ogden RW (2000) A new constitutive framework for arterial wall mechanics and a comparative study of material models. J Elast Phys Sci Solids 61(1–3):1–48

Jemioło S, Telega J (2001) Transversely isotropic materials undergoing large deformations and application to modelling of soft tissues. Mech Res Commun 28(4):397–404

Lapuebla-Ferri A, del Palomar AP, Herrero J, Jiménez-Mocholí A-J (2011) A patient-specific fe-based methodology to simulate prosthesis insertion during an augmentation mammoplasty. Med Eng Phys 33(9):1094–1102

Laurent C (2018) Micromechanics of ligaments and tendons. In: Multiscale biomechanics, pp 489–509. Elsevier

Masri C, Chagnon G, Favier D (2017) Influence of processing parameters on the macroscopic mechanical behavior of pva hydrogels. Mater Sci Eng, C 75:769–776

Mîra A, Carton A-K, Muller S, Payan Y (2018) A biomechanical breast model evaluated with respect to mri data collected in three different positions. Clin Biomech 60:191–199

Ruiter NV, Stotzka R, Muller T-O, Gemmeke H, Reichenbach JR, Kaiser WA (2006) Model-based registration of x-ray mammograms and mr images of the female breast. IEEE Trans Nucl Sci 53(1):204–211

Samani A, Bishop J, Yaffe MJ, Plewes DB (2001) Biomechanical 3-d finite element modeling of the human breast using mri data. IEEE Trans Med Imaging 20(4):271–279

Samani A, Zubovits J, Plewes D (2007) Elastic moduli of normal and pathological human breast tissues: an inversion-technique-based investigation of 169 samples. Phys Med Biol 52(6):1565

Treloar L (1943) The elasticity of a network of long-chain molecules-ii. Trans Faraday Soc 39:241–246

Triantafyllidis N, Abeyaratne R (1983) Instabilities of a finitely deformed fiber-reinforced elastic material

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

2.1.4 Conclusion

Pour la première fois dans la littérature, nous avons caractérisé le comportement mécanique des ligaments de Cooper par des essais de traction uniaxiale réalisés sur un nombre limité de spécimens. Un nouveau modèle constitutif anisotrope et hyperélastique a dû être introduit afin de reproduire les courbes expérimentales d'étirement et de contrainte mesurées sur 28 spécimens. En observant les courbes contraintes/étirements pour les petites déformations, il était intéressant d'estimer un ordre de grandeur du module de Young pour chaque spécimen, malgré la dispersion observée. Les résultats montrent une distribution des valeurs du module de Young qui varie entre 1 MPa et 10 MPa, avec un mode à 3.00 MPa.

Grâce à ces résultats, on peut en déduire que les ligaments de Cooper ont une influence non négligeable sur la déformation globale des seins puisqu'ils sont plusieurs ordres de grandeurs plus rigides que les autres tissus mous. Ainsi les résultats de ces tests pourront permettre de paramétrer les ligaments de Cooper dans un modèle par éléments finis.

Cependant, les modules élastiques ne sont pas les seuls paramètres à prendre en compte dans les modèles par éléments finis. Le coefficient de Poisson a lui aussi une importance non négligeable. C'est l'objet du second dispositif expérimental mis en œuvre au cours de cette thèse.

2.2 Compressibilité des tissus mous du sein

La caractérisation par des essais classiques n'est pas suffisante pour connaitre parfaitement le comportement mécanique des tissus mous. La variation de volume, classiquement considérée comme nulle, joue un rôle souvent négligé dans la description des déformations des structures anatomiques. Mira [2018] dans sa thèse a montré l'influence du coefficient de Poisson sur les simulations numériques des déformations du sein. Il apparait donc crucial de déterminer les valeurs de ce dernier pour les différents constituants du sein. Celui-ci est directement relié au coefficient de compressibilité. Pour déterminer ce coefficient, un dispositif de mesure de la compressibilité a été dans un premier temps développé et testé sur des matériaux industriels avant d'être utilisé sur différents tissus mous du sein.

2.2.1 Dispositif expérimental pour mesurer le coefficient de compressibilité des tissus mous

2.2.1.1 Introduction à l'article

Très peu de coefficients de compressibilité ou de coefficients de Poisson ont été réellement mesurés dans la littérature. Ainsi, les modélisations reposent sur l'hypothèse que les tissus sont incompressibles et des valeurs arbitraires sont généralement utilisées pour ces coefficients. Ce second article a pour objectif de présenter le dispositif expérimental élaboré pour mesurer le coefficient de compressibilité de matériaux mous et plus particulièrement des tissus biologiques.

2.2.1.2 Résumé en français

À l'heure actuelle, il existe de nombreux moyens de mesurer le coefficient de compressibilité d'un échantillon. Cependant, très peu d'entre eux permettent de mesurer la compressibilité sur des échantillons qui ne peuvent pas être découpés en une forme précise, comme c'est le cas pour la plupart des tissus humains voire pour certains les matériaux caoutchouteux et de nombreux polymères trop mous qui sert trop mous pour être découpé en éprouvette. L'objectif de cette étude est donc d'apporter la preuve de concept d'un dispositif permettant la mesure du coefficient de compressibilité sur un échantillon de forme quelconque. Ce dispositif est constitué d'une chambre cylindrique, remplie d'un liquide, dans laquelle est inséré un échantillon du matériau

à tester. Le volume de la chambre est diminué grâce à l'insertion d'un piston tandis que la variation de pression qui en résulte est mesurée. Le coefficient de compressibilité du matériau mou est alors estimé à partir des courbes pression-volume obtenues. Le dispositif est testé et validé sur deux matériaux industriels, à savoir un Polyméthacrylate de méthyle (PMMA) et un caoutchouc styrène-butadiène (SBR). Les comparaisons des mesures avec une méthode de stéréocorrélation classique sur un essai de traction permettent de valider le dispositif. Ces résultats donnent confiance dans le dispositif et laissent imaginer son utilisation sur des tissus mous biologiques.

2.2.1.3 Article

Experimental device to measure the compressibility coefficient of soft materials

N. Briot*[1], G. Chagnon[1], N. Connesson[1], T. Alonso[1], P.-A. Barraud[1], and Y. Payan[1]

[1]Univ. Grenoble Alpes, CNRS, UMR 5525, VetAgro Sup, Grenoble INP, TIMC, 38000 Grenoble, France

* Corresponding autor : noemie.briot@univ-grenoble-alpes.fr; adress: Rdpt de la Croix de Vie, 38700 La Tronche, FRANCE

Abstract

At present, there are many ways to measure the compressibility coefficient of a sample, but none of them allow the measurement of compressibility on samples that cannot be cut to a precise shape, such as human soft tissue, rubber-like materials and polymers. The objective of this study is therefore to demonstrate the proof of concept of a device allowing the measurement of the compressibility coefficient on a sample which is non-cuttable in a precise shape. The device is made of a cylindrical chamber, filled with a liquid, in which a sample of the soft material is inserted. The volume of the chamber is decreased by means of the insertion of a piston while the resulting pressure variation is measured. The compressibility coefficient of the soft material is then estimated from the pressure-volume curves. The results obtained on two industrial materials, namely a PMMA and a SBR rubber, show that the method produces similar results than those obtain by a classical stereocorrelation analysis on a tensile test. These results give confidence in the coefficients obtained with the compressibility method and open perspectives for human soft tissues.

Keywords

Compressibility coefficient, Poisson's ratio, device, biomechanics, soft materials.

Introduction

Many soft materials are considered as incompressible, like human soft tissues, rubber-like materials and polymers. As a consequence, their compressibility coefficients are often assumed

very low. The classical way to treat these materials in theoretical developments or finite element models is to consider their Poisson's ratio close to 0.5. There is however an important gap in the literature since few Poisson's ratios or compressibility coefficients have really been experimentally measured. The present study aims at filling this gap with the development of an experimental device able to measure the compressibility coefficient of soft materials.

The experimental techniques used to measure compressibility coefficients or Poisson's ratio strongly depend on the materials studied. To begin, many studies concern soils. For example, Asaei and Moosavi's [Asaei and Moosavi, 2013] developed a system for estimating the compressibility coefficient and porosity of composite mineral materials using a hydraulic injection system. To measure compressibility, the pressure is recorded as a function of the volume of liquid injected by a pump into a chamber containing the material sample.

For polymers, various methods have been proposed. As a first example, De Crevoisier et al. [2012] performed a filmed mechanical test. A standard size sample is subjected to a mechanical test (tension or compression) while high definition cameras record the face and edge of the sample. After processing, the volume change can be measured as a function of the force applied to the sample. There are other original types of measurements, such as Gurvich and Fleischman's [Gurvich and Fleischman, 2003], who performed a compression test on a cylindrical sample. Video recordings of the curvature of the sample (front view) are then combined with a numerical modelling method, in order to model this curvature and thus deduce the volume change. Similarly, Copeland [1948] proposed an original method by applying a pressure variation in a chamber containing a sample and water and measuring the volume variation using valves. Gee et al. [1950] proposed to use hydrostatic weighing to measure the variation in weight (and therefore in volume) of a standard size specimen undergoing a tensile test while immersed in water.

As concerns soft materials such as elastomers, three standard methods have been proposed to estimate the compressibility coefficient: the wave measurement method, the oedometer compression and mechanical testing in a closed environment.

As for the wave measurement method, the compressibility coefficient is deduced by analysing the time taken for a wave to propagate through an environment. Maia et al. [2018] used this method with ultrasonic waves sent into the sample to measure the change in compressibility coefficient during the curing of a resin. With the same wave method, Li et al. [2016] compared

the compressibility of tridecane with that of a reference liquid using a vibrating tube densimeter. Similarly, Edmonds and Nolle [1995] measured the compressibility of a polymer with a wave vibration sent first in a chamber containing a reference fluid only and then sent in a chamber containing the same fluid and the polymer sample.

The method for measuring the compressibility with oedometric compression consists of a compression test run in a closed environment where the sample occupies the entire space, coupled with the measurement of the volume change. Plachy et al. [2017] and Warfield [1968] used this method on rubber and polymer respectively.

The third method to estimate the compressibility coefficient of soft materials is a mechanical stress test performed on a standard size sample in a chamber filled with an incompressible fluid. The volume change during the test can therefore be measured. Zimmermann and Stommel [2013], Penn [1970], Jones and Yiengst [1941] and Shinomura and Takahashi [1970] all performed the same type of tests on various rubbers. They placed a rubber sample with a standard shape (dog bones for Zimmermann and Stommel [2013], loop for the others) in a chamber filled with an incompressible fluid. Then a tensile test was performed while the volume variation was read on a capillary. Shuttleworth [1968] performed the same type of experiment but on a cylindrical rubber sample. Carew et al. [1968] were among the rare authors to perform tests on biological tissues. They used part of an artery placed in a chamber filled with an incompressible fluid. A known volume of fluid was injected into the artery while the volume change was read on a capillary.

Finally, in order to avoid the presence of a device performing a mechanical stress on the sample inside the chamber, two interesting studies (Meng et al. [2009] and White and Mohsenin [1967]) proposed an alternative method. A sample, which volume was measured before the experiment, was placed in a chamber full of a fluid of known compressibility. The volume of the chamber was then reduced and the change in pressure was measured as a function of the change in volume.

Most methods described above require the sample to be cut with a very precise shape before being tested. This can be problematic, first because it is not always easy to manufacture standardised specimens, and second because very small variations of the specimen geometry can have strong consequences on the values estimated for the compressibility coefficients. If we extrapolate to biological soft tissues that are targeted in this paper, the precise manufacture of

standardised specimens is often impossible.

The present study aims at proposing a device capable of measuring the compressibility coefficient of soft materials with the application to biological soft tissues with samples that can have very complex shapes. The device should also provide accurate measurements in the case of compressibility coefficients that range between high values (compressible materials) and that of the water (quasi-incompressible materials). The objective of this paper is to present a proof of concept to measure the compressibility coefficient of soft materials and the resulting Poisson's ratios. For this purpose, a double-checking protocol using two measurement methods was set up. In the first part of the paper, the experimental device is presented while in the second part of the paper, the experimental validation is detailed using two different materials. Then, a discussion is carried out.

1 Materials and Methods

The objective of this section is to develop an experimental set-up measuring compressibility coefficients of materials that can adapt to samples with various geometrical forms.

1.1 Materials

Here an in-depth description of the device, as well as the tested materials, is given.

1.1.1 Device description

A compressibility test can be summarised as the determination of the relationship between pressure variation and volume variation. In most experimental studies, the system imposes a pressure variation on the sample and measures the resulting volume variation, as in the works of Copeland [1948] and Asaei and Moosavi [2013]. In the present study, the choice was made to impose a volume variation and to measure the resulting pressure variation. Such a choice comes from the example of the oedometer tests developed by Taylor [1948] and applied to the brain by Franceschini et al. [2006]. As soft tissues (e.g. adipose tissue) cannot be cut into perfectly cylindrical samples, the device was adapted with the use of a chamber where the sample is inserted while the chamber is filled by a liquid. An actuator is used to reduce the volume of the chamber and to impose volume variations. The control of the actuator can be transferred to a conventional tension/compression machine, here a MTS machine model C42 503.

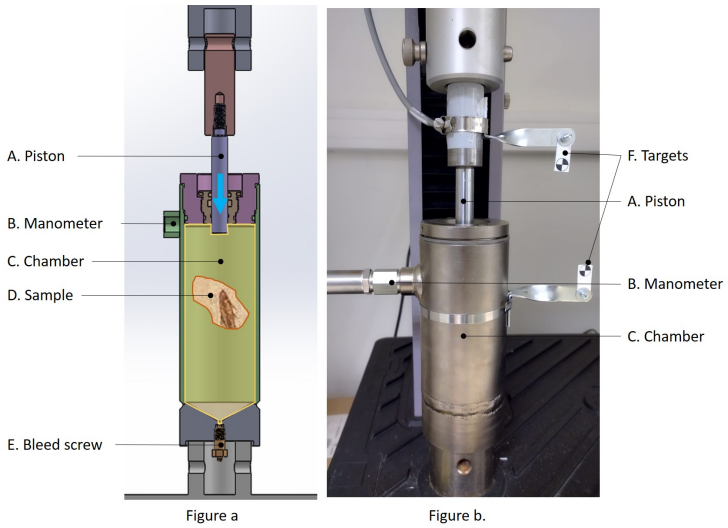

Figure 1: Compressibility measurement device -a- Sketch of the device -b- image of the device

In Figure 1, the device is presented with labels for each part of the system. The sample D is placed in the chamber C that is filled with water (but another liquid can be used such as a saline solution or any kind of oil). It is important that the chamber is only filled with the sample and the liquid chosen for the study, so a bleed screw E was installed to evacuate the air present in the system before starting the measurements.

Once the system is installed in the test rig, the piston A is used to reduce the volume of C. The diameter of A was reduced as much as possible in order to maximise the vertical displacement and minimise the volume variation, thus increasing measurement accuracy. The pressure gauge B allows the pressure in C to be measured directly. The whole system is based on the modification of an industrial hydraulic piston to ensure that no leakage can occur (based on lip seals and an O-ring seal), which would have a strong impact on the measurements.

1.1.2 Tested Materials

Our aim is to test the device on materials with very different volume variation capabilities. Even though the device is adapted to materials with complex shapes, it was decided in a first step to test materials with regular shapes in order to be able to compare the results of the device with other more conventional means of measurement. Two materials were chosen for this test. First, a Polymethyl methacrylate (PMMA XT) material was investigated, with a Poisson's ratio that is announced between 0.35 and 0.45 in the literature. Second, a Styrene-Butadiene Rubber (SBR) elastomer filled with carbon black material was used as a test material (Poisson's ratio

very close to 0.5 depending on the SBR [Starkova and Aniskevich, 2010]). Such an elastomer is indeed considered as a good approximation of some biological soft tissues that are often assumed as quasi-incompressible.

1.2 Methods

1.2.1 Protocol description

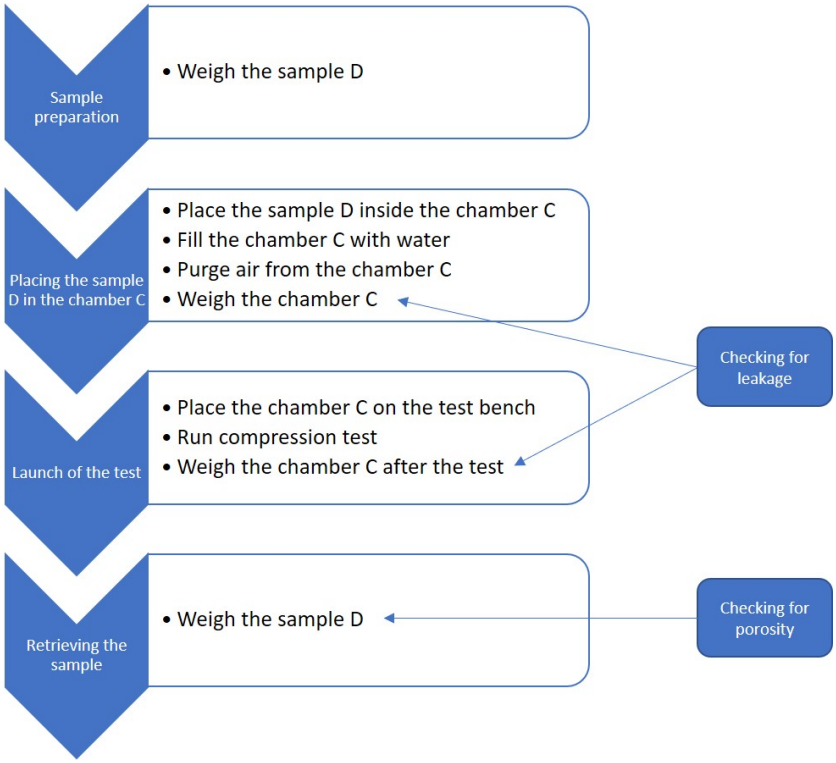

Figure 2: Protocol for compressibility measurement

The developed system requires the use of a strict protocol to set up the test in order to avoid disturbances in the measurements and results. The whole process is described in Figure 2. A sample of any shape can be used, and simply needs to be weighed. The sample is placed in chamber C, which is then filled with the chosen liquid. An important step is the extraction of the maximum amount of air trapped in the chamber through a purge system (the small remaining bubbles will be dissolved in the water as the pressure increases, as corresponds to the setting in Figure 1). The whole system is then weighed and placed in a conventional tension/compression machine to perform the compressibility test. Two final steps are required; the first is to weigh the system. This reference weight will be used to ensure that the system weight is unchanged at the test end and that no leakage has occurred. The second step consists of removing the sample from the device and weighing it to ensure that no liquid absorption has occurred (thus

discarding any porosity of the sample). With these two steps verified, the test is considered valid.

Knowing the weight of C empty and the weight of C filled with water only, the volume of the sample D is deduced by:

$$\begin{aligned} V_C &= \frac{M_{C_full} - M_{C_empty}}{\rho_{water}} \\ V_{water} &= \frac{M_{global} - (M_{C_empty} + M_D)}{\rho_{water}} \\ V_D &= V_C - V_{water} \end{aligned} \tag{1}$$

With V_C being the volume of C [mL], M_{C_full} the mass of full C [g], M_{C_empty} the mass of empty C [g], ρ_{water} the density of water [g.mL^{-1}], V_{water} the volume of water [mL], M_{global} the total mass (C+D+water) [g], M_D the mass of D [g] and V_D the volume of D [mL].

As can be seen in Figure 1b, the displacement of piston A is measured by two targets, noted F, filmed by a camera: one fixed on A and the other fixed on C. Indeed, a measurement external to the MTS (traction machine) was preferred for reasons of accuracy. The pressure variation in the chamber is measured by the manometer B, Parker pressure sensors model PTD.VB 100 1B1C1 0...100 bar.

1.3 Settings and Influence of Parameters

1.3.1 Calibration

The calibration of the various parameters of the system is necessary before performing the compressibility tests. The compressibility coefficient of water is relatively well documented [Peña and McGlashan, 1959, Millero et al., 1969, Kell, 1970]. The water will therefore serve as a reference to calibrate the system. For this study, the reference temperature will be room temperature, i.e. about 20°. Considering this, the compressibility coefficient of water ξ_{water} is 4.591×10^{-4} MPa^{-1} [Millero et al., 1969].

Eight tests were conducted with the chamber containing water only. The tests were carried out at a speed of 1.6×10^{-3} %/s (percentage volume reduction per second). Figure 3 shows the corresponding pressure/volume curves obtained. The curves show a more or less pronounced curved shape for small pressure variations before having a linear shape between the volume variation and the pressure variation. The initial part corresponds to the setting up of the system and therefore its pressurisation, considering the displacement of the seals and absorption

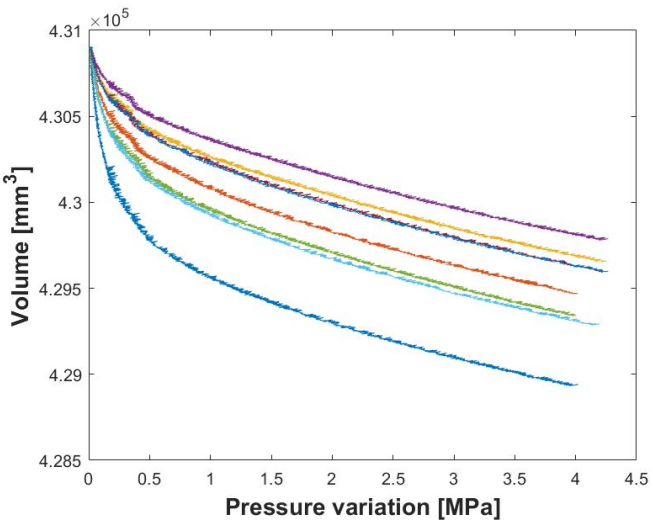

Figure 3: All the eight compressibility tests on water

of the small remaining bubbles of gas. The initial part of the curve is therefore ignored. Only the nearly linear part, after the system has been set up, is considered for the measurement. It can be seen that all the curves are well parallel. The initial part differs from one test to the other one because the setting up of the system is complex and not replicable. The theoretical expression for the compressibility coefficient χ_T is given by:

$$\chi_T = -\frac{1}{V}\left(\frac{\partial V}{\partial P}\right)_T \tag{2}$$

Where χ_T is the compressibility coefficient [MPa^{-1}], V the volume of the sample tested [mm^3] and T the temperature.

To find the experimental compressibility coefficient for each test, a measurement point is placed in the middle of the linear part of the pressure-volume curve (Figure 4). The slope of the corresponding curve is measured assuming a linear shape for the second part (starting between 0.5 and 1 MPa depending on the test) of the curve using a least squares linear regression. This value is then divided by the middle volume between those two boundaries (Figure 4).

In the proposed system, the pressure-volume variations are due to both the volume change of the filler material and the deformation of the chamber walls and seal movements:

$$\Delta V_{imposed} = \Delta V_{content} + \Delta V_{chamber} \tag{3}$$

where $\Delta V_{imposed}$ is the volume variation imposed by the piston [mm^3], $\Delta V_{content}$ the sought

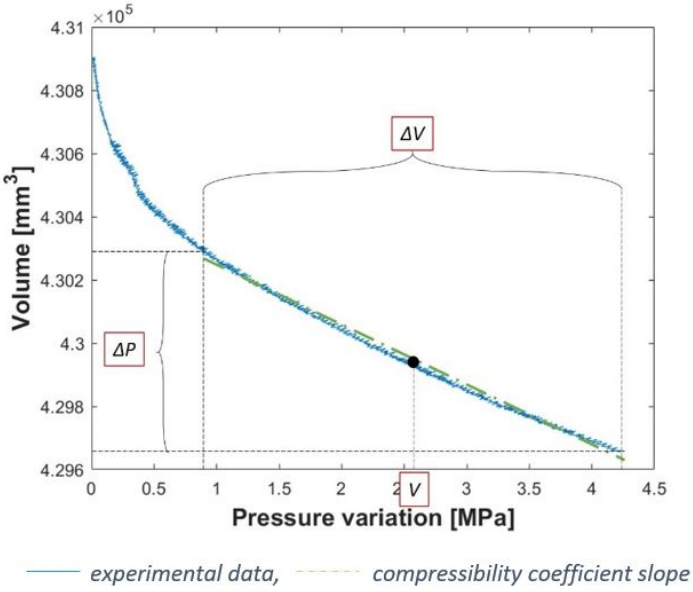

Figure 4: Compressibility coefficient slope measurement method

volume variation of the sample and filling liquid [mm^3] and $\Delta V_{chamber}$ the volume variation of the chamber [mm^3].

No irreversible plastic deformation of the measuring system was observed during the tests, so the chamber and seal deformations were assumed linear with the pressure loading:

$$\Delta V_{chamber} = R.\Delta P \tag{4}$$

Combining the last two equations, the relation simply becomes:

$$\Delta V_{content} = \Delta V_{imposed} - R.\Delta P \tag{5}$$

The chamber equivalent stiffness R is calibrated so as to obtain the correct value of the compressibility coefficient of water. The equivalent stiffness R is chosen to minimise the difference between the reference value and the average of the values obtained from the 8 tests. The raw compressibility value measured was $8.104 \times 10^{-4} \pm 1.56 \times 10^{-5}$ MPa^{-1}. A linear regression was used to obtain the value of $R = 141.97$ mm^3.MPa^{-1} (Figure 4). In the end, the experimental measurement results in a compressibility coefficient for water at the desired value but with an uncertainty of 1.29×10^{-5}MPa^{-1}. This coefficient allows for the absorption of the expansion of the chamber and the displacement of the seal during pressurisation. After verification, this coefficient is fully compatible with the theoretical maximum expansion of the chamber.

1.3.2 Speed influence

The tests are intended to be carried out at low speeds to avoid any temperature rise. However, the influence of speed was evaluated, even in a low speed range. Eight tests were therefore performed with water only at a speed of 1.6×10^{-3} %/s and 5 other tests at a speed of 3.9×10^{-4} %/s. The compressibility coefficients were measured and the values are provided in Table 1.

	Means of the water Compressibility coefficient [MPa^{-1}]	**Standard deviations [MPa^{-1}]**
Speed of 1.6×10^{-3} **%/s**	4.591×10^{-4}	1.29×10^{-5}
Speed of 3.9×10^{-4} **%/s**	4.204×10^{-4}	2.19×10^{-5}

Table 1: Synthesis of tests performed at 1.6×10^{-3} %/s and 3.9×10^{-4} %/s

A difference of 8.4% is observed between the two compression speeds, which means that speed is an important parameter to consider. A temperature measurement was made during the test, by means of a thermometer cell fixed to the outer surface of the chamber, and no major temperature variation was observed (< 1°C of variation). The highest compression speed (1.6×10^{-3} %/s) was chosen for all the results presented below. There will be a slight deviation in the results compared to those that would have been obtained with the lower speed, but the objective of the article is mainly to show the feasibility and the efficiency of the method.

1.3.3 Other influences

Given the development of the device, a number of precautions must be taken to ensure the quality of the measurements and to limit experimental errors.

- Influence of Air Inside C (Figure 1)

The presence of air bubbles in C can have a huge impact on the results due to the high compressibility coefficient of gas. This is why particular attention is given to this matter. The filling of C is done in a very delicate way by means of a long cannula. D is first wet in water and then gently placed in C. Finally, after closing C, the remaining air in C is purged through E. This solution can still be improved, but it allows the presence of air bubbles in C to be kept to a minimum. Furthermore, the presence of a small amount of air bubbles is not a severe handicap for the measurement because the bubbles are dissolved in the water during the first non-linear phase of compression (< 1 MPa). There is, therefore, no impact on the measurement of the linear section of the pressure/volume slope.

- Porosity

To ensure that water does not seep into D, two weighings of D are carried out: a first weighing before the test and a second weighing after it. If the two weights are similar (±2%), it is considered that no water has penetrated D (Figure 2).

2 Experimental validation of the compressibility test

Compressibility tests are carried out on both test materials, i.e. PMMA and SBR. One way of validating the measurements is to identify the Poisson's ratios of the materials from their compressibility coefficients estimated with our device and to compare them with measurements obtained in a more conventional way. In this case, a tensile test coupled with image stereo-correlation is used.

2.1 Compressibility tests

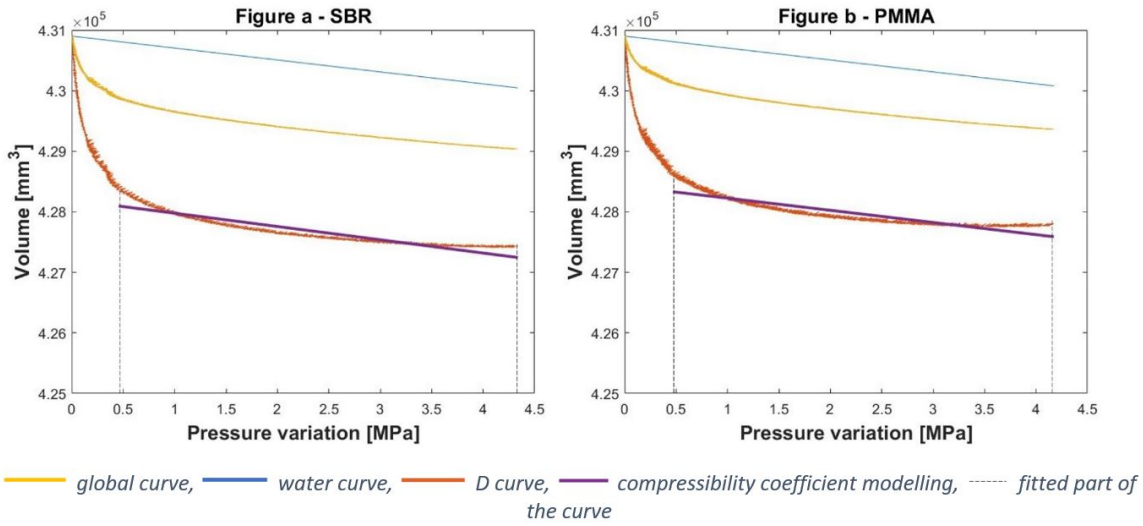

Figure 5: Compressibility test -a- on SBR -b– on PMMA

A sample of the materials (either PMMA or SBR) is introduced into chamber C that is filled with water. The compressibility test is then performed on the material/water mixture. The curves obtained are plotted for both material/water mixtures in Figure 5a for SBR and Figure 5b for PMMA. The results should be processed to obtain the material response only, without the influence of the water. This is done by subtracting the water pressure/volume response from the global curves (corresponding to the difference in weight between a chamber

filled with water and one filled with water and the material sample). For this, it is necessary to know the distribution between water and the inserted material. The volume variations ΔV_{water} and ΔV_D of each part can be identified as follows:

$$\begin{aligned} s &= \frac{\sum_{n=1}^{\infty} p_{\chi exp_n}}{n} \\ \Delta V_{water} &= s.\Delta P + V_0 \\ \Delta V_D &= \frac{\Delta V_{global} - \Delta V_{water}.\%_{water}}{\%_D} \end{aligned} \tag{6}$$

With s as the average of the pressure/volume slopes obtained for the n water tests $p_{\chi exp_n}$ [mm^3.MPa^{-1}], ΔV_{water} the volume variation of water, ΔP the pressure variation in C [MPa], ΔV_0 the initial volume of D, ΔV_D the volume variation of D, ΔV_{global} the global volume variation, $\%_{water}$ the volume percentage of water in C and $\%_D$ the volume percentage of D in C. The experimental curves are processed using the formulae outlined above to remove the contribution of the water. The corresponding results are shown in Figure 5a for PMMA and Figure 5b for SBR. The observations are the same as for water in the calibration phase: the resulting curve for the sample has a very steep initial shape corresponding to the set-up of the compressive device. The second part of the curves have a more linear shape corresponding to the compression of the sample. It is this part that is used to estimate the sample compressibility coefficient (Figure 5).

2.2 Determination of the Poisson's ratio of the materials

2.2.1 From the compressibility measurements

The determination of the Poisson's ratio υ_{comp} from the compressibility coefficient requires the knowledge of the Young's modulus E of the materials assuming a linear behaviour of the material at small strains:

$$\upsilon_{comp} = \frac{3 - E.\chi_T}{6} \tag{7}$$

Uniaxial tensile tests were performed to evaluate the specimen's Young's modulus. Dog-bone specimens of the materials were cut while speckles were painted on the surface of the specimens to measure their strain fields by means of a camera (digital image correlation). An illustration of a PMMA specimen with speckles on it is shown in Figure 6. The forces are measured by a 500 N load cell mounted on the MTS traction machine. The same test was repeated 10 times with a new sample to ensure accuracy.

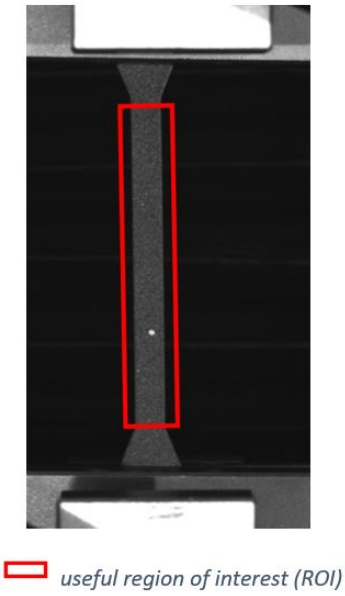

Figure 6: Uniaxial tensile test on PMMA samples with speckles

By means of the force measurement, the nominal stress, i.e. first Piola-Kirchhoff stress, is calculated as follows:

$$\pi = \frac{F}{A_0} \tag{8}$$

Where F is the force applied to the sample and A_0 the initial cross-section area of the sample. The stretch λ is then defined by:

$$\lambda = \frac{l}{L_0} \tag{9}$$

Where l is the current useful Region Of Interest (ROI) length of the sample and L_0 is the initial useful ROI length of the sample. The nominal strain is defined as:

$$\varepsilon = \lambda - 1 \tag{10}$$

Since PMMA is stretched to small strains, the Young's modulus can be obtained as the slope of the stress-strain curve, regardless of the choice of definition: in this case between the nominal stress and strain. The Young's modulus E is identified as the slope of the corresponding lines (Figure 7b).

For the SBR samples, the curves have a non-linear shape characteristic of hyperelastic behaviour, it is therefore more complicated to identify the slope at the origin. It was decided to

use a hyperelastic model to obtain the value of the Young's modulus. The appropriate model for doing this is the neo-Hokean model [Treloar, 1943] for which strain energy density function W_{Neo} is:

$$W_{Neo} = C_1(I_1 - 3) \tag{11}$$

Where C_1 is a material parameter and I_1 represents the first invariant of the right Cauchy Green strain tensor. The coefficient C_1 of the Neo-Hookean model is then directly related to the Young's modulus of the material by: $C_1 = 6.E$ (assuming SBR as a quasi-incompressible material). As the objective was to obtain the value of the Young's modulus, the identification of the parameter was carried out at small deformations ($1 < \lambda < 1.05$), the result of which is presented in Figure 7a.

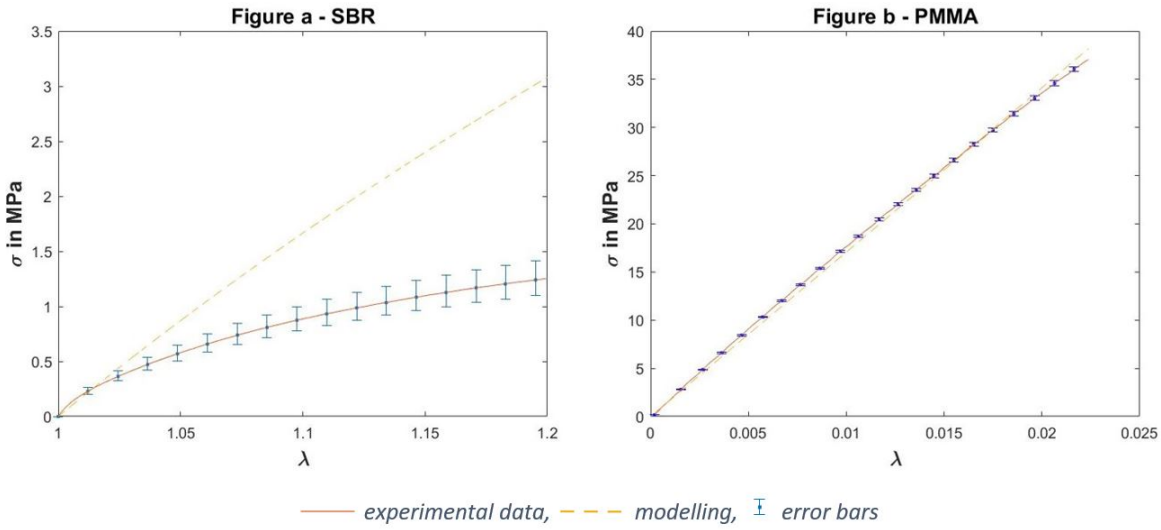

Figure 7: Uniaxial tensile test -a- on SBR samples -b- on PMMA

2.2.2 From stereo-correlation analysis

The tensile tests used to determine the SBR and PMMA Young's modulus were also used to directly determine optically the Poisson's ratios of both materials. The speckle deposited on the surface of the specimens allows the measurement of all components of the strain tensor through digital image correlation. Vic Gauge 2D and VIC Snap image correlation software from 'Kilonewton' company were used for these measurements and the corresponding analysis. A rectangle of dimensions (L_0, l_0) is identified in the initial configuration; its dimensions (L, l)

after deformation are identified by means of the Vic2D software; the Poisson's ratio υ_{stereo} is thus simply obtained by:

$$\upsilon_{stereo} = \frac{1 - \frac{l}{l_0}}{\frac{L}{L_0} - 1} \tag{12}$$

3 Results

		PMMA	**SBR**
Compressibility method	Volume percentage of sample in the chamber	31.3%	38.6%
	χ_T [MPa^{-1}]	$4.32 \times 10^{-4} \pm 0.30 \times 10^{-4}$	$4.45 \times 10^{-4} \pm 0.30 \times 10^{-4}$
	$\kappa = \frac{1}{\chi_T}$ [MPa]	$2.31 \times 10^{3} \pm 0.16 \times 10^{3}$	$2.25 \times 10^{3} \pm 0.15 \times 10^{3}$
	Young's Modulus E [MPa]	1719 ± 26	13.71 ± 0.34
	Poisson's ratio υ_{comp}	0.376 ± 0.010	0.499 ± 0.0001
Stereo-correlation method	Poisson's ratio υ_{stereo}	0.363 ± 0.016	0.480 ± 0.011

Table 2: All the results obtained on the two test materials

The results obtained from the two methods for the SBR and PMMA test materials are presented for comparison in Table 2. The order of magnitude of the uncertainty for the measurement of the compressibility coefficient is 3 to 4%. To our knowledge, there is no value in the literature to compare and discuss these compressibility coefficients estimated with our device. These values are then used to determine the Poisson's ratios in combination with the Young's modulus measured in the tensile tests (Equation (7)), whose values are also presented in the table. The obtained Poisson's ratios are 0.376 and 0.499 for PMMA and SBR respectively. The ratios obtained by the tensile test with the image stereo-correlation method (Equation (12)) are also presented in the table: 0.363 for the PMMA and 0.480 for the SBR. The values measured by both methods are very close even though the uncertainty intervals are not intersecting. Nevertheless, the results of the compressibility measurement are fully consistent and are considered satisfactory.

4 Discussion

This paper introduced an original experimental device to measure the compressibility coefficient of soft materials. The device was evaluated using water and was tested with two materials

(SBR and PMMA) whose compressibility were estimated using another conventional tensile test coupled with digital image correlation. If original and promising, it should be underlined that the device has some limitations. On one hand, the measurement depends on the ratio between the amount of sample and the amount of water in the chamber. One of the difficulties, which will need to be dealt with when moving onto human soft tissue, is to get a sample of material with a significant size inside the chamber. Indeed, in order to get as much signal as possible between the reference test (containing only water) and the test with samples and water, it is necessary to have as much sample as possible in the chamber without the sample blocking the descent of the piston A. On the other hand, the main advantage of the device is that no specific geometrical shape is required for the sample. This means that the device should be easily adapted to any material geometry, which will be a great advantage when working with specimen extracted from human soft tissues. Moreover, as previously mentioned, it will also be detrimental to the test to have the presence of air bubbles inside the sample itself; special care will have to be taken in that case to remove residual air bubbles from the system.

However, the high level of reproducibility of the test, as well as the results obtained for the SBR and PMMA materials, allows a certain amount of confidence to be placed in the use of this system for measuring a material's compressibility coefficient. The device provides a fast and reproducible measurement using a conventional traction/compression machine with samples that do not need to have a specific shape.

CRediT author statement

N. Briot: Conceptualization, Methodology, Software, Validation, Investigation, Writing - Original Draft. **G. Chagnon**: Conceptualization, Writing - Review & Editing, Supervision. **N. Connesson**: Conceptualization. **T. Alonso**: Conceptualization. **P.-A. Barraud**: Resources. **Y. Payan**: Conceptualization, Writing - Review & Editing, Supervision.

References

H. Asaei and M. Moosavi. Experimental measurement of compressibility coefficients of synthetic sandstone in hydrostatic conditions. *Journal of Geophysics and Engineering*, 10(5):055002, 2013. URL `https://doi.org/10.1088/1742-2132/10/5/055002`.

T. E. Carew, R. N. Vaishnav, and D. J. Patel. Compressibility of the arterial wall. *Circulation research*, 23(1):61–68, 1968. URL https://doi.org/10.1161/01.RES.23.1.61.

L. Copeland. The thermodynamics of a strained elastomer. ii. compressibility. *Journal of Applied Physics*, 19(5):445–449, 1948. URL https://doi.org/10.1063/1.1698153.

J. De Crevoisier, G. Besnard, Y. Merckel, H. Zhang, F. Vion-Loisel, J. Caillard, D. Berghezan, C. Creton, J. Diani, M. Brieu, et al. Volume changes in a filled elastomer studied via digital image correlation. *Polymer Testing*, 31(5):663–670, 2012. URL https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.04.003.

D. E. Edmonds and A. Nolle. Acoustical principles of a dynamic compressibility apparatus with internal reference. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 98(2):1034–1041, 1995. URL https://doi.org/10.1121/1.413668.

G. Franceschini, D. Bigoni, P. Regitnig, and G. A. Holzapfel. Brain tissue deforms similarly to filled elastomers and follows consolidation theory. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 54(12):2592–2620, 2006. URL https://doi.org/10.1016/j.jmps.2006.05.004.

G. Gee, J. Stern, and L. Treloar. Volume changes in the stretching of vulcanized natural rubber. *Transactions of the Faraday Society*, 46:1101–1106, 1950. URL https://doi.org/10.5254/1.3543106.

M. R. Gurvich and T. S. Fleischman. A simple approach to characterize finite compressibility of elastomers. *Rubber chemistry and technology*, 76(4):912–922, 2003. URL https://doi.org/10.5254/1.3547781.

H. Jones and H. Yiengst. Dilatometer studies of pigment-rubber systems. *Rubber Chemistry and Technology*, 14(1):113–124, 1941. URL https://doi.org/10.5254/1.3540000.

G. S. Kell. Isothermal compressibility of liquid water at 1 atm. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 15(1):119–122, 1970. URL https://doi.org/10.1021/je60044a003.

Z.-H. Li, J.-T. Wang, C.-Y. Chen, and P.-M. Zhang. Measurement method of compressibility coefficient for tridecane with a vibrating tube densimeter. 2016.

N. A. Maia, F. R. Pereira, and N. Cella. Pulse-echo ultrasonic measurements of compressibility coefficient of thick epoxy resin during the curing process. *Materials Today Communications*, 17:194–199, 2018. URL https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2018.09.007.

Y. Meng, P. Bernazzani, P. A. O'Connell, G. B. McKenna, and S. L. Simon. A new pressurizable dilatometer for measuring the time-dependent bulk modulus and pressure-volume-temperature properties of polymeric materials. *Review of Scientific Instruments*, 80(5):053903, 2009. URL https://doi.org/10.1063/1.3122964.

F. J. Millero, R. W. Curry, and W. Drost-Hansen. Isothermal compressibility of water at various temperatures. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 14(4):422–425, 1969. URL https://doi.org/10.1021/je60043a018.

M. D. Peña and M. McGlashan. An apparatus for the measurement of the isothermal compressibility of liquids. the compressibility of mercury, of carbon tetrachloride, and of water. *Transactions of the Faraday Society*, 55:2018–2024, 1959. URL https://doi.org/10.1039/TF9595502018.

R. W. Penn. Volume changes accompanying the extension of rubber. *Transactions of the Society of Rheology*, 14(4):509–517, 1970. URL https://doi.org/10.1122/1.549176.

R. Plachy, S. Scheiner, K. Luczynski, A. Holzner, and C. Hellmich. Compressibility of unvulcanized natural and epdm rubber: New experimental protocol and data evaluation in the framework of large strain elasticity theory. *Polymer*, 123:334–344, 2017. URL https://doi.org/10.1016/j.polymer.2017.06.061.

T. Shinomura and M. Takahashi. Volume change measurements of filled rubber vulcanizates under stretching. *Rubber Chemistry and Technology*, 43(5):1025–1035, 1970. URL https://doi.org/10.5254/1.3547305.

R. Shuttleworth. Volume change measurements in the study of rubber-filler interactions. *European Polymer Journal*, 4(1):31–38, 1968. URL https://doi.org/10.1016/0014-3057(68)90005-0.

O. Starkova and A. Aniskevich. Poisson's ratio and the incompressibility relation for various strain measures with the example of a silica-filled sbr rubber in uniaxial tension tests. *Polymer Testing*, 29(3):310–318, 2010. URL https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2009.12.005.

D. W. Taylor. *Fundamentals of soil mechanics*, volume 66. LWW, 1948.

L. Treloar. The elasticity of a network of long-chain molecules—ii. *Transactions of the Faraday Society*, 39:241–246, 1943. URL https://doi.org/10.1039/TF9433900241.

R. Warfield. The compressibility of crosslinked polymers. *Die Makromolekulare Chemie: Macromolecular Chemistry and Physics*, 116(1):78–95, 1968. URL https://doi.org/10.1002/macp.1968.021160108.

R. K. White and N. N. Mohsenin. Apparatus for determination of bulk modulus and compressibility of materials. *Transactions of the ASAE*, 10(5):670–0671, 1967. doi: 10.13031/2013.39757.

J. Zimmermann and M. Stommel. The mechanical behaviour of rubber under hydrostatic compression and the effect on the results of finite element analyses. *Archive of Applied Mechanics*, 83(2):293–302, 2013. URL https://doi.org/10.1007/s00419-012-0655-z.

2.2.1.4 Conclusion

Le dispositif de compression développé pour estimer le coefficient de Poisson d'un matériau de forme quelconque a été testé sur des échantillons de PMMA et de SBR. Les coefficients de Poisson obtenus sont de 0.376 et 0.499 pour le PMMA et le SBR respectivement. Les coefficients de Poisson obtenus par une seconde méthode de mesure (traction uniaxiale couplée à une méthode de stéréocorrélation d'images) sont de 0.363 pour le PMMA et 0.480 pour le SBR. Ces résultats nous permettent donc d'être confiants sur les résultats et sur l'utilisation possible de ce dispositif sur d'autres types d'échantillons, et notamment sur des tissus mous biologiques.

2.2.2 Mesure expérimentale du coefficient de compressibilité des tissus du sein

2.2.2.1 Introduction à l'article

Au vu des résultats très encourageants obtenus dans l'article précédent, ce dispositif de compressibilité a pu être mis en application sur les tissus biologiques, en particulier sur les tissus mous du sein. Les trois constituants majeurs du sein, à savoir la peau, la glande et la graisse, ont ainsi été testés. Actuellement, seule l'élastographie est capable de proposer des résultats de coefficients de Poisson [Van Houten et al., 2003] sans toutefois être très fiable. En effet, l'élastographie ne concerne que les petites déformations. De plus, l'utilisation nécessaire d'IRM ou de sondes échographiques rend les mesures difficiles à mettre en place.

L'article suivant propose des mesures expérimentales de compressibilité des tissus du sein qui, une fois couplées au module de Young, permettront d'estimer les coefficients de Poisson de chacun des tissus du sein. Cet article sera soumis pour publication dès que l'article précédent [Briot et al., 2022b] sera accepté pour publication.

2.2.2.2 Résumé en français

À l'heure actuelle, il est commun de considérer les tissus mous humains, et donc en particulier les tissus mous du sein, comme incompressibles. Toutefois, il n'existe pas de méthode expérimentale permettant de confirmer ou d'infirmer ce genre de résultat. C'est pourquoi cette étude se propose de mesurer expérimentalement la compressibilité des tissus du sein.

La méthode utilisée dans cette étude est celle mise en place par [Briot et al., 2022b] qui sera, dans le cas présent utilisée sur les différents tissus mous du sein. Elle consiste à mettre dans une chambre de volume connue, un échantillon de volume connu puis de remplir le reste de la chambre avec un fluide de coefficient de compressibilité connu. Ainsi, en faisant varier le volume de la chambre, on peut en déduire la variation de pression. Par calcul, le coefficient de compressibilité de l'échantillon est ensuite obtenu.

Les coefficients de Poisson obtenus (tous supérieurs à 0.49999) grâce aux mesures expérimentales faites sur des échantillons de peau, de glande et de graisse, sont en accord avec la théorie de quasi-incompressibilité usuellement faite dans la littérature, et renforcent l'idée que beaucoup de simulations numériques relâchent trop fortement cette hypothèse. Toutefois, l'utilisation de tissu post mortem ainsi que la grande variation de modules de Young peuvent avoir une forte influence sur les résultats obtenus.

2.2.2.3 Article

Mesure expérimentale du coefficient de compressibilité des tissus du sein

N. Briot*[1], G. Chagnon[1], E. Girard[2,3], and Y. Payan[1]

[1]Univ. Grenoble Alpes, CNRS, UMR 5525, VetAgro Sup, Grenoble INP, TIMC, 38000 Grenoble, France
[2]Univ. Grenoble Alpes, CNRS, UMR 5525, VetAgro Sup, Grenoble INP, CHU Grenoble Alpes, TIMC, 38000 Grenoble, France
[3]Laboratoire d'Anatomie des Alpes Française, Faculté de Médecine, Domaine de la Merci, F-38700 La Tronche Cedex

Introduction

La modélisation par éléments finis (EF) est un domaine de recherche très actif à l'heure actuelle. En ce qui concerne les modèles par EF du sein, il existe plusieurs axes d'études. Le premier axe consiste à suivre la localisation de tumeur cancéreuse durant une chirurgie, comme avec les études menées par Del Palomar et al. [2008] et Samani et al. [2007]. Les modèles EF peuvent aussi être intégrés dans des simulateurs et servir à entraîner le clinicien sur des gestes chirurgicaux, comme avec l'étude réalisée par Azar et al. [2001]. Un troisième axe d'étude permet de prédire les comportements du sein suite à une opération de chirurgie esthétique [Lapuebla-Ferri et al., 2011]. Le dernier axe d'étude consiste à faciliter les interventions médicales assistées par ordinateur [Ruiter et al., 2006, Carter, 2009, Han et al., 2011]. Dans l'ensemble de ces modèles, un des paramètres à prendre en compte pour la modélisation des tissus mous est le coefficient de Poisson. Ce coefficient permet de caractériser la capacité d'un matériau à conserver son volume sous la contrainte mécanique. Des études EF, comme celles de Ruggiero et al. [2014] et Mira [2018], permettent de mesurer l'importance de ce coefficient de Poisson et sa sensibilité sur les états de contraintes, les déformations locales ou les déplacements globaux des structures anatomiques.

Le coefficient de Poisson ne fait pas partie des paramètres mécaniques mesurables directement, mais il peut être obtenu par connaissance du coefficient de compressibilité et du module de Young. À l'heure actuelle, il existe peu d'études permettant d'obtenir le coefficient de compressibilité, et donc le coefficient de Poisson, sur des matériaux mous humains. On peut recenser une étude faite par Carew et al. [1968] qui a estimé le coefficient de compressibilité d'une artère en observant la variation de volume de cette dernière lors d'une augmentation du volume de fluide dans l'artère. Cette variation de volume est mesurée en plaçant l'artère à l'intérieur d'une chambre remplie de fluide, son volume intérieur est augmenté par un fluide et la variation de volume final est mesurée grâce à un capillaire placé dans la chambre. Cette technique n'est toutefois pas applicable aux tissus du sein du fait de leur structure anatomique (non cylindrique). Une autre technique existe, permettant de mesurer la compressibilité des tissus, et qui a elle été utilisée sur les tissus du sein : l'élastographie. Cette technique utilise la vitesse de propagation des ondes dans les tissus pour mesurer leur compressibilité. Van Houten et al. [2003] utilisent cette technique, et plus spécifiquement l'élastographie par résonance magnétique, pour estimer le coefficient de Poisson des tissus du sein. Ils obtiennent des valeurs entre 0.32 et 0.45. Cette technique a l'avantage d'être utilisable sur des tissus in vivo, mais les résultats sont toutefois complexes à obtenir du fait de la difficulté à acquérir des images par IRM sur des volontaires sains.

Dans les études de la littérature EF sur le sein, les valeurs du coefficient de Poisson fluctuent beaucoup, entre 0.3 [Hopp et al., 2013] et 0.5 [Gamage et al., 2012]. Toutefois, ces valeurs ne reposent pas sur des données expérimentales.

Cette étude a donc pour but d'enrichir les données bibliographiques en ce qui concerne le coefficient de compressibilité des tissus du sein. Le dispositif présenté dans Briot et al. [2022] sera utilisé pour la mesure de la compressibilité et les valeurs de modules de Young seront issues de la bibliographie [Payan and Ohayon, 2017]. Les principaux tissus constituants du sein, la graisse, la peau et la glande, seront testés.

Le protocole expérimental sera dans un premier temps détaillé, autant dans la description du prélèvement des tissus que dans la réalisation du test de compressibilité. Puis les résultats sur les coefficients de compressibilité et sur les coefficients de Poisson estimés seront détaillés. Enfin, les limites et poursuites de cette étude seront discutées pour conclure cette présentation.

1 Matériaux et Méthodes

Dans cette partie, l'ensemble du protocole d'étude va être détaillé. Pour commencer, les caractéristiques physiques des corps étudiés vont être présentées. Puis, le protocole de prélèvement mis en place sera détaillé. Enfin, cette partie se conclura sur l'explication du protocole de test de compressibilité mis en place pour la mesure du coefficient de compressibilité.

1.1 Sujets étudiés

L'ensemble de cette étude porte sur le prélèvement sur des poitrines de 8 cadavres de sexe féminin ayant fait don de leur corps à la science. De ce fait, les antécédents médicaux de ces personnes ne sont pas disponibles. De plus, les personnes faisant don de leur corps à la science étant rares, il n'a pas été possible d'obtenir plus de corps dans le temps dédié à l'étude.

Les corps inclus dans cette étude ont un âge variant entre 72 et 97 ans, un Indice de Masse Corporelle (IMC) variant entre 15.8 et 44.1 $kg.m^{-2}$. Deux des cadavres ont été conservés à -20°C sans autre traitement sur le corps. Les six autres cadavres ont été formolés et conservés à +6°C. Le Tableau 1 résume l'ensemble des données pour chacun des huit corps. Il est à noter que le corps 17-2022 avait des prothèses mammaires sur les deux seins et la glande mammaire était de très faible volume.

N° cadavre	**Date de décès**	**Traitement corps**	**Date de prélèvement**	**Âge**	**IMC**	**Mode de conservation**
04-2022	26-01-2022	25-01-2022	11-03-2022	97	15.8	Formolé
10-2022	14-02-2022	14-02-2022	11-03-2022	93	17.8	Formolé
15-2022	28-02-2022	28-02-2022	11-03-2022	93	21.4	Congelé
17-2022	11-03-2022	11-03-2022	12-04-2022	93	22.0	Formolé
18-2022	11-03-2022	11-03-2022	12-04-2022	88	25.5	Formolé
20-2022	07-04-2022	07-04-2022	12-04-2022	90	23.8	Congelé
25-2022	19-04-2022	19-04-2022	13-07-2022	75	24.5	Formolé
36-2022	05-07-2022	06-07-2022	20-07-2022	72	44.1	Formolé

Table 1: Récapitulatif des données physiologiques de chaque cadavre prélevé

1.2 Protocole de prélèvement

Afin de pouvoir prélever les échantillons des différents tissus du sein, un protocole a été mis en place. Dans un premier temps, les contours du sein sont déterminés grâce à la palpation et aux repères anatomiques : le sillon inframammaire, le sternum, la clavicule et le creux axillaire illustrés sur la Figure 1.

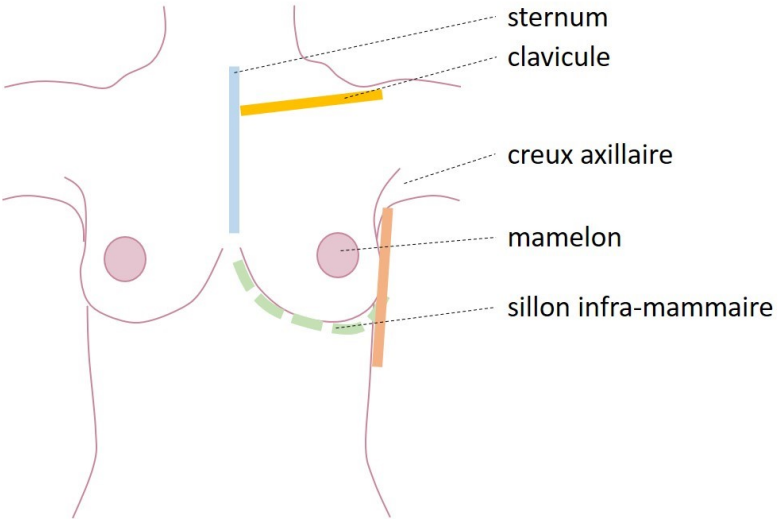

Figure 1: Schéma des repères anatomiques du sein

Une fois ces repères pris, la peau est retirée en une seule pièce à l'exception du mamelon dont la structure de derme est différente. Sa position sert également de repère pour le prélèvement de la glande. Une fois la peau prélevée, l'ensemble du sein, c.à.d la graisse et la glande, est retiré en prenant pour repère la jonction avec le muscle grand pectoral (Figure 2).

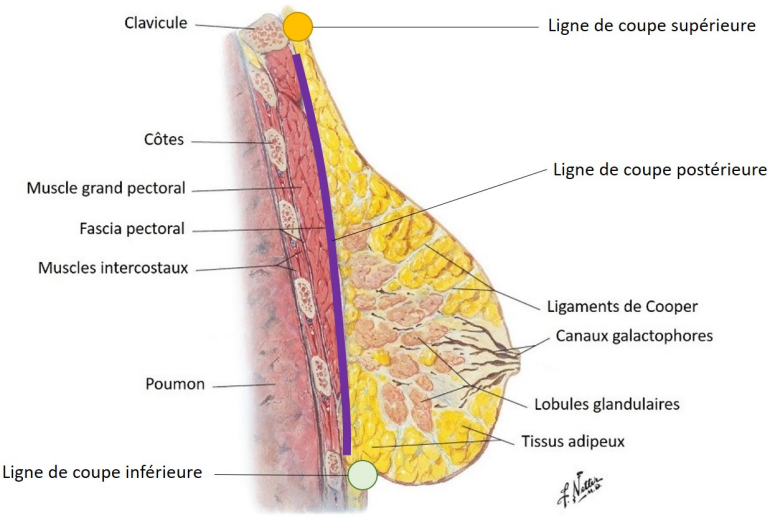

Figure 2: Schéma anatomique du sein en coupe sagittale (d'après Netter [2014])

Enfin, la glande et la graisse sont séparées en prenant comme repère le mamelon (sur lequel les canaux galactophores et donc la glande sont attachés) tout en se servant de la variation de consistance et de couleur pour différencier les deux types de tissus. Afin de bien nettoyer la

glande et retirer le maximum de graisse possible, une curette est utilisée. L'ensemble des trois types de tissus est présenté dans la Figure 3.

Figure 3: Détail des trois différents types d'échantillons prélevés sur les cadavres

Les prélèvements sont ensuite découpés en échantillons de manière à pouvoir rentrer dans la chambre de mesure. Ainsi un nombre différent d'échantillons peut apparaitre d'un corps à l'autre selon la taille du volume initialement prélevé. L'ensemble des échantillons sont stockés dans des barquettes en plastique à température ambiante (20°C) et sont traités dans le dispositif de compression dans un délai maximum de 3h après le prélèvement.

1.3 Protocole de compressibilité

Une fois les échantillons prélevés, il est important de les tester au plus vite. Le dispositif expérimental et le protocole de test établi sur les matériaux de type industriels mis au point dans Briot et al. [2022] sont utilisés également pour les tissus biologiques. Un résumé synthétique du principe du test de compressibilité est tout de même rappelé ci-après.

L'ensemble des tests sont réalisés à température ambiante (20°C). Un échantillon de poids mesuré est placé dans une chambre de volume connu. Cette chambre est ensuite remplie d'un fluide (ici de l'eau) de coefficient de compressibilité connu jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'air dans la chambre (contrôlé par une vis de purge). Le ratio volumique échantillon/fluide est ensuite déduit en pesant la chambre. L'essai est réalisé grâce à un piston permettant de réduire le volume de la chambre à une vitesse de $1.6\times10^{-3}\%.\mathrm{s}^{-1}$. En mesurant le déplacement du piston (par un suivi de cibles optiques) en fonction de la pression dans la chambre (mesurée par manomètre), une courbe Pression/Volume est obtenue. Cette dernière permet de déduire le coefficient de compressibilité de l'ensemble « échantillon+fluide ». Une représentation de l'ensemble du dispositif de test est rappelée sur la Figure 4.

L'essai est finalement exploité : la variation de volume de l'échantillon est calculée en fonction du ratio volumique échantillon/fluide ainsi que du coefficient de compressibilité connu du fluide (ici $\chi_{water} = 4.591 \times 10^{-4}$ MPa^{-1} à 20°C [Millero et al., 1969]) qui permet de déduit la variation de pression due au fluide.

$$\Delta V_D = \frac{\Delta V_{global} - \Delta V_{water}.\%_{water}}{\%_D} \tag{1}$$

avec ΔV_D la variation de volume de l'échantillon [mm^3], ΔV_{global} la variation de volume globale [mm^3], ΔV_{water} la variation de volume du fluide [mm^3], $\%_{water}$ le pourcentage volumique

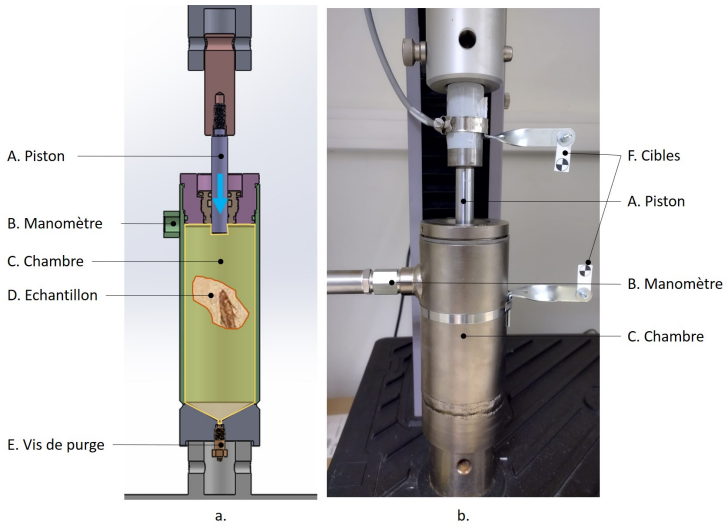

Figure 4: Dispositif de mesure de compressibilité -a- Schéma du dispositif -b- photo du dispositif (après Briot et al. [2022])

de fluide présent dans la chambre et $\%_D$ le pourcentage volumique d'échantillon présent dans la chambre.

Enfin, pour trouver le coefficient de compressibilité expérimental de l'échantillon, la courbe pression/variation de volume est tracée. Puis, une droite de régression linéaire au sens des moindres carrés est optimisée sur la partie linaire de la courbe (débutant entre 0.5 et 1 MPa et se terminant à la fin du test entre 4 et 4.5 MPa selon l'essai). Un point de mesure est placé au milieu de la partie linéaire de la courbe (Figure 5). La pente de la droite de régression linéaire est obtenue, cette valeur (Figure 5) permet la détermination du coefficient de compressibilité de l'échantillon :

$$\chi_T = -\frac{1}{V}.\frac{\Delta V}{\Delta P} \tag{2}$$

avec χ_T le coefficient de compressibilité de l'échantillon [MPa^{-1}], ΔV la variation de volume sur la partie linéaire [mm^3], ΔP la variation de pression sur la partie linéaire [MPa] et V le volume moyen [mm^3].

La Figure 6 montre le résultat des courbes typiques (pression/volume) des trois types d'échantillons testés sur un sujet en particulier. Les résultats pour les autres sujets sont similaires.

Le coefficient de Poisson [Salençon, 2005] est ensuite calculé grâce à la formule suivante :

$$\nu = \frac{3 - E.\chi_T}{6} \tag{3}$$

Avec ν le coefficient de Poisson, E le module de Young [Pa] et χ_T le coefficient de compressibilité en [Pa^{-1}].

2 Résultats

Les coefficients de compressibilité sont ainsi calculés grâce à la méthode résumée dans la partie précédente et développée dans [Briot et al., 2022]. Il en est de même pour le coefficient de Poisson. Pour le calcul du coefficient de Poisson, les valeurs de modules de Young suivants ont

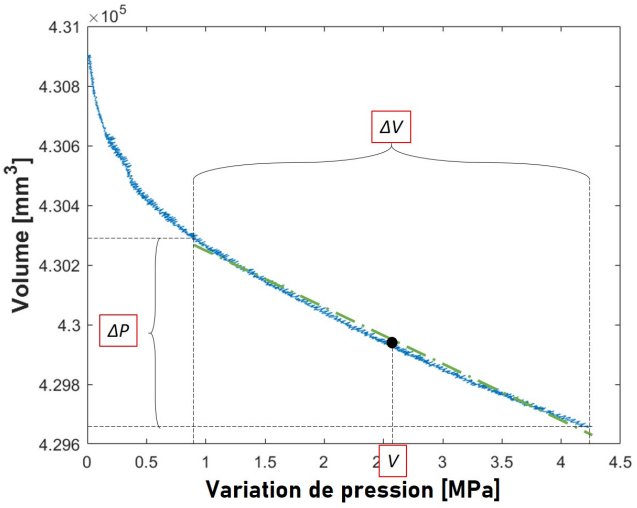

Figure 5: Exemple de courbe typique obtenue (d'après Briot et al. [2022])

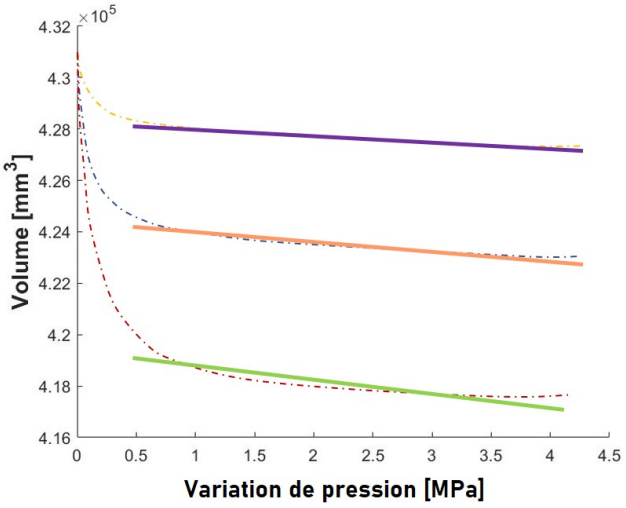

Figure 6: Exemple de courbe typique obtenue (d'après Briot et al. [2022])

été supposées dans le calcul du coefficient de Poisson [Annaidh et al., 2012, Payan and Ohayon, 2017] :

- Graisse : de 2.0×10^{-4} à 5.0×10^{-4} MPa
- Glande : de 3.0×10^{-4} à 2.7×10^{-1} MPa
- Peau : de 4.0×10^{-2} à 1.0×10^{2} MPa

Les Tableau 2, 3 et 4 regroupent l'ensemble des résultats pour chacun des trois types d'échantillons testés. Le nombre de tests peut être différent d'un type d'échantillon à l'autre pour un même corps. Cela dépend de la quantité d'échantillons prélevés et du volume initial du sein.

L'ensemble de ces résultats peut être résumé en termes de moyennes, médianes et écart-types dans le Tableau 5. Avec la Figure 20, ces résultats nous montrent que la glande semble être le

N° cadavre	**Côté prélevé**	**% échantillon**	χ_T **[MPa^{-1}]**	ν	
				$E = 5.0 \times 10^{-4}$	$E = 2.0 \times 10^{-4}$
15-2022	G	44.6	5.72×10^{-4}	0.49999995	0.49999809
15-2022	D	48.1	6.39×10^{-4}	0.49999995	0.49999787
04-2022	GD	24.0	1.18×10^{-3}	0.4999999	0.49999605
10-2022	GD	33.7	8.36×10^{-4}	0.49999993	0.49999721
20-2022	G	28.5	8.92×10^{-4}	0.49999993	0.49999703
20-2022	G	26.4	1.04×10^{-3}	0.49999991	0.49999655
20-2022	D	35.9	7.61×10^{-4}	0.49999994	0.49999746
20-2022	D	23.5	6.80×10^{-4}	0.49999994	0.49999773
17-2022	G	28.0	1.03×10^{-3}	0.49999991	0.49999657
17-2022	D	24.0	9.08×10^{-4}	0.49999992	0.49999697
18-2022	G	54.8	5.11×10^{-4}	0.49999996	0.4999983
18-2022	G	65.1	5.61×10^{-4}	0.49999995	0.49999813
18-2022	D	64.8	5.58×10^{-4}	0.49999995	0.49999814
18-2022	D	59.5	6.56×10^{-4}	0.49999995	0.49999781
25-2022	D	47.7	9.05×10^{-4}	0.49999992	0.49999698
25-2022	D	46.4	7.72×10^{-4}	0.49999994	0.49999743
25-2022	G	56.4	6.27×10^{-4}	0.49999995	0.49999791
36-2022	G	38.0	8.05×10^{-4}	0.49999993	0.49999732
36-2022	G	34.9	1.19×10^{-3}	0.4999999	0.49999603
36-2022	D	23.0	6.39×10^{-4}	0.49999995	0.49999787
36-2022	D	32.2	7.21×10^{-4}	0.49999994	0.4999976

Table 2: Synthèses des tests effectués sur la graisse

N° cadavre	**Côté prélevé**	**% échantillon**	χ_T **[MPa^{-1}]**	ν	
				$E = 3.0 \times 10^{-4}$	$E = 2.7 \times 10^{-1}$
15-2022	G	25.6	5.24×10^{-4}	0.49999974	0.49997641
15-2022	D	34.4	4.85×10^{-4}	0.49999976	0.49997819
04-2022	GD	16.9	1.37×10^{-3}	0.49999932	0.49993837
10-2022	GD	20.9	1.12×10^{-3}	0.49999944	0.49994941
20-2022	GD	16.0	6.10×10^{-4}	0.4999997	0.49997255
17-2022	GD	25.2	1.62×10^{-3}	0.49999919	0.49992696
18-2022	D	32.8	5.01×10^{-4}	0.49999975	0.49997746
18-2022	G	29.2	5.10×10^{-4}	0.49999974	0.49997703
25-2022	D	65.4	6.46×10^{-4}	0.49999968	0.49997095
25-2022	G	63.5	5.92×10^{-4}	0.4999997	0.49997336
36-2022	G	44.0	6.24×10^{-4}	0.49999969	0.4999719
36-2022	G	43.2	5.67×10^{-4}	0.49999972	0.49997447
36-2022	D	42.8	5.18×10^{-4}	0.49999974	0.49997667
36-2022	D	49.0	6.42×10^{-4}	0.49999968	0.49997113

Table 3: Synthèses des tests effectués sur la glande

matériau le plus incompressible (médiane à 6.01×10^{-4} MPa^{-1}), suivi par la graisse (médiane à 7.61×10^{-4} MPa^{-1}) et la peau (médiane à 8.27×10^{-4} MPa^{-1}). On note aussi que dans l'ensemble des cas, le coefficient des trois types de tissus mous constituant le sein est supérieur au coefficient de référence pris pour l'eau à la même température (4.591×10^{-4} MPa^{-1}).

N° cadavre	Côté prélevé	% échantillon	χ_T [MPa^{-1}]	ν	
				$E = 4.0 \times 10^{-2}$	$E = 6.0 \times 10^{-2}$
15-2022	GD	43.5	1.17×10^{-3}	0.49999221	0.48052418
04-2022	GD	15.2	6.13×10^{-4}	0.49999592	0.489789892
10-2022	GD	9.8	9.52×10^{-4}	0.49999366	0.484140898
20-2022	GD	18.8	7.41×10^{-4}	0.49999506	0.487658138
17-2022	GD	20.4	6.88×10^{-4}	0.49999541	0.4885251
18-2022	GD	29.1	8.31×10^{-4}	0.49999446	0.48614588
25-2022	D	13.1	1.33×10^{-3}	0.49999112	0.477788505
25-2022	G	14.4	8.23×10^{-4}	0.49999452	0.486288522
36-2022	G	21.0	8.23×10^{-4}	0.49999451	0.48628623
36-2022	D	14.2	1.05×10^{-3}	0.49999298	0.482449824

Table 4: Synthèses des tests effectués sur la peau

		Graisse	Glande	Peau
Coefficient de compressibilité [MPa^{-1}]	**Moyenne**	7.85×10^{-4}	7.38×10^{-4}	9.02×10^{-4}
	Médiane	7.61×10^{-4}	6.01×10^{-4}	8.27×10^{-4}
	ET	2.02×10^{-4}	3.61×10^{-4}	2.25×10^{-4}
Coefficient de Poisson Valeur haute	**Moyenne**	0.499999935	0.499999631	0.499993984
	Médiane	0.499999937	0.499999700	0.499994486
	ET	0.000000017	0.000000181	0.000001499
Coefficient de Poisson Valeur basse	**Moyenne**	0.499997383	0.499966776	0.484959717
	Médiane	0.499997464	0.499972959	0.486216055
	ET	0.000000672	0.000016251	0.003746505

Table 5: Comparaison des résultats obtenus sur les trois types de tissus du sein (ET : Écart-Type)

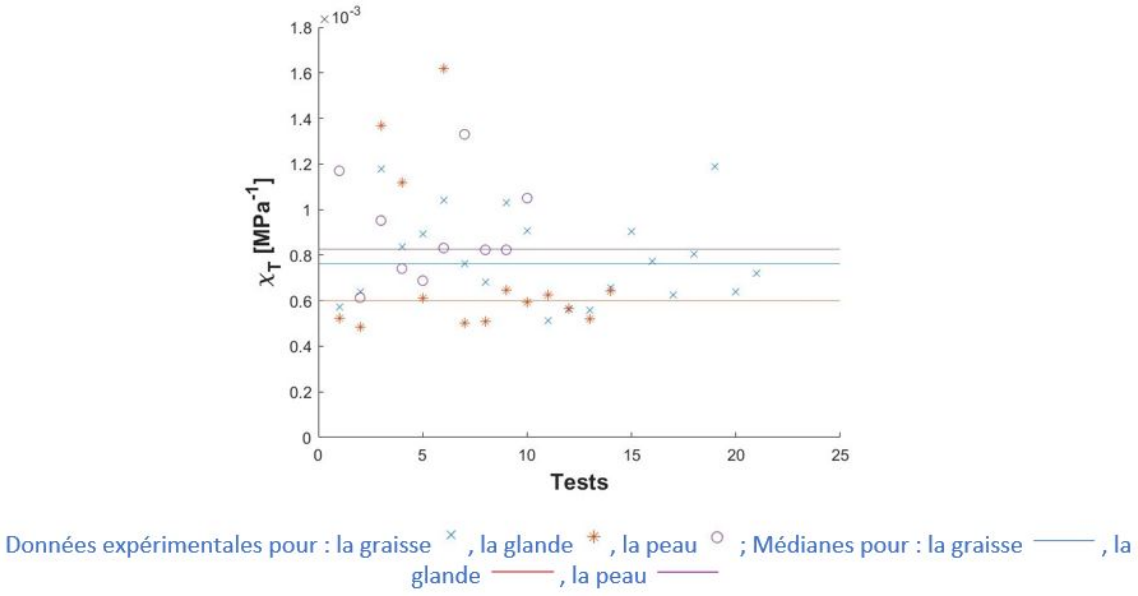

Figure 7: Ensemble des coefficients de compressibilité sur les tests réalisés

Pour finir, on ne relève pas de différence majeure entre les corps ayant été formolés et les corps ayant été congelés. Il n'y a pas de corrélation entre les résultats éloignés de la médiane et les résultats obtenus pour les corps ayant été congelés. En effet, la médiane du coefficient de compressibilité pour la graisse est à $7.6110 - 4 \pm 2.02 \times 10^{-4}$ MPa^{-1} et le coefficient pour les corps ayant été congelés varie entre 5.72×10^{-4} MPa^{-1} et 1.04×10^{-3} MPa^{-1}. On peut comparer de la même façon les résultats obtenus pour la glande : médiane : $6.01 \times 10^{-4} \pm 3.61 \times 10^{-4}$ MPa^{-1}, coefficient corps congelés : entre 4.85×10^{-4} MPa^{-1} et 6.10×10^{-4} MPa^{-1}; et pour la peau : médiane : $8.27 \times 10^{-4} \pm 2.25 \times 10^{-4}$ MPa^{-1}, coefficient corps congelés : entre 7.41×10^{-4} MPa^{-1} et 1.17×10^{-3} MPa^{-1}[1].

Un autre biais de mesure réside dans le fait que les échantillons testés sont des échantillons issus d'un prélèvement post mortem formolé ou congelé. Or ces conditions de conservation ont pu altérer les propriétés mécaniques des tissus. Pour répondre à cette interrogation et dans le but de se rapprocher le plus possible du comportement mécanique des tissus vivants, il serait intéressant de pouvoir tester avec ce dispositif des tissus issus d'un prélèvement postopératoire afin que les échantillons prélevés soient les plus frais possibles.

La conclusion provisoire apparente de nos premiers résultats est que ces matériaux sont très peu compressibles, avec des coefficients de Poisson supérieurs à 0.4999 ce qui représente des valeurs différentes de ce que l'on voit dans la littérature avec l'utilisation fréquente de valeur de l'ordre de 0.49 voire 0.45. Ceci peut avoir des conséquences très fortes sur l'exploitation des résultats des états de contraintes [Toungara et al., 2012].

Enfin, au vu des résultats obtenus, il serait intéressant de développer ce type de test sur d'autres types d'organes mous tels que le cerveau, le poumon ou encore les organes digestifs permettant ainsi de comparer les différents résultats obtenus.

Remerciement

Nous remercions Martha Duraes et Anna Fay pour leur temps et leur aide lors des différentes dissections. Nous remercions également Philippe Masson et Pauline Raciquot, thanatopracteurs au sein du LADAF (Labaratoire d'Anatomie Des Alpes Française), pour leur professionnalisme ainsi que leur réactivité face aux problèmes rencontrés.

References

A. N. Annaidh, K. Bruyère, M. Destrade, M. D. Gilchrist, and M. Otténio. Characterization of the anisotropic mechanical properties of excised human skin. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 5(1):139–148, 2012. URL `https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.08.016`.

F. S. Azar, D. N. Metaxas, and M. D. Schnall. A deformable finite element model of the breast for predicting mechanical deformations under external perturbations. *Academic Radiology*, 8 (10):965–975, 2001. doi: 10.1016/S1076-6332(03)80640-2.

N. Briot, G. Chagnon, N. Connesson, T. Alonso, and Y. Payan. Development of an experimental device to measure compressibility coefficient of soft materials. *Submitted to Experimental Mechanics*, 2022.

T. E. Carew, R. N. Vaishnav, and D. J. Patel. Compressibility of the arterial wall. *Circulation research*, 23(1):61–68, 1968. URL `https://doi.org/10.1161/01.RES.23.1.61`.

[1] Ici on compare une médiane avec des valeurs, car le nombre de tests fait sur des corps congelés ne permet pas de calculer de médiane

T. J. Carter. *Biomechanical modelling of the breast for image-guided surgery*. PhD thesis, Citeseer, 2009.

A. P. Del Palomar, B. Calvo, J. Herrero, J. López, and M. Doblaré. A finite element model to accurately predict real deformations of the breast. *Medical engineering & physics*, 30(9): 1089–1097, 2008. doi: 10.1016/j.medengphy.2008.01.005.

T. P. B. Gamage, R. Boyes, V. Rajagopal, P. M. Nielsen, and M. P. Nash. Modelling prone to supine breast deformation under gravity loading using heterogeneous finite element models. In *Computational biomechanics for medicine*, pages 29–38. Springer, 2012. doi: 10.1007/978-1-4614-3172-5_5.

L. Han, J. H. Hipwell, C. Tanner, Z. Taylor, T. Mertzanidou, J. Cardoso, S. Ourselin, and D. J. Hawkes. Development of patient-specific biomechanical models for predicting large breast deformation. *Physics in Medicine & Biology*, 57(2):455, 2011. doi: 10.1088/0031-9155/57/2/455.

T. Hopp, M. Dietzel, P. A. Baltzer, P. Kreisel, W. A. Kaiser, H. Gemmeke, and N. V. Ruiter. Automatic multimodal 2d/3d breast image registration using biomechanical fem models and intensity-based optimization. *Medical image analysis*, 17(2):209–218, 2013. doi: 10.1016/j.media.2012.10.003.

A. Lapuebla-Ferri, A. P. del Palomar, J. Herrero, and A.-J. Jiménez-Mocholí. A patient-specific fe-based methodology to simulate prosthesis insertion during an augmentation mammoplasty. *Medical engineering & physics*, 33(9):1094–1102, 2011. doi: 10.1016/j.medengphy.2011.04.014.

F. J. Millero, R. W. Curry, and W. Drost-Hansen. Isothermal compressibility of water at various temperatures. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 14(4):422–425, 1969. doi: 10.1021/je60043a018.

A. Mira. *Modèle biomécanique du sein pour l'évaluation de la compression et de la perception d'inconfort en mammographie*. PhD thesis, Université Grenoble Alpes (ComUE), 2018.

F. H. Netter. *Atlas of human anatomy, Professional Edition E-Book: including NetterReference.com Access with full downloadable image Bank*. Elsevier health sciences, 2014.

Y. Payan and J. Ohayon. *Biomechanics of living organs: hyperelastic constitutive laws for finite element modeling*. World Bank Publications, 2017.

L. Ruggiero, H. Sol, H. Sahli, S. Adriaenssens, and N. Adriaenssens. The effect of material modeling on finite element analysis of human breast biomechanics. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, 12(1):27–34, 2014. doi: 10.5301/JABFM.2012.9337.

N. V. Ruiter, R. Stotzka, T.-O. Muller, H. Gemmeke, J. R. Reichenbach, and W. A. Kaiser. Model-based registration of x-ray mammograms and mr images of the female breast. *IEEE Transactions on Nuclear Science*, 53(1):204–211, 2006. doi: 10.1109/TNS.2005.862983.

J. Salençon. *Mécanique des milieux continus: Concepts généraux*, volume 1. Editions Ecole Polytechnique, 2005.

A. Samani, J. Zubovits, and D. Plewes. Elastic moduli of normal and pathological human breast tissues: an inversion-technique-based investigation of 169 samples. *Physics in medicine & biology*, 52(6):1565, 2007.

M. Toungara, G. Chagnon, and C. Geindreau. Numerical analysis of the wall stress in abdominal aortic aneurysm: influence of the material model near-incompressibility. *Journal of mechanics in Medicine and Biology*, 12(01):1250005, 2012. doi: 10.1142/S0219519412004442.

E. E. Van Houten, M. M. Doyley, F. E. Kennedy, J. B. Weaver, and K. D. Paulsen. Initial in vivo experience with steady-state subzone-based mr elastography of the human breast. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 17(1):72–85, 2003. doi: 10.1002/jmri.10232.

2.2.2.4 Conclusion

Cette étude a permis de déterminer les modules de compressibilité de tissus biologiques du sein. Il est toutefois important de signaler quelques limitations de cette étude : 1) le module de Young a une influence non négligeable sur les résultats obtenus ; dans cette étude, les modules de Young ont été extraits de la littérature et non mesurés sur les tissus correspondants et 2) les tests ont été réalisés sur des tissus post mortem, ce qui peut avoir une influence sur les résultats obtenus. Malgré ces limitations, des valeurs de coefficients de Poisson des tissus du sein proches de l'incompressibilité ont été obtenues. En effet, le coefficient de Poisson de la peau varie entre 0.499991730 et 0.499994486, celui de la glande varie entre 0.499972959 et 0.499999700 et celui de la graisse varie entre 0.499997464 et 0.499999937. On note un nombre important de «9» dans le coefficient de Poisson soulignant le côté fortement incompressible de ces tissus, ce qui met en défaut beaucoup de paramètres classiquement utilisés dans les simulations numériques.

La méthode développée dans ce chapitre a également été utilisée pour traiter d'autres tissus biologiques tels que le foie, l'intestin, l'œsophage, la langue et le mésentère, les résultats sont présentés dans **??**. **??**.

2.3 Conclusion Chapitre 2

Ce chapitre a permis de se rendre compte d'une partie de l'étendue des résultats accessibles sur des échantillons *ex vivo*. L'importance des ligaments de Cooper dans la déformation du sein a été mis en avant, tout comme la quasi-incompressibilité des différents tissus composant le sein.

Néanmoins, le mode de conservation des tissus a un impact incertain sur le comportement mécanique des tissus mous. C'est pourquoi, malgré leurs difficultés d'application, les tests *in vivo* ont une valeur ajoutée plus importante que les tests *ex vivo*. Ainsi, le chapitre suivant présente les études (sous forme d'un article soumis et d'un article publié) réalisées *in vivo* sur des tissus mammaires de volontaires sains.

3 Chapitre 3 - Test *in vivo* réalisés au cours de cette thèse

3.1 Identification de la raideur de tissus mous bicouches par aspiration

3.1.1 Introduction à l'article

Les résultats obtenus dans les premiers chapitres se limitent à des tissus post-mortem avec toutes les limitations dues au prélèvement, à la conservation des tissus, mais aussi aux modifications des propriétés mécaniques entre l'*in vivo* et l'*ex vivo*. L'obtention de données sur des tissus biologiques *in vivo* nécessite l'utilisation de techniques expérimentales différentes. À l'heure actuelle, hormis les techniques d'élastographie utilisées depuis quelques années en routine clinique, il n'existe quasiment pas de dispositifs permettant de mesurer *in vivo* et *in situ* la résistance élastique des tissus mous biologiques. Comme souligné dans 1Chapitre 1 - Etat de l'art, l'élastographie, en plus des dispositifs d'imagerie lourds et onéreux à acquérir, fournit des valeurs absolues de raideurs des tissus qui restent sujets à discussion. Il est donc intéressant de proposer d'autres méthodes de mesures *in vivo* des propriétés mécaniques des tissus mous humains, idéalement légères à mettre en œuvre.

C'est dans ce contexte qu'un dispositif d'aspiration a été développé au laboratoire TIMC lors de la thèse d'Ali Elahi [Elahi et al., 2019]. D'abord conçu pour estimer la raideur (module de Young) d'un tissu homogène, le dispositif a été adapté aux structures à deux couches de tissus. Ce travail a été dirigé par Nathanael Connesson, enseignant-chercheur au sein de l'équipe BIOMECA. Ma contribution à ce travail a consisté en la réalisation des tests expérimentaux ainsi qu'aux développements du système pour sa future utilisation sur les tissus mous humains. L'article est actuellement soumis à la revue «*Experimental Mechanics*» et a été déposé sur HAL dans sa version courante.

3.1.2 Résumé en français

L'article présenté ci-dessous introduit des méthodes expérimentales et d'analyse inverse de la mesure de l'aspiration/succion sur des structures de tissus mous bicouches.

Pour cela, un système d'aspiration original a été développé et est décrit dans l'article. Les principales caractéristiques du système sont la réalisation de mesures globales, c'est-à-dire volumiques. Aucune caméra ou système de miroir, contraignant la conception de l'aperture, n'est utilisé comme dans la plupart des dispositifs d'aspiration existants. Le système repose sur la réalisation d'un vide partiel cyclique dans une chambre à ouverture cylindrique en contact avec la surface supérieure du matériau bicouche. Un très faible volume de matériau est aspiré dans la chambre garantissant ainsi une faible déformation pour rester dans le domaine élastique et éviter tout dommage sur les matériaux aspirés. La technique repose sur l'utilisation de coupelles d'aspiration jetables de différents diamètres d'ouverture allant de 4 à 30mm. Ces coupelles possèdent des avantages nécessaires pour l'utilisation *in vivo* puisque faciles à stériliser et adaptables aux contraintes d'accessibilité.

Le système d'aspiration a été testé sur des échantillons bicouches connus de silicone contrôlé (les propriétés élastiques des couches de référence étant caractérisées par des essais mécaniques classiques tels que la traction uniaxiale). Des mesures sont réalisées sur une structure bicouche avec des coupelles de 9 tailles d'ouverture différentes. À partir des résultats expérimentaux et d'une analyse inverse reposant sur des abaques de calculs par éléments finis, les modules de Young des couches supérieures et inférieures sont identifiés en temps quasi réel en utilisant une base de données d'éléments finis interpolée avec une analyse en composantes principales. L'épaisseur de la première couche est une donnée d'entrée ou peut être identifiée par cette analyse inverse (pour les cas de figure où cette donnée ne serait pas connue).

3.1.3 Article

Noname manuscript No.
(will be inserted by the editor)

Bi-layer stiffness identification of soft tissues by aspiration.

N. Connesson · N. Briot · P.Y. Rohan · P.A. Barraud · S.A. Elahi · Y. Payan

Received: 08/07/2022 / Accepted: date

Abstract Background *In vivo* and *in situ* mechanical characterization of living soft tissue is challenging even for properties as simple as Young moduli.

Objective The aim of this work is to identify quasi-statique elasticity moduli onto bilayered soft tissues structures with measurements only at the surface. The method should provide success feedback, apply low deformation to the tissue (elasticity domain, damageless for *in vivo* and *in situ* applications), be unexpensive, easy to sterilize and adaptable to accessibility constaints.

Methods An original cyclic aspiration system is described based on volumic measurements (no camera or mirror constraining the aperture design), cyclic partial vacuum (airtightness checking), low deformation loading and using disposable aspiration cups of various aperture diameters ranging between 4 and 30 mm. The aspiration system was tested for 9 aperture sizes *in silico* on different controlled silicone bilayer specimens.

Results The upper, lower layer Young moduli, and optionally, the optimal upper layer thickness, were identified in almost real-time using a Finite

Corresponding Author
TIMC-IMAG Laboratory, UMR CNRS 5525, Grenoble Alpes University, Pavillon Taillefer, Faculty of Medicine, Domaine de la Merci, 38706 La Tronche cedex, France.
E-mail: nathanael.connesson@univ-grenoble-alpes.fr

Element database interpolated with a Principle Component Analysis. For an upper layer thickness of about 3 mm, the Young moduli identified by aspiration onto a bilayer sample presented a relative error lower than 10% compared to reference values.

Conclusions These validations give confidence to apply this method *in vivo* and *in situ* to soft tissues such as human skin if considered as bilayered structures.

Keywords Suction/Aspiration Method · Soft tissues Characterization · in vivo Measurement · Validation on silicone specimens · Inverse Finite Element Analysis · Experimental Mechanics.

1 Introduction

Since the pioneer book of Yuan-Cheng Fung published in 1981 [1], many research groups in the world have designed biomechanical models of human soft tissues for applications such as Computer Assisted Medical Interventions [2]. To be relevant, these computational models must be adapted in terms of geometrical and mechanical behavior which are unfortunately subject-specific, age dependent and which can differ significantly between *in vivo* and *ex vivo* conditions (*e.g.* vascularization of the tissue [3–5], preservation process [6], *etc*). Moreover, biological tissues usually exhibit nonlinear, time dependent, inhomogeneous, and anisotropic behaviors. It is also well-known nowadays that such tissues develop, grow, remodel, and adapt so as to maintain particular mechanical target metrics (*e.g.*, stress).

In practice, the diversity of encountered phenomena for soft tissue modeling is simplified by choosing constitutive models and parameter identification methods. As such, most complex nonlinear stress-strain curves of human soft tissues can be identified *ex vivo* through experimental tests such as uni or

bi-axial tensile tests [6–9], pure shear [9, 10], plain strain compression [9], bulge tests [11, 12], indentation [13, 14] or aspiration [15]. If such tests proved invaluable, they can usually not simply be performed *in vivo*.

These observations higlight the extensive work to be dealt with for *in vivo* characterization. A first step toward this direction is the estimation of subject-specific tissue stiffness, which is even in itself a challenge. This property is usually the prerequisite to clinical use of any model in the context of Computer Assisted Medical Interventions.

A possibility largely studied method is to use aspiration techniques [16], consisting in putting a sterile chamber with an aperture in contact with the investigated tissue and in decreasing the pressure inside the chamber. The amount of tissue aspirated is related to tissue stiffness. The aspirated tissue height is generally estimated either using ultrasound methods [17, 18], mechanical stops [19], optical coherence tomography [18] or cameras usually associated with mirrors or prisms [20–28].

To widen the use of such method, it would make sense to design the system so that the head is unexpensive, disposable, highly customizable (aperture size, shape, material) and able to meet any required severe sterilization process. Our group has thus recently proposed to replace the measurement of the tissue height with the measurement of the aspirated tissue volume [29]. Such a change in the method enables the elimination of camera, mirror, prism, and all the electronic parts from the system head that was basically reduced to a simple tube with an aperture. The corresponding device, called VLASTIC, enable to evaluate silicones stiffnesses with a maximal error of about 10% compared to uniaxial tensile tests [30]. It was also used in a clinical study to evaluate the tongue stiffness in ten patients for two conditions: at rest and under general anesthesia [31]. Yet, in these studies, the underlying tissues were assumed

homogeneous. As most human tissues are inhomogeneous, the method must be further developed.

The homogeneity hypothesis while using aspiration was challenged in literature. When extracting only the superficial layer mechanical properties, Zhao *et al.* [15] demonstrated *in silico* that an aspiration diameter smaller or equal to the upper layer thickness should be used. Other works [25, 32, 33] use data from tests with two different diameters (2 and 8 mm) to estimate the mechanical response of the most superficial layers of the human skin, and sometimes complete the data using *ex vivo* tensile test [33]. In [18], 3 diameters (1, 2 and 6 mm) and Optical Coherence Tomography were used to evaluate the mechanical behavior of the softer 130 μm upper skin layer.

This work aims at going beyond the state of the art (i) by using a single, easy to use and adaptable aspiration system, switching only aperture heads to perform all the measurements, (ii) by proposing identification of Young moduli of each constituent of bi-layered structures using an off-line Finite Element database (almost real time identification), (iii) by evaluating the parameter identifiability of the tested situation

The whole method has been evaluated experimentally to test the ability of VLASTIC to estimate the stiffnesses of bi-layers silicone phantoms compared with classical experimental tensile tests.

To the author's knowledge, no previous work implemented these last points. The hope is that the VLASTIC system and method will be used to estimate mechanical properties of most accessible soft tissues, such as for example the skin stiffness for face [34, 35], breast [36], sacrum [37] or foot [38] modeling.

2 Material and Methods

As an overwiew, the paper structure is graphically summarized in figure 1.

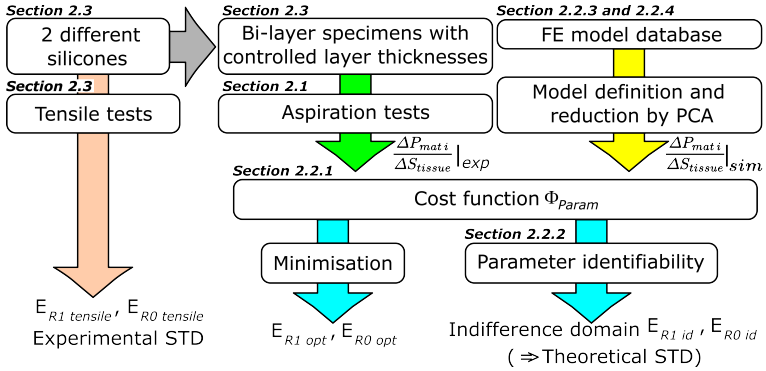

Fig. 1 Paper structure and main output notations: $E_{R1\,tensile}$ and $E_{R0\,tensile}$ stand for both layers' Young moduli measured through uniaxial tensile test on specimens. $E_{R1\,opt}$ and $E_{R0\,opt}$ are Young moduli identified with aspiration data and minimizing the cost function Φ_{Param}.

2.1 Volume based aspiration tests

2.1.1 Cyclic testing device

The testing system is composed of two air-filled parallel circuits defined as "Reference line" and "Material line", respectively, both connected at a valve, a manometer[a] and a syringe[b] (Figure 2 a). The syringes stroke ΔL is simultaneous and cyclic, inducing a volume variation ΔV in each line.

The "Reference line" is simply a tube closed at its end. It converts the volume variation ΔV (that may not be perfectly controlled during movement inversions due to the syringe piston deformation) into a pressure variation ΔP_{ref}. The tube length is chosen so that the pressure variation ΔP_{ref} in the "Reference line" sweeps the whole sensor pressure range given the input volume variation ΔV.

The "Material line" is composed of a tube linked to a 3D printed resin cup of aspiration diameter D_i (Figure 2 d) applied on the tested tissue. All cup geometrical features in contact with the tested tissue (wall thickness, fillet

[a] AMS-5812-0015-D-B, Analog Microelectronics GmbH
[b] CODAN 1mL Luer TBC

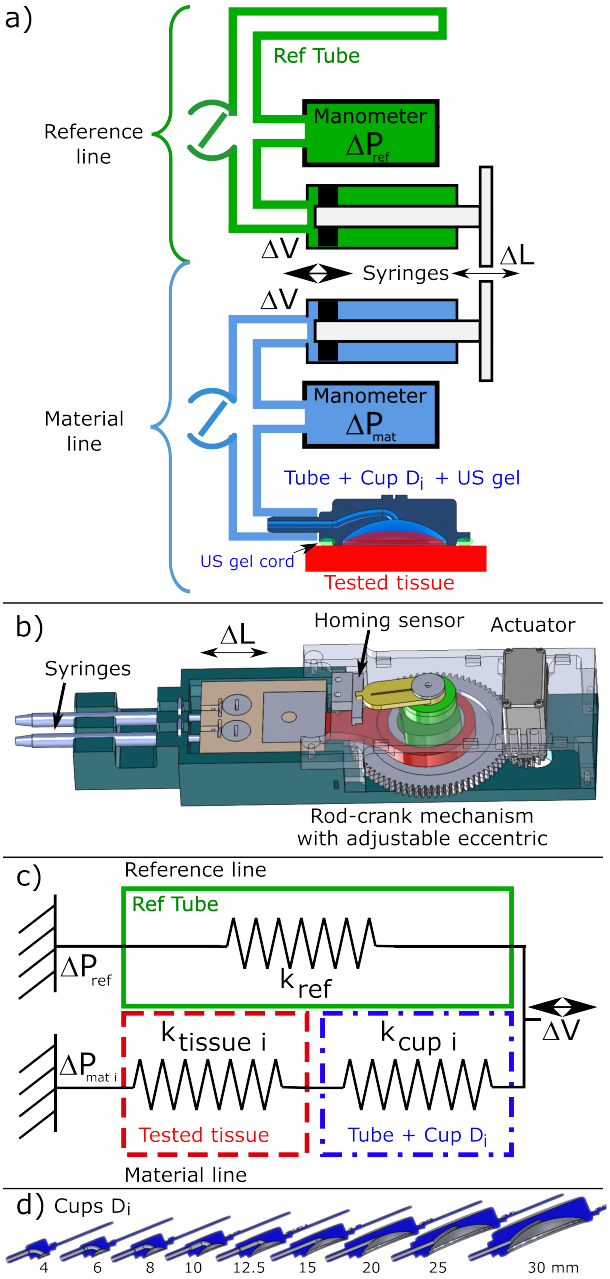

Fig. 2 Subplot a) Principle of the two lines system to evaluate the material mechanical answer of soft tissues during cyclic aspiration.
Subplot b) Syringes cyclic actuator with adjustable screw-driven eccentric and homing sensor.
Subplot c) Equivalent spring model of the whole system.
Subplot d) Aspiration cups with aperture diameters ranging from 4 to 30 mm.

radius, *etc.*) are proportional to the aperture diameter D_i. This line converts the input volume variation ΔV into a pressure variation ΔP_{mat}.

The general idea is that the tested tissue mechanical behavior can be deduced by comparing the pressures variations in the two lines (ΔP_{ref} and ΔP_{mat}) while testing the tissue or an undeformable material (calibration test); the ratio of pressure variation in both lines $\frac{\Delta P_{ref}}{\Delta P_{mat}}$ will change between these two cases and contains the sought properties.

2.1.2 Protocol and elastic model

Practically, every test starts with the same protocol:

- ✓ The cup D_i is placed on the tested material. An ultrasound gel cord fills an external groove to ensure air tightness. The syringes are set in their empty reference position using the homing sensor (Figure 2 b). The valves are then closed, the air volume enclosed in the system being thus reproducible and minimum at the starting point ($n = 0$).
- ✓ A volume ΔV is withdrawn simultaneously and cyclically from both the material and reference lines (Figures 2 a and b). The pressure variations $\left(\Delta P_{ref},\, \Delta P_{mat\,i}\right)_n = \left(P_{ref\,n} - P_{ref\,0},\, P_{mat\,i\,n} - P_{mat\,i\,0}\right)$ are measured in the reference and material lines, respectively. The underscript n represents the pressure index.
- ✓ Pressure variations during the test $\left(\Delta P_{ref},\, \Delta P_{mat\,i}\right)_n$ are supposed proportional to the volume variation ΔV using elastic stiffnesses in a spring

model (Figure 2 c) such as:

$$k_{ref} = \frac{\Delta P_{ref}}{\Delta V} \tag{1}$$

$$k_{cup\,i} = \frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta V_{cup\,i}} \tag{2}$$

$$k_{tissue\,i} = \frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta V_{tissue\,i}} \tag{3}$$

$$\text{where } \Delta V = \Delta V_{tissue\,i} + \Delta V_{cup\,i} \tag{4}$$

To simplify the notations, expressions are articulated in the next equations using the ratio $Q_{i\,X}$ defined as:

$$Q_{i\,X} = \frac{\Delta P_{ref}}{\Delta P_{mat\,i}} \tag{5}$$

where underscript i refers to the aperture diameter D_i and X indicates whether $Q_{i\,X}$ is obtained during a calibration step ($X = cal$) or by testing a tissue ($X = exp$).

In practice, the ratios $Q_{i\,exp}$ and $Q_{i\,cal}$ are slopes of linear poynomial identified on the $\left(\Delta P_{ref},\, \Delta P_{mat\,i}\right)_n$ curve. It can be obtained by minimizing the linear function Φ_Q defined in the least square sense:

$$\Phi_Q = \sum_{n=1}^{N} \left(\Delta P_{ref} - (Q_{i\,X}\, \Delta P_{mat\,i} + A) \right)_n^2 \tag{6}$$

where N is the number of used pressure measurements and A is a constant accounting for any pressure offset difference between the material and reference lines due to potential thermal drifts.

2.1.3 Calibration and measurement

The system reference and material lines must be calibrated before testing deformable tissues:

- **Calibration of the "Reference line" (stiffness k_{ref}):**

  Different cyclic volume amplitudes ΔV are applied to the reference line by increasing step by step the syringe courses ΔL with an adjustable 500 μm thread pitch screw-driven eccentric mecanism (Figure 2 b). The slope of the pressure variation amplitude ΔP_{ref} versus the volume amplitude $\Delta V = \Delta L\, S_{syringe}$ is the sought reference line stiffness $k_{ref} = 0.992\ mbar.mm^{-3}$ (equation 1).

- **Calibration of the "Material line" for each cups (ratio $Q_{i\,cal}$):**

  The material line is calibrated for each cup D_i applied on an undeformable material ($k_{tissue} = \infty, \Delta V_{tissue\,i} = 0$). Equation 5 simply provides the material line ratio $Q_{i\,cal}$ during calibration:

$$Q_{i\,cal} = \frac{\Delta P_{ref\,cal}}{\Delta P_{mat\,i\,cal}} \tag{7}$$

- **Test on deformable tissue $k_{tissue\,i}$:**

  When testing a soft tissue, the tissue apparent stiffness $k_{tissue\,i}$ is computed combining equations 1 to 5 and 7 so that:

$$k_{tissue\,i} = \frac{k_{ref}}{Q_{i\,exp} - Q_{i\,cal}} \tag{8}$$

  Note that the information about the tissue apparent stiffness $k_{tissue\,i}$ is mainly contained in a difference of ratios $Q_{i\,X}$ measured during the calibration and the test on a soft tissue while using the same aperture diameter D_i (see Figure 8b in the results section).

2.1.4 Apparent stiffness normalization

The tissue apparent stiffness $k_{tissue\,i}$ contains information about the constituent tissue stiffnesses integrated over the loaded material volume beneath the aperture diameter D_i (Figure 3). Unfortunately, even when testing an

homogeneous material, this stiffness $k_{tissue\,i}$ (in $Pa.m^{-3}$) depends on the aspiration aperture size.

To compare the results obtained with different aperture size, the notion of tissue shape S_{tissue} is defined by normalizing the aspirated tissue volume $V_{tissue\,i}$ by the volume of a half sphere $V_{ref\,i}$ of diameter D_i [31][c]:

$$S_{tissue} = \frac{V_{tissue\,i}}{V_{ref\,i}} \tag{9}$$

$$\text{with} \quad V_{ref\,i} = \frac{4}{6}\pi\left(\frac{D_i}{2}\right)^3 \tag{10}$$

A shape $S_{tissue} = 1$ means a volume of half a sphere has been aspirated into the cup.

Using this shape definition and equation 3, it comes:

$$\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}} = V_{ref\,i}\ k_{tissue\,i} \tag{11}$$

where $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}$ (in Pa) represents the normalized constituent material apparent stiffness:

On a homogeneous specimen, a change of aperture diameter D_i is equivalent to a change of test scale (same shape obtained for the same pressure variation); the constituent material apparent stiffness $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}$ is independent of aperture-diameter D_i.

On bi-layered specimens, a change of aperture diameter D_i modifies the upper layer relative contribution to the shape S_{tissue} (Figure 3, illustration for $S_{tissue} = 1$). In particular, a cup of diameter smaller or equal to the thickness L_{R_1} of the upper layer of material labeled R_1 mainly extracts the upper layer stiffness [15] as will be further developped in section 3.

[c] Similar normalization of the apex hight is also found in [15].

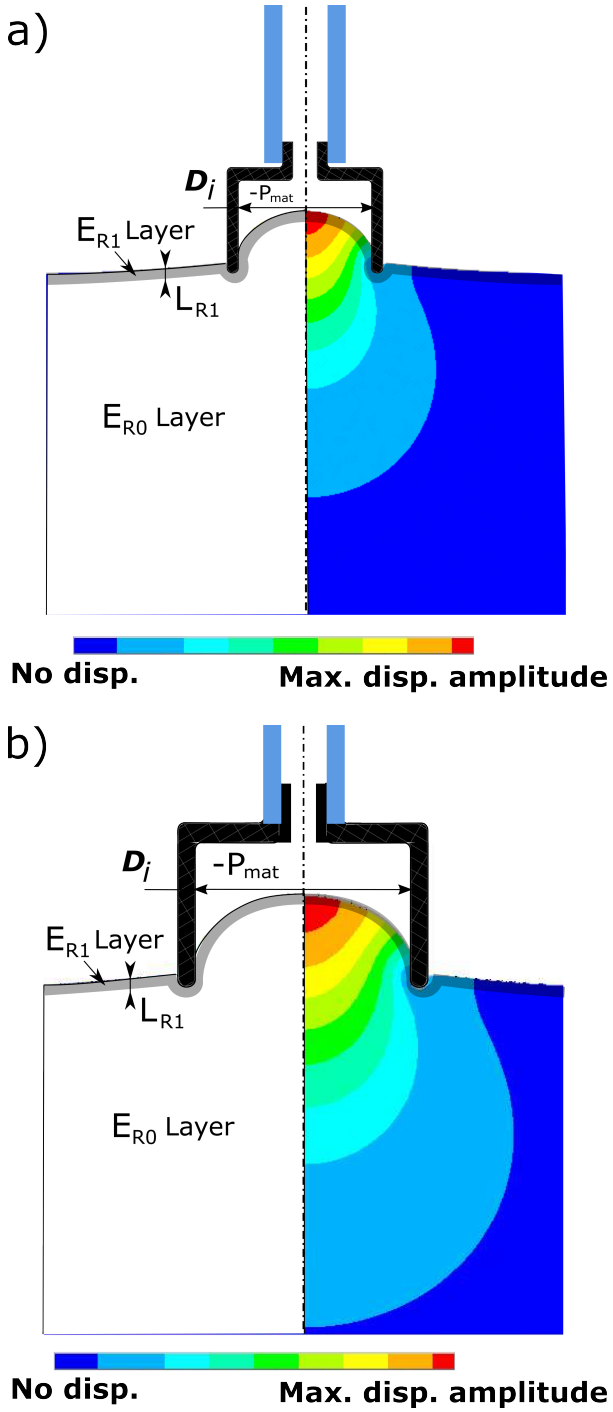

Fig. 3 Illustration of aspiration on a bi-layer sample using different aperture diameters for $S_{tissue} = 1$. The colors under the cups schematically represent the material volume over which the material stiffness information is extracted. Changing the aspiration diameter D_i modifies the relative contribution of the upper layer to the final shape S_{tissue}.

Combining equations 8 and 11, the normalized constituent material apparent stiffness $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}$ is thus simply obtained by:

$$\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}} = V_{ref\,i}\ \frac{k_{ref}}{Q_{i\,exp} - Q_{i\,cal}} \tag{12}$$

2.2 Bi-layer mechanical properties inverse identification

The inverse identification consists in estimating both layer Young's moduli (E_{R1} and E_{R0}), and optionnally, the thickness L_{R1} of the upper layer, minimizing a cost function Φ_{Param} (section 2.2.1). A Finite Element (FE) model has been created to simulate the aspiration procedure and predict each parameter effect.

2.2.1 Cost Function

The cost function Φ_{Param} is defined in the least square sense on the experimentaly measured material apparent stiffness $\left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{exp}$:

$$\Phi_{Param} = \sum_{i=1}^{I} \frac{1}{\sigma_i^2} \sum_{j=1}^{J_i} \left(\left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{sim}(\theta,\beta) - \left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{exp} \right)_j^2 \tag{13}$$

where $\left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{sim}$ is the simulated material apparent stiffness for a cup diameter D_i (section 2.2.3 and 2.2.4), θ is a P-dimensional vector representing the sought unknowns and referred to as "parameter vector", and β represents the other model parameters (aperture diameter, friction, compressibility coefficient, *etc.*). I is the number of aperture diameter D_i used and J_i is the number of cycles performed for each aperture of diameter D_i. The number of measurements used to compute Φ_{Param} is thus $N_m = \sum_{i=1}^{I} J_i$. The weighing denominator σ_i^2 is the experimental unbiased variance of the experimental apparent stiffness $\left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{exp}$ for aperture D_i and is used so that the cost

function Φ_{Param} is not dominated by the experimental data provided by a specific aperture diameter D_i [39].

Unknowns and model parameters θ and β are composed of four main characteristics (Figure 3), namely the aperture diameter D_i, the upper layer thickness L_{R_1} and associated Young's modulus E_{R1} and the lower layer Young's modulus E_{R0}. The optimal parameter vector θ_{opt} minimizing the cost function Φ_{Param} is estimated using the Levenberg-Marquardt method [40] under different situations referred to by the number of sought parameters P.

$P = 3$ **(bi-layer,** $\theta =< E_{R1}, E_{R0}, L_{R_1} >^T$**:** when the specimen is a bi-layer specimen, the upper layer thickness L_{R_1}, Young's modulus E_{R1} and the lower layer Young's modulus E_{R0} can all be estimated.

$P = 2$ **(bi-layer,** $\theta =< E_{R1}, E_{R0} >^T$**):** when the specimen is a bi-layer specimen, the upper layer thickness shall be provided in β by an annex measurement. In such a case, only the upper and lower layer Young's moduli E_{R1} and E_{R0} are estimated in θ.

$P = 1$ **(homogeneous,** $\theta =< E_{R1} >$**):** when the specimen is considered homogeneous, only the averaged material Young's modulus is estimated ($E_{R1} = E_{R0}$). In such a case, the theoretical constituent material apparent stiffness $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\big|_{sim}(\theta, \beta)$ is independent on the upper layer thickness value L_{R_1}.

2.2.2 Parameters' identifiability

The question of parameters' identifiability has been analysed following the principles detailed in [39]. The main hypotheses of such an analysis are:

H1 : The model describing the phenomeon is non-linear.

H2 : There is no mismatch between model and the experimental data: all important predictor variables are included in the parameter vector θ and no unimportant predictor variables are included in the parameter vector θ.

H3 : The disturbance model is additive, normaly distributed, of zero mean (no bias), with variances σ_i^2 known for each diameter D_i (so that all weighted data value are equally unreliable, see equation 13), and independent on each other.

The parameters identifiability is expressed as indifference region computed with a confidence level of 95%, meaning that:

- For a $P = 1$-parameter model, the indifference region at 95% is equivalent to predicting the value of twice the STandard Deviation (STD) of the results $\theta_{opt} =< E_{R1\,id} >$ if the same measurements were performed with a new disturbance.
- For a $P = 2$ or $P = 3$-parameter model, the indifference region at 95% is the region where another optimal solution θ_{opt} would have 95% of chance to be if the same measurements were performed with a new disturbance.

This region is defined as the P-dimensional domain over which the parameter vector θ verifies:

$$\Phi_{Param}(\theta, \beta) - \Phi_0 < \delta \tag{14}$$

where Φ_0 is the minimum value of the cost function Φ_{Param} obtained for the optimal value θ_{opt}. If the function $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\Big|_{sim}(\theta, \beta)$ was linear, such a domain would be an hyperelipsoïd of dimension P.

The threshold δ is defined using a statistical approach so that:

$$\delta = P\sigma^2 F(P, N_m - P, \alpha) \tag{15}$$

where $F(P, N_m - P, \alpha)$ is the upper α quantile for Fisher's F distribution with P and $(N_m - P)$ degrees of freedom, respectively. σ^2 is the variance of the normalized error vector in Φ_0. In practice, given the definition of the function Φ_{Param} (equation 13) and hypotheses **H2** and **H3**, Φ_0 should follow a chi-

squared distribution with $(N_m - P)$ degree of freedom. The unbiased variance can thus be evaluated for each fitting as:

$$\sigma^2 = \left(\frac{\Phi_0}{N_m - P} \right) \tag{16}$$

where the unbiased variance σ^2 is computed over a normalized (reducted) error vector and has a theoretical expectation of 1. If hypotheses **H2** or **H3** were not met (model mismatch or bias in $Q_{i\ exp}$, $Q_{i\,cal}$ or k_{ref}, equation 12), the values of variance σ^2 will become greater than 1. The associated threshold δ (equation 15) and the indifference region would be overestimated.

During the optimization process, the theoretical constituent material apparent stiffness function $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\big|_{sim}$ (equation 13) is evalutated using the model reduction provided by a Principal Component Analysis (PCA) applied to a pre-calculated Finite Element (FE) database. The following section presents the FE database construction. For detailed description of model reduction using the PCA method and interpolation, the reader is kindly referred to [41].

2.2.3 Database definition

To compute the minimum of the cost function Φ_{Param} (equation 13), the theoretical constituent material apparent stiffness $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\big|_{sim}(\theta, \beta)$ must be estimated (equation 13). At each step of the minimizing process, evaluating the cost function Φ_{Param} thus require to create I different models, each with a specific combination of the four main parameters D_i, L_{R_1}, E_{R1} and E_{R0}. To reduce the required CPU time, a database is created and interpolated. These 4 parameters can be combined to reduce the required FE database dimension from 4 to 2 as also proposed with a different philosophy in [15].

Material stiffness contrast: considering a material stiffness contrast ratio $\frac{E_{R1}}{E_{R0}}$, the constituent material apparent stiffness function $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\big|_{sim}$ can be seen as proportional to the bottom layer stiffness E_{R0} (equation 17).

Scale effect: assuming the lower layer thickness is infinite (in practice, the total layer thickness is much greater than the aperture diameter D_i), the upper layer relative contribution to the shape S_{tissue} is governed only by the ratio $\frac{D_i}{L_{R_1}}$ between the aperture diameter D_i and upper layer thickness L_{R_1}; redundant $\frac{D_i}{L_{R_1}}$ ratio would provide redundant information in the FE database. This hypothesis has been confirmed numerically.

The actual FE database is thus reduced to two parameters so that:

$$\left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{sim}(\theta,\beta) = E_{R0}\ f_{sim}(\frac{E_{R1}}{E_{R0}},\frac{D_i}{L_{R_1}}) \tag{17}$$

where f_{sim} is an adimensional function depending on the layer stiffness contrast ratio $\frac{E_{R1}}{E_{R0}}$ and on the size ratio $\frac{D_i}{L_{R_1}}$.

2.2.4 FE model

Applying these considerations, an axisymmetrical model taking in account large displacements has been defined (ANSYS APDL) with an aspiration cup diameter of $D_i = 10\ mm$ (Figure 4). To ensure the use of a unique converged mesh for all simulations in the database, $M = 20$ pre-meshed layers have been prepared at different depths $L_{layer\,m}$. The ratio $\frac{D_i}{L_{R_1}}$ is modified between simulations by attributing a Young's Modulus of E_{R1} to the first $[1,\, m]$ pre-meshed upper-layers and a Young's modulus of $E_{R0\,ref}$ to the other layers in $[m+1,\, M]$.

The following additional parameters in vector β have been chosen for the FE simulation:

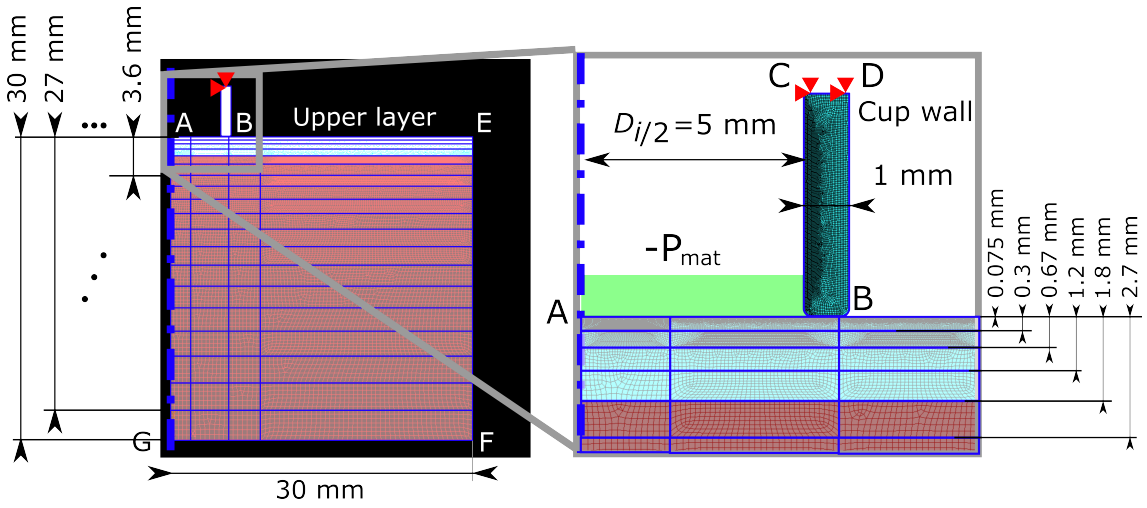

Fig. 4 Axisymmetrical FE model geometry. Zero displacements are presented as red triangles. Partial vacuum homogeneous pressure is represented by the green rectangle in the zoom in subplot. Pre-meshed layers are defined at different depths to use the same converged mesh for all calculations. Material mechanical properties E_1 is applied to elements of the upper pre-meshed layers (illustration for a ratio $\frac{D_i}{L_{R_1}} = 8.3, m = 4$).

- An **Incompressible Neo-Hookean model** simulates the material behavior of each layer. The constituent material apparent stiffness $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\big|_{sim}$ is evaluated at shapes equal to 0.1; for such a small deformation state, the material incompressibility (Poisson coefficient $\nu \in [0.45\ 0.5[$) has no influence onto the results (numerically tested).
- **Aspiration cup geometry** in contact with the sample is representative of the reality (wall thickness, fillet radius). $3D$ printed cup parts in contact with the tissue are proportional to the cup aperture D_i.
- **Boundary conditions:** the cup itself is immobilized in all directions on line CD (Figure 4). Contact elements are created between the line AB on the tissue and the cup (zoom-in in Figure 4). Partial vacuum (pressure noted $-P_{mat}$) is applied on line AB including the line part beneath the cup contact. With these boundary conditions, the tissue sample is free to move up or down relatively to the cup according to the applied pressure

$-P_{mat}$. The line AB displacement versus pressure $-P_{mat}$ is post-processed to compute the aspirated shape S_{tissue} (equation 9). The slope $\left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{sim}$ is computed at shape $S_{tissue} = 0.1$, which provides in turn the adimensional value f_{sim} (equation 17).

- The **friction coefficient** between tissue and cup is chosen of $f = 0.2$. During the experiment, this parameter is actually an unknown and is affected by the ultrasound gel cord. The friction coefficient influence has been tested numerically (no friction to glued boundary conditions). Its effect was considered negligible (as also reported in [42]) when the upper layer is stiffer than the lower layer.
- **External loads applied on the cup** are as small as possible during the experiments (Figure 6, illustration on sample A). No additional external loads are considered in the simulation. This hypothesis will be discussed while analyzing the results.
- The **tissue sample size** in the model is chosen so that rigid or free boundary conditions applied on the tissue outer boundaries have negligible influence onto the sought function (numerically tested).
- **Mesh convergence** : The layers are meshed using 8 nodes elements ($Q8$, Plane183, ANSYS). The mesh convergence has been checked on the tissue shape prior to the database simulation, the mesh being the same for all simulations. A zoom-in of the meshing size is reported in Figure 4.

2.2.5 Database range and interpolation

The FE database has been computed on stiffnesses ratios ranges: $\frac{E_{R1}}{E_{R0}} \in$ [0.1 120] and $\frac{D_i}{L_{R_1}} \in$ [0.33 133] (Figures 4 and 5).

A PCA is applied to the database to extract eigenvectors and weighting functions. Only the 3 first eigen-vectors and associated weighting functions were kept, representing more than 99.99% of the database information. Eigen

vectors and weighting functions were both interpolated with splines to compute f_{sim} (equation 17, Figure 5).

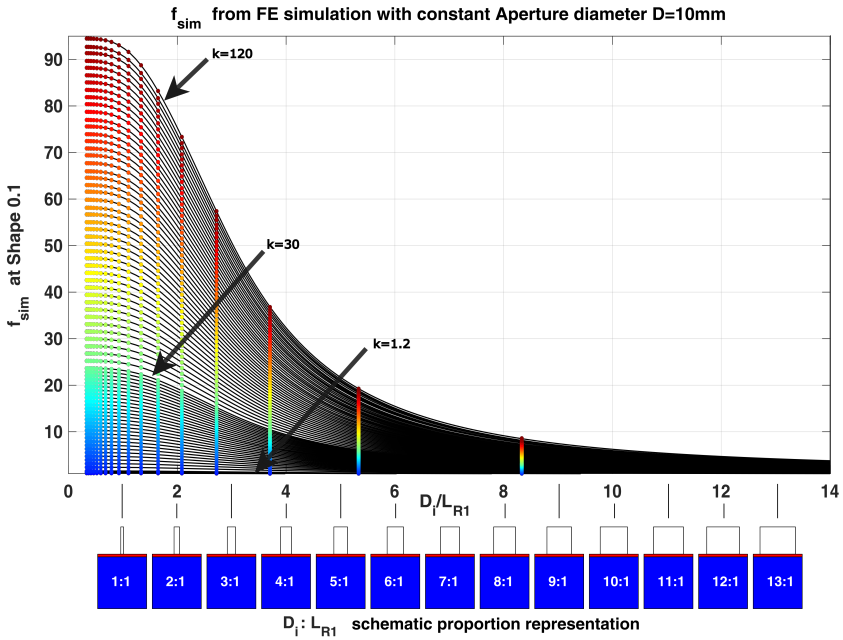

Fig. 5 The FE normalized results stored in the database are represented as points (computed at shape $S_{tissue} = 0.1$) versus depths ratio $\frac{D_i}{L_{R_1}}$. The stiffnesses ratios range is $k = \frac{E_{R1}}{E_{R0}} \in [1.2\ 120]$. The PCA interpolation enables to interpolate the database, as presented with the black curves. The meaning of the depths ratio $\frac{D_i}{L_{R_1}}$ is visually represented for integer values under the abscisse axis.

2.3 Controlled bi-layer silicone specimens

To validate the method, bi-layered specimens made of two mechanically characterized R_0 (soft) and R_1 (stiffer) silicones were tested.

These silicones were obtained mixing equal mass of component A and B[d] and adding silicone softener[e] (14.6% of $(A+B)$ mass for R_1, 30% of $(A+B)$

[d] Skin FX10 110019
[e] Deadner Skin FX10 110020

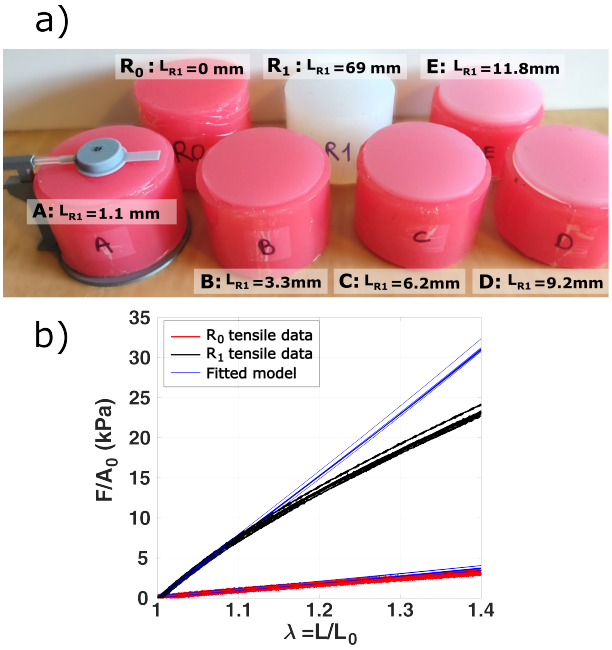

Fig. 6 Subplot a) Homogeneous (R_0 and R_1) and bi-layered aspiration samples (A to E) made with stiffer R_1 silicone as upper layer (white) and softer R_0 silicone as bottom layer (pink).
Subplot b) Tensile test results on flat rectangular specimens ($40 \times 160 \times 3$ mm^3). Softer R_0 silicone (red curve) and stiffer R_1 silicone (black curve). Associated Neo Hookean curve fitting using data over the domain for $\lambda_1 = \frac{L}{L_0} \in [1, 1.1]$.

mass for R_0). The mixed silicones were vacuumed during 5 min to remove air bubbles before pouring.

Three types of samples were made:

- **Homogenous aspiration specimens:** simple cylinders of $\varnothing 96$ $mm \times 70$ mm used as references and labelled R_0 and R_1 (Figure 6a).
- **Bi-layered aspiration specimens:** cylinders of $\varnothing 96$ mm, with thick R_0 bottom layer (soft), and thin upper R_1 layer (stiffer) of thickness L_{R_1} (A to E, Figure 6a). The samples were molded upside-down: the R_1 stiffer layer was molded first controling the poured volume with a syringe, followed one hour later by the softer layer of R_0.

The upper layer thicknesses $L_{R_1\,pic}$ were measured after all aspiration tests by cutting the samples in half and taking magnified scale controlled pictures. Thicknesses were evaluated in 8 different locations

- **Flat tensile specimens:** 5 to 10 flat specimens ($40 \times 160 \times 3\ mm^3$ molds) were molded from the same mixes as the aspiration samples. The averaged section A_0 of these samples are estimated by weighting each specimen mass m_{tens} so that $m_{tens} = \rho\, b\, A_0$ with ρ the silicone volumetric mass and b the mold length.

The tensile specimens Young's Moduli $E_{R1\,tens}$ and $E_{R0\,tens}$ were evaluated during quasi-static uniaxial tensile tests on a MTS tensile machine.

3 Results

3.1 Reference values

The tensile results on the R_0 and R_1 flat specimens are presented in Figure 6b. Fitting a Neo-Hookean incompressible model onto the tensile curves for $\lambda_1 = \frac{L}{L_0} \in [1, 1.1]$ provides Young's moduli of $E_{R1\,tensile} = 74.7 \pm 2.3\ kPa$ and $E_{R0\,tensile} = 8.97 \pm 0.64\ kPa$ where the tolerance interval is given as twice the experimental STD (Table 1). The stiffness ratio $\frac{E_{R1\,tensile}}{E_{R0\,tensile}}$ is equal to 8.3.

The optically measured thicknesses $L_{R_1\,pic}$ of reference samples are presented in Table 2. Errors intervals are given as twice the experimental STD.

Flat tensile specimens	$\mathbf{E_{tensile}}$ (kPa)
R_0	**9.0** [8.3 , 9.6]
R_1	**74.7** [72.4 , 77.0]

Table 1 Reference values: identified Young Moduli from tensile test on flat specimens.

Aspiration specimens	R_1 layer thickness $L_{R_1\,pic}$
R_0	0 mm
A	1.08±0.064 mm
B	3.27±0.06 mm
C	6.22±0.055 mm
D	9.16±0.076 mm
E	11.75±0.05 mm
R_1	69 mm

Table 2 Reference values: layer thicknesses $L_{R_1\,pic}$ evaluated by an annex destructive measurement.

3.2 Aspiration settings

The cup was held into place while minimizing external loads applied to the cup thanks to a special 3D printed holder[f] (Figure 6a, applied to specimen A).

The volumes of air withdrawn from the reference and material lines ΔV was of 0.1 mL and kept identical for all the cups diameters D_i. A complete cycle (withdrawing and injecting ΔV) was of about 10 seconds. A total of 5 cycles were performed during each acquisition (intra-test reproducibility). Each test has been performed 2 to 3 times (inter-test reproducibility).

The pressure-pressure curve ΔP_{mat}-ΔP_{ref} was monitored during all the tests; tests with leakage were identified when pressure P_{mat} drifted cycle after cycle. Such tests were immediately discarded.

Only pressure signals obtained during ΔV withdrawing and for $\Delta V_{syringe} > 0.01$ mL were used to evaluate $Q_{i\,exp}$ (equation 6) to avoid impact of possible syringe piston asymmetrical behavior during movement inversion in the reference and material lines.

[f] 3D printer Prusa MK3S+

3.3 Constituent material apparent stiffnesses: $\left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{exp}$

The experimental constituent material apparent stiffnesses $\left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{exp}$ (equation 12) for each cycle are presented versus the aperture diameter D_i in Figure 7 a. Taking advantage that the thicknesses $L_{R1\,pic}$ are measured during an annex measurement (Table 2), the experimental constituent material apparent stiffness $\left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{exp}$ are also plotted versus the ratio $\frac{D_i}{L_{R1\,pic}}$ in Figure 7 b.

3.4 Optimal identified parameter θ and indifference regions

For illustration purpose, details of fitted curves and indifference regions are presented on sample B (Figure 8).

Aspiration results on specimens R_0 and R_1 for $P = 1$ are summarized in table 3 with direct comparisons to the tensile reference values.

		Aspiration test
$\mathbf{P = 1}$	σ^2	$\mathbf{E_{opt}}$ (kPa)
R_0	367	**11.7** (*+29.9%*) [11.5 , 11.9]
R_1	7.9	**78.9** (*+5.6%*) [78.7 , 79.1]

Table 3 Identified Young Moduli from aspiration data on homogeneous specimens for the $P = 1$-parameter model are in **bold**. The Relative Error (RE) between optimal aspiration and reference value is in (*italic*). Values in bracket are the minimum and maximum values of the indifference region at 95% for each parameter identified with aspiration.

Aspiration results on specimens A to B are summarized in table 4 for $P = 2$ and 3 with direct comparisons to the reference values.

A more global summary is graphically represented in Figure 9 to highlight the indifference regions variations depending on the tested sample (A to E) and value of parameter P. Results obtained on homogeneous samples ($P = 1$) and by tensile tests are reported as horizontal red, blue and black bands of twice the experimental STD (indifference regions at 95%).

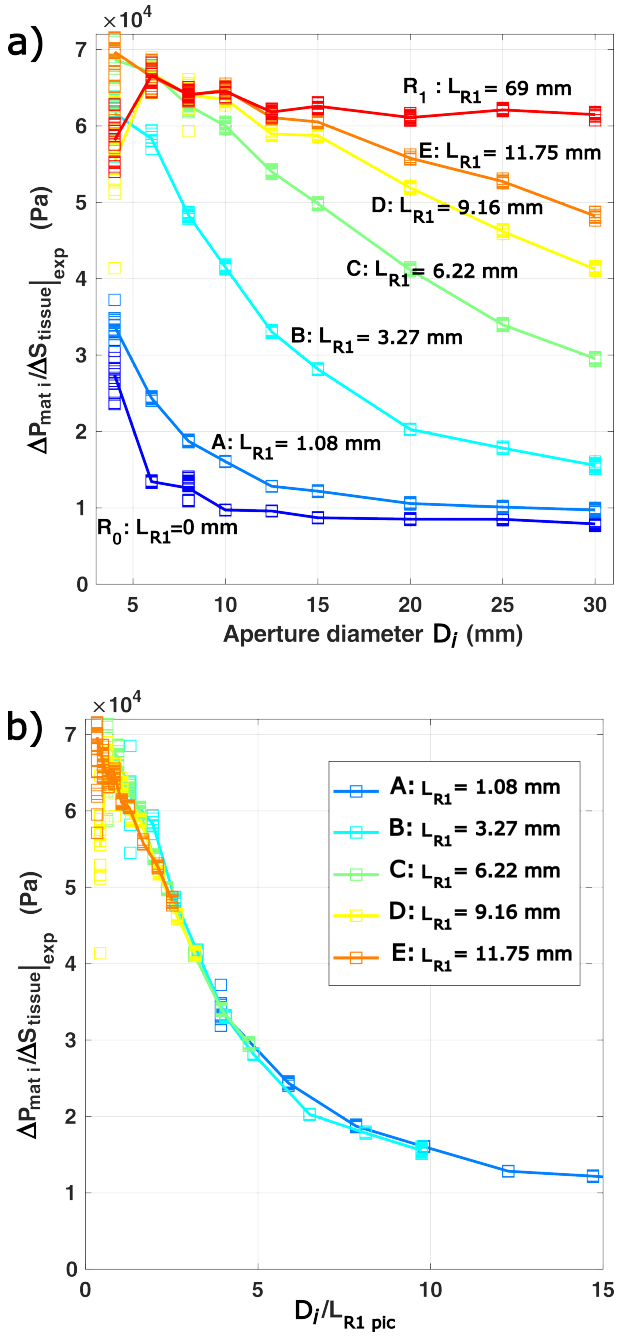

Fig. 7 Experimental results $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\big|_{exp}$ on bi-layered and homogenous specimens (Table 2): **subplot a)** Plot versus aperture diameter D_i, **subplot b)** Plot versus ratio $\frac{D_i}{L_{R1\,pic}}$ where $L_{R1\,pic}$ is evaluated during an annex destructive measurement.

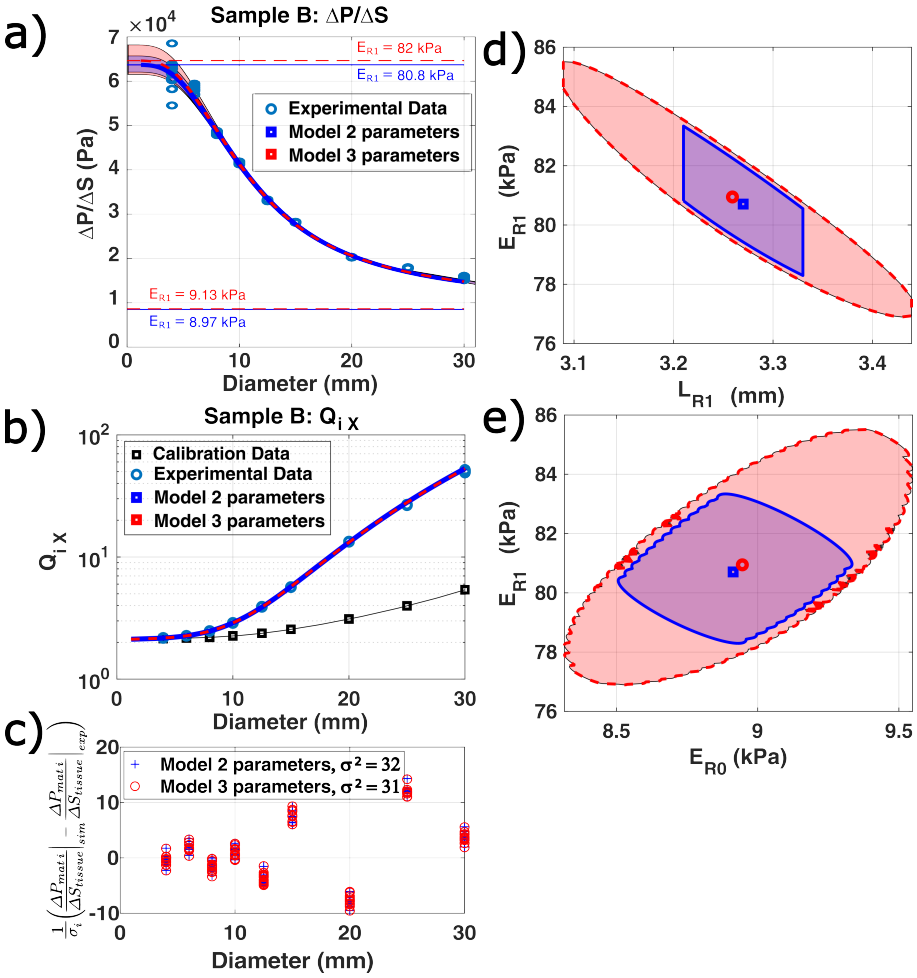

Fig. 8 Experimental data and inverse identification on sample B.
Subplot a) Experimental material apparent stiffnesses $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\big|_{exp}$, best fitted curves and swept area for parameters in the P-dimensional indifference region. For homogeneous samples, values of $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\big|_{sim}$ are independent on the aperture diameter. Such cases are represented as dashed horizontal lines corresponding to the optimal identified upper and lower material Young Moduli ($E_{R1\,opt}$ and $E_{R0\,opt}$).
Subplot b) Calibration $Q_{i\,cal}$ and experimental $Q_{i\,exp}$ values (equation 5) versus aperture diameter D_i. The calibration curve represents the aspiration results obtained onto an infinitely stiff material. Note that the ordinate is in log scale.
Subplot c) Optimized reducted error vectors $\frac{1}{\sigma_i}\left(\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\Big|_{exp} - \frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\Big|_{sim}\right)$ to compute Φ_0 (equation 13) for both $P = 2$ and $P = 3$-parameter models. Note that the error spread is similar for each diameter D_i thanks to the use of the weighting factor $\frac{1}{\sigma_i}$. The hypothesis of a disturbance with no bias is not experimentally met here, explaining the "unsatisfactory" value $\sigma^2 = 32$ for both $P = 2$ and $P = 3$-parameter models.
Subplots d) The markers and areas represent optimal identified Young moduli E_{R1} versus layer thickness L_{R_1} and associated indifference regions in the cases $P = 2$ (assuming a layer thickness $L_{R_1\,pic} = 3.27 \pm 0.05\ mm$, Table 2) and $P = 3$, respectively.
Subplots e) The markers and areas represent optimal identified Young moduli E_{R1} and E_{R0} and associated indifference regions in the cases $P = 2$ (assuming a layer thickness $L_{R_1\,pic} = 3.27 \pm 0.05\ mm$, Table 2) and $P = 3$, respectively. Such good areas overlaping is not met for all specimens and depends on the closeness between the optimal layer thickness L_{R_1} and actual layer thickness $L_{R_1\,pic}$.

P = 2	σ^2	$\mathbf{L_{R_1\,pic}}$ (mm)	$\mathbf{E_{R_1\,opt}}$ (kPa)	$\mathbf{E_{R_0\,opt}}$ (kPa)
A	71	**1.08**±0.064	**96.4** (*+29.1%*) [81.3 , 113.2.0]	**8.8** (*-2.5%*) [8.4 , 9.1]
B	32	**3.27**±0.060	**80.7** (*+8.0%*) [78.3 , 83.3]	**8.9** (*-1.0%*) [8.5 , 9.3]
C	7	**6.22**±0.042	**80.0** (*+7.1%*) [79.6 , 80.9]	**12.0** (*33.8%*) [11.7 , 12.8]
D	15	**9.16**±0.076	**79.7** (*+6.7%*) [79.3 , 80.3]	**12.5** (*39.3%*) [11.6 , 13.7]
E	10	**11.75**±0.050	**79.3** (*+6.1%*) [79.0 , 79.6]	**11.6** (*28.6%*) [10.3 , 13.2]
P = 3	σ^2	$\mathbf{L_{R_1\,opt}}$ (mm)	$\mathbf{E_{R_1\,opt}}$ (kPa)	$\mathbf{E_{R_0\,opt}}$ (kPa)
A	62	**1.51** (*+39.5%*) [1.51 , 1.76]	**57.5** (*-23.1%*) [46.82 , 76.2]	**8.4** (*-6.8%*) [7.9 , 8.9]
B	31	**3.26** (*-0.33%*) [3.09 , 3.44]	**80.9** (*+8.4%*) [77.0 , 85.5]	**8.9** (*-0.6%*) [8.3 , 9.5]
C	3	**5.52** (*-11.2%*) [5.39 , 5.67]	**83.2** (*+11.4%*) [82.4 , 84.0]	**15.3** (*+70.2%*) [14.5 , 16.04]
D	13	**8.37** (*-8.5%*) [7.55 , 9.08]	**80.7** (*+8.1%*) [79.7 , 82.1]	**16.5** (*+83.8%*) [12.8 , 20.9]
E	6	**8.85** (*-24.7%*) [7.91 , 9.66]	**80.9** (*+8.3%*) [80.2 , 81.8]	**27.8** (*+209.3%*) [23.4 , 32.7]

Table 4 Identification results for the $P = 2$ and $P = 3$-parameter models: the optimal value using aspiration data is in **bold**. The Relative Error (RE) between optimal aspiration and reference value is in (*italic*). Values in bracket are the minimum and maximum values of the indifference region at 95% for each parameter identified with aspiration. Color code: green if $|RE| < 15\%$, orange if $15\% < |RE| < 30\%$, red if $|RE| > 30\%$.

4 Discussion

Given that only two silicone mixes R_1 and R_0 were used, the stiffness ratio $\frac{E_{R1}}{E_{R0}} \approx 8.3$ is identical for aspiration specimens A to E.

- This corresponds to a unique curve of the FE database (equation 17). The database stiffnesses ratios range of $\frac{E_{R1}}{E_{R0}} \in [0.1\ 120]$ is thus overkill but was chosen to allow computation of large indifference regions and to anticipate application to human skin, with hypodermis tissues that are much softer than the dermis/epidermis layer.
- The experimental curves overlap in Figure 7b confirms this stiffness ratio uniqueness is also observed experimentally with the aspiration tests; this is a qualitative assessment of the experimental measurement quality of both $\left.\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\right|_{exp}$ and $L_{R1\,pic}$. Depending on the layer thickness L_{R1}, the aperture diameters from 4 to 30 mm extract different parts of the curve.

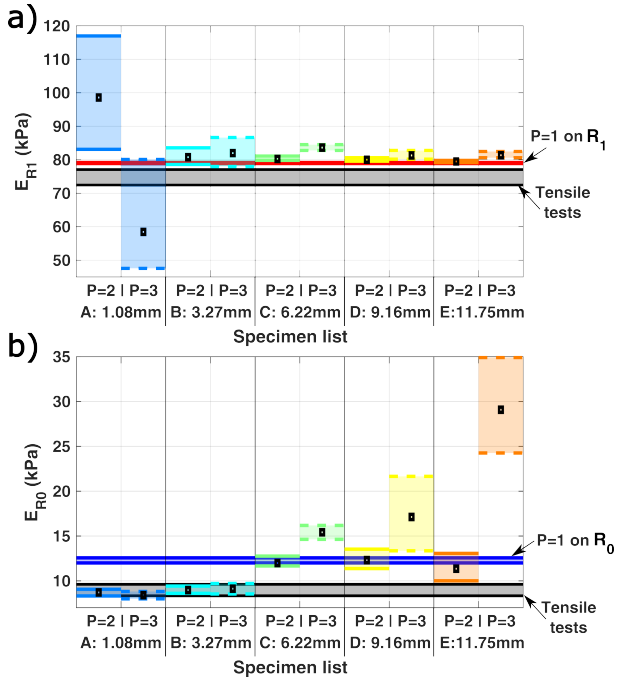

Fig. 9 Experimental indifference ranges on samples A to E:
Subplot a) Identification ranges for the upper layer R_1 using a $P = 2$ or $P = 3$-parameters model. The horizontal black band represents the tensile test indifference region at 95% (average $\pm$ 2 Std) on silicones R_1. The horizontal red band represents the 95% indifference region on aspiration using a $P = 1$-parameter model on the homogeneous sample R_1.
Subplot b) Identification ranges for the lower layer R_0 using a $P = 2$ or $P = 3$-parameters model. The horizontal black band represents the tensile test indifference region at 95% (average $\pm$ 2 Std) on silicones R_0. The horizontal blue band represents the 95% indifference region on aspiration using a $P = 1$-parameter model on homogeneous samples R_0.

4.1 Homogeneous aspiration samples, $P = 1$-parameter model:

Stiffer R_1 silicone: the measurement $\frac{\Delta P_{mati}}{\Delta S_{tissue}}\Big|_{exp}$ is almost independent on the aperture diameter D_i (Figure 7a, red curve) which is in accordance with theory for a upper layer thickness greater or equal to the maximal aperture diameter [15]. The aspiration test over-estimates the R_1 Young Modulus compared to the tensile result $E_{R1\,tensile}$ by 5.6% (Table 3), which is the same order of magnitude as in [30].

Softer R_0 silicone: The aspiration test with the $P = 1$-parameter model over-estimates the R_0 Young Modulus compared to the tensile one $E_{R0\,tensile}$

by 29.9%. The fitting score of $\sigma^2 = 367$ is far from the expected value of 1 (Table 3). This poor fitting score is due to the fact that the measurement $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\big|_{exp}$ increases for small D_i (Figure 7a, blue lowest curve). This behavior was not expected for an homogeneous sample. A possible explanation is that soft materials are very sensitive to normal loading applied to small cups [43]. Such an initial load makes the material surface to be curvaceous, which replaces some air into the cup by material before closing the system valve. The used calibration value $Q_{i\,cal}$, measured on a flat undeformable surface, is thus larger than reality. This bias induces an overestimation of the measurement $\frac{\Delta P_{mat\,i}}{\Delta S_{tissue}}\big|_{exp}$ (equation 8). This phenomena should yet be limited by the presence of the holding system (Figure 6a).

4.2 Bi-layer aspiration sample, $P = 2$ or 3-parameter models:

The computed indifference region sizes are in accordance with "ill-posedness" aspect of the tested case:

- Sample A has a very thin upper layer of 1.08 mm. Aperture diameters from 4 to 30 mm are thus well adapted to extract information about the lower layer stiffness E_{R_0}. Relative Errors with tensile test (-2.5 and -6.8% for $P = 2$ or $P = 3$-parameter models, respectively, table 4) and indifference regions lower than 1 kPa on E_{R_0} confirm this observation.

  The smallest aperture diameter being 4 times larger than the upper layer thickness, the upper modulus E_{R1} is the least well identified among the tested samples (relative error of $+29.1$ and -23.1% for $P = 2$ or $P = 3$-parameter models, respectively, table 4), which is pointed out by aspiration indifference region greater than 32 kPa on E_{R_1}.
- Sample B, with an upper layer of 3.27 mm is the most adapted among the made samples to provide both proper upper and lower layer moduli given

the used aperture diameters range ($|RE| < 15\%$ for all optimal values and for both $P = 2$ and 3-parameter models, table 4). The computed indifference regions are of about 5 kPa for the upper modulus E_{R1} and 1 kPa for the lower modulus E_{R0}. This highlights the identification robustness even though the residual error vector shows that hypotheses **H2** and **H3** are not experimentally met and $\sigma^2 = 31$ is far from the expected value of 1 (Figure 8c). The knowledge of the upper layer thickness is thus not mandatory when the layer thickness is well adapted to the used aperture diameter range.

- Samples C to E, with layers thicker than 6 mm, provide proper upper layer modulus E_{R1} identification and indifference regions of the order of 1 kPa for $P = 2$ or $P =$ 3-parameter models (RE lower than 15%); the upper layer thickness knowledge is not mandatory in this case.

  As expected, the lower layer modulus E_{R0} identifiability decreases as the upper layer thickness increases ($RE > 30\%$ and increasing with the layer thickness $L_{R_1\,pic}$), which is pointed out by indifference region increasing from 1 to 10 kPa. Knowing the upper layer thickness improves the identification but the RE remains around 30%.

From a practical point of view, the upper layer thickness knowledge is thus not mandatory: when this value is known ($P =$ 2-parameter model), the obtained RE is stabilized but not fully satisfactory for the lower layer modulus E_{R0} identification; identifications results are considered similar with both $P = 2$ and 3-parameter models.

5 Limitation/Perspectives

The current system hardware, experimental and identification method provide satifactory results. Some limitations and associated perspectives should be yet be mentioned in anticipation of application to skin measurements:

5.1 Hardware limitation

The same volume ΔV is cyclically withdrawn from the "Material line" for all aperture diameter D_i. The maximal shape reached for small cups is thus larger than for large diameters. This has no impact while analysing linear materials but should be taken into account while applying the method to non-linear materials (stiffening for example). Being able to adjust the withdwan volume ΔV with the diameter size would be advisable.

5.2 Protocole limitation

The aperture diameter is applied onto a flat surface and held in place with the lowest possible intial load. In any other case, the tissue sample will be initially curveous into the aspiration chamber. This would modify the reference air quantity into the systeme and associated calibration curve; a bias would be added to the experimental result. Morevoer, the surface curvature shall impact airthigness for large aperture diameter cups, preventing their use. Eventually, performing measurements *in vivo* will provide noisier data (breathing, muscle activation,*etc*) averaged over the cycles. These phenomena impact onto the whole identification process should be evaluated.

5.3 Inverse analyse limitation

Identification is performed using a linear model for both the system lines (including the tested tissue, equations 1 to 3), reducing the extracted mechanical parameters to the layers' Young Moduli. More complexe behavior should be considered to extract richer model parameters such as stiffening of the upper layer for example. Second, the two layer thickness is considered much bigger than the aperture diameter D_i. Such a parameter should be satisfied experimentally. If not, a FE database adapted to this situation should be evaluated.

6 Conclusion

A clinically friendly aspiration system has been developed. Cyclic partial vacuum is applied to the tested tissue to evaluate its apparent mechanical properties at very low deformation. The system aspiration cup can easily be switched for aperture diameters D_i between 4 and 30 mm. The developed identification method enables, almost in real-time, to

- identify mechanical Young moduli and the upper layer thickness of bi-layered structures using an off-line Finite Element database,
- evaluate indifference regions (prediction of standard deviation) for each identified parameter given the experimental results,

The system was tested *in silico* on controlled bilayer specimens for upper layer thicknesses from 1 to 12 mm. The bilayer sample with an upper layer of 3 mm presented the best parameter identifiability for both Young's moduli (relative errors lower than 10% compared to reference values obtained during tensile tests). The upper layer thickness was also identified with an error lower than 2%. On other upper layer thicknesses, identified results were of the proper order of magnitude. The obtained indifferences regions in each cases were rep-

resentative of the identification quality and "ill-posedness" of the experimental situation.

These results provide hope to apply the method to human skin for which the L_{layer} range is compatible (Bmode US scanner used to identify visually the dermis and hypodermis interface, 1.36 to 3.5 mm on head skin [16]).

7 Declarations

7.1 Conflicts of Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to infuence the work reported in this paper.

References

1. Y. Fung, *Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues*. Springer New York, 1981.
2. Y. Payan, ed., *Soft Tissue Biomechanical Modeling for Computer Assisted Surgery*. Springer Berlin, 2012.
3. A. E. Kerdok, M. P. Ottensmeyer, and R. D. Howe, "Effects of perfusion on the viscoelastic characteristics of liver," *Journal of Biomechanics*, vol. 39, no. 12, pp. 2221–2231, 2006.
4. M. P. Ottensmeyer, "In vivo measurement of solid organ visco-elastic properties," *Studies in health technology and informatics*, pp. 328–333, 2002.
5. A. Gefen and S. S. Margulies, "Are in vivo and in situ brain tissues mechanically similar?," *Journal of biomechanics*, vol. 37, no. 9, pp. 1339–1352, 2004.
6. E. Girard, G. Chagnon, E. Gremen, M. Calvez, C. Masri, J. Boutonnat, B. Trilling, and B. Nottelet, "Biomechanical behaviour of human bile duct wall and impact of cadaveric preservation processes.," *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 98, pp. 291–300, 2019.
7. S. Budday, G. Sommer, C. Birkl, C. Langkammer, J. Haybaeck, J. Kohnert, M. Bauer, F. Paulsen, P. Steinmann, E. Kuhl, *et al.*, "Mechanical characterization of human brain tissue," *Acta biomaterialia*, vol. 48, pp. 319–340, 2017.
8. C. Masri, G. Chagnon, D. Favier, H. Sartelet, and E. Girard, "Experimental characterization and constitutive modeling of the biomechanical behavior of male human urethral tissues validated by histological observations," *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, vol. 17, no. 4, pp. 939–950, 2018.

9. Z. Gao, K. Lister, and J. P. Desai, "Constitutive modeling of liver tissue: experiment and theory," *Annals of biomedical engineering*, vol. 38, no. 2, pp. 505–516, 2010.
10. R. Avazmohammadi, D. S. Li, T. Leahy, E. Shih, J. S. Soares, J. H. Gorman, R. C. Gorman, and M. S. Sacks, "An integrated inverse model-experimental approach to determine soft tissue three-dimensional constitutive parameters: application to post-infarcted myocardium," *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, vol. 17, no. 1, pp. 31–53, 2018.
11. T. K. Tonge, L. S. Atlan, L. M. Voo, and T. D. Nguyen, "Full-field bulge test for planar anisotropic tissues: Part i–experimental methods applied to human skin tissue," *Acta biomaterialia*, vol. 9, no. 4, pp. 5913–5925, 2013.
12. M. Diab, N. Kumaraswamy, G. P. Reece, S. E. Hanson, M. C. Fingeret, M. K. Markey, and K. Ravi-Chandar, "Characterization of human female breast and abdominal skin elasticity using a bulge test.," *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 103, p. 103604, 2020.
13. A. Samani, J. Zubovits, and D. Plewes, "Elastic moduli of normal and pathological human breast tissues: an inversion-technique-based investigation of 169 samples," *Physics in medicine & biology*, vol. 52, no. 6, p. 1565, 2007.
14. M. A. Cox, N. J. Driessen, R. A. Boerboom, C. V. Bouten, and F. P. Baaijens, "Mechanical characterization of anisotropic planar biological soft tissues using finite indentation: experimental feasibility," *Journal of biomechanics*, vol. 41, no. 2, pp. 422–429, 2008.
15. R. Zhao, K. L. Sider, and C. A. Simmons, "Measurement of layer-specific mechanical properties in multilayered biomaterials by micropipette aspiration," *Acta biomaterialia*, vol. 7, no. 3, pp. 1220–1227, 2011.

16. M. Xu and J. Yang, "Human facial soft tissue thickness and mechanical properties: a literature review," in *International Design Engineering Technical Conferences and Computers and Information in Engineering Conference*, vol. 57045, p. V01AT02A045, American Society of Mechanical Engineers, 2015.
17. S. Diridollou, F. Patat, F. Gens, L. Vaillant, D. Black, J. Lagarde, Y. Gall, and M. Berson, "In vivo model of the mechanical properties of the human skin under suction," *Skin Research and technology*, vol. 6, no. 4, pp. 214–221, 2000.
18. F. Hendriks, D. Brokken, C. Oomens, D. Bader, and F. Baaijens, "The relative contributions of different skin layers to the mechanical behavior of human skin in vivo using suction experiments," *Medical engineering & physics*, vol. 28, no. 3, pp. 259–266, 2006.
19. S. Badir, M. Bajka, and E. Mazza, "A novel procedure for the mechanical characterization of the uterine cervix during pregnancy," *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 27, pp. 143–153, 2013.
20. A. Nava, E. Mazza, M. Furrer, P. Villiger, and W. Reinhart, "In vivo mechanical characterization of human liver," *Medical image analysis*, vol. 12, no. 2, pp. 203–216, 2008.
21. V. Luboz, E. Promayon, and Y. Payan, "Linear elastic properties of the facial soft tissues using an aspiration device: towards patient specific characterization," *Annals of biomedical engineering*, vol. 42, no. 11, pp. 2369–2378, 2014.
22. M. Kauer, V. Vuskovic, J. Dual, G. Székely, and M. Bajka, "Inverse finite element characterization of soft tissues," *Medical Image Analysis*, vol. 6, no. 3, pp. 275–287, 2002.
23. P. Schiavone, F. Chassat, T. Boudou, E. Promayon, F. Valdivia, and Y. Payan, "In vivo measurement of human brain elasticity using a light

aspiration device," *Medical image analysis*, vol. 13, no. 4, pp. 673–678, 2009.

24. M. Hollenstein, G. Bugnard, R. Joos, S. Kropf, P. Villiger, and E. Mazza, "Towards laparoscopic tissue aspiration," *Medical image analysis*, vol. 17, no. 8, pp. 1037–1045, 2013.
25. J. Weickenmeier, M. Jabareen, and E. Mazza, "Suction based mechanical characterization of superficial facial soft tissues," *Journal of biomechanics*, vol. 48, no. 16, pp. 4279–4286, 2015.
26. B. Röhrnbauer, C. Betschart, D. Perucchini, M. Bajka, D. Fink, C. Maake, E. Mazza, and D. A. Scheiner, "Measuring tissue displacement of the anterior vaginal wall using the novel aspiration technique in vivo," *Scientific reports*, vol. 7, no. 1, pp. 1–7, 2017.
27. V. Vuskovic, *Device for in-vivo measurement of mechanical properties of internal human soft tissues*. PhD thesis, ETH Zurich, 2001.
28. P. Lakhani, K. K. Dwivedi, A. Parashar, and N. Kumar, "Non-invasive in vivo quantification of directional dependent variation in mechanical properties for human skin," *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 9, 2021.
29. S. A. Elahi, N. Connesson, and Y. Payan, "Disposable system for in-vivo mechanical characterization of soft tissues based on volume measurement," *Journal of Mechanics in Medicine and Biology*, vol. 18, no. 04, p. 1850037, 2018.
30. S. A. Elahi, N. Connesson, G. Chagnon, and Y. Payan, "In-vivo soft tissues mechanical characterization: volume-based aspiration method validated on silicones," *Experimental Mechanics*, vol. 59, no. 2, pp. 251–261, 2019.
31. K. Kappert, N. Connesson, S. Elahi, S. Boonstra, A. Balm, F. van der Heijden, and Y. Payan, "In-vivo tongue stiffness measured by aspiration: Resting vs general anesthesia," *Journal of biomechanics*, vol. 114, p. 110147,

2021.

32. G. G. Barbarino, M. Jabareen, and E. Mazza, "Experimental and numerical study on the mechanical behavior of the superficial layers of the face," *Skin Research and Technology*, vol. 17, no. 4, pp. 434–444, 2011.
33. D. Sachs, A. Wahlsten, S. Kozerke, G. Restivo, and E. Mazza, "A biphasic multilayer computational model of human skin," *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, vol. 20, no. 3, pp. 969–982, 2021.
34. M. A. Nazari, P. Perrier, M. Chabanas, and Y. Payan, "Simulation of dynamic orofacial movements using a constitutive law varying with muscle activation," *Computer methods in biomechanics and biomedical engineering*, vol. 13, no. 4, pp. 469–482, 2010.
35. M. Pensalfini, J. Weickenmeier, M. Rominger, R. Santoprete, O. Distler, and E. Mazza, "Location-specific mechanical response and morphology of facial soft tissues," *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 78, pp. 108–115, 2018.
36. A. Mîra, A.-K. Carton, S. Muller, and Y. Payan, "A biomechanical breast model evaluated with respect to mri data collected in three different positions," *Clinical Biomechanics*, vol. 60, pp. 191–199, 2018.
37. E. Mukhina, P.-Y. Rohan, N. Connesson, and Y. Payan, "Calibration of the fat and muscle hyperelastic material parameters for the assessment of the internal tissue deformation in relation to pressure ulcer prevention," *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, vol. 23, no. sup1, pp. S197–S199, 2020.
38. M. Bucki, V. Luboz, A. Perrier, E. Champion, B. Diot, N. Vuillerme, and Y. Payan, "Clinical workflow for personalized foot pressure ulcer prevention," *Medical engineering & physics*, vol. 38, no. 9, pp. 845–853, 2016.
39. D. G. W. Douglas M. Bates, *Nonlinear Regression Analysis and Its Applications*. John Wiley & Sons, Inc, 1988.

40. D. W. Marquardt, "An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters," *Journal of the society for Industrial and Applied Mathematics*, vol. 11, no. 2, pp. 431–441, 1963.
41. G. Aversano, A. Bellemans, Z. Li, A. Coussement, O. Gicquel, and A. Parente, "Application of reduced-order models based on pca & kriging for the development of digital twins of reacting flow applications," *Computers & Chemical Engineering*, vol. 121, pp. 422–441, 2019.
42. T. Aoki, T. Ohashi, T. Matsumoto, and M. Sato, "The pipette aspiration applied to the local stiffness measurement of soft tissues," *Annals of biomedical engineering*, vol. 25, no. 3, pp. 581–587, 1997.
43. B. Müller, J. Elrod, M. Pensalfini, R. Hopf, O. Distler, C. Schiestl, and E. Mazza, "A novel ultra-light suction device for mechanical characterization of skin," *PloS one*, vol. 13, no. 8, p. e0201440, 2018.

3.1.4 Conclusion

En conclusion de cet article, on peut dire que les résultats obtenus à partir de cette méthode d'aspiration sont très encourageants. En effet, pour une épaisseur de couche supérieure d'environ 3 mm (ce qui peut être représentatif de beaucoup de tissus biologiques si cette couche supérieure modélise la peau), les modules de Young identifiés par aspiration sur un échantillon bicouche présentent une erreur relative inférieure à 10% par rapport aux valeurs de référence obtenues par des méthodes de caractérisation plus conventionnelles. Si l'épaisseur de la couche supérieure n'est pas connue et doit être identifiée, une erreur inférieure à 2% est obtenue pour cette épaisseur, ce qui est également très encourageant. Dans la gamme de tests réalisés, l'analyse inverse permet l'identification simultanée de deux ou trois paramètres, à savoir les deux modules de Young et éventuellement l'épaisseur de la couche supérieure. Ceci permet d'envisager l'application de cette méthode à des structures *in vivo* considérées comme bicouches, telle que la peau + l'hypoderme si l'on s'intéresse au visage humain [Luboz et al., 2014] ou la peau + le complexe fibroglandulaire (graisse, tissu fibreux et glande) si l'on étudie le sein (cf. 3.2Mesure *in vivo* de la raideur des tissus du sein utilisant un dispositif l'aspiration).

3.2 Mesure *in vivo* de la raideur des tissus du sein utilisant un dispositif l'aspiration

3.2.1 Introduction à l'article

Suite aux résultats très encourageants de l'article précédent, il a été possible de passer à une application sur les tissus humains pour déterminer les propriétés mécaniques *in vivo* de tissus biologiques d'une manière non invasive. La méthode a été testée pour la première fois dans une version monocouche du dispositif d'aspiration sur les tissus mous du visage [Luboz et al., 2014] et sur la langue [Kappert et al., 2021]. Dans le cadre de cette thèse, la méthode est évaluée sur le sein, dans sa version bicouche. Un protocole expérimental a ainsi été défini pour application sur un nombre limité de volontaires sains.

L'article présenté ci-dessous approxime le sein en deux matériaux (la peau et les tissus fibro-glandulaires (graisse, tissu fibreux et glande) qui comprennent la glande mammaire et les tissus adipeux) et vise une preuve de concept de notre méthodologie pour estimer les modules de Young des deux couches correspondantes.

3.2.2 Résumé en français

Cet article aborde la question de la mesure *in vivo* de la rigidité des tissus mammaires. Cette question n'a quasiment pas de réponse aujourd'hui, en dehors de l'imagerie élastographique qui reste difficile à utiliser au quotidien par les cliniciens, pour les différentes raisons évoquées en début de chapitre. L'estimation de la rigidité des tissus sujet-spécifique est en effet très demandé, aussi bien en termes cliniques (cf. la palpation qui permet dans certains cas de détecter une tumeur), qu'en termes de simulation numérique avec le développement d'un grand nombre de modélisations de seins par éléments finis (EF).

Cet article propose d'utiliser le dispositif d'aspiration présenté ci-dessus, en contact avec la surface du sein, et d'estimer la rigidité des tissus à partir d'un modèle EF couplé à une analyse inverse de l'expérience d'aspiration. La méthode suppose que les tissus mammaires sont une structure bicouche composée de tissus fribroglandulaires (couche inférieure), au-dessus desquels se trouve la peau (couche supérieure). Les modules de Young des deux couches sont alors estimés sur la base de la répétition d'aspirations locales des tissus mammaires à l'aide de coupelles de différents diamètres.

Sept volontaires ont participé à cette étude pilote dans le cadre d'un protocole validé par le comité d'éthique pluridisciplinaire de l'Université Grenoble Alpes (accord CERNI N° 2013-11-19-30). Les mesures ont été effectuées dans un délai considéré comme raisonnable par les volontaires, sans gêne perçue. Des modules de Young moyens de 56.3 ± 16.4 kPa et 3.04 ± 1.17 kPa ont respectivement été estimés pour la peau et le tissu fibroglandulaire. L'épaisseur de la peau a été mesurée grâce aux images échographiques acquises sur les trois zones du sein où l'aspiration a eu lieu.

3.2.3 Article

Clinical Biomechanics 99 (2022) 105743

Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Biomechanics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinbiomech

Original Articles

In vivo measurement of breast tissues stiffness using a light aspiration device

N. Briot *, G. Chagnon, N. Connesson, Y. Payan

Univ. Grenoble Alpes, CNRS, UMR 5525, VetAgro Sup, Grenoble INP, TIMC, 38000 Grenoble, France

ARTICLE INFO

Keywords:
Breast
In vivo stiffness estimation
Young modulus
Bilayer structure
Vlastic aspiration device

ABSTRACT

Background: This paper addresses the question of the in vivo measurement of breast tissue stiffness, which has been poorly adressed until now, except for elastography imaging which has shown promising results but which is still difficult for clinicians to use on a day-to-day basis. Estimating subject-specific tissue stiffness is indeed a critical area of research due to the development of a large number of Finite Element (FE) breast models for various medical applications.

Methods: This paper proposes to use an original aspiration device, put into contact with breast surface, and to estimate tissue stiffness using an inverse analysis of the aspiration experiment. The method assumes that breast tissue is composed of a bilayered structure made of fatty and fribroglandular tissues (lower layer) superimposed with the skin (upper layer). Young moduli of both layers are therefore estimated based on repeating low intensity suction tests (<40 mbar) of breast tissues using cups of 7 different diameters.

Findings: Seven volunteers were involved in this pilot study with average Young moduli of 56.3 kPa ± 16.4 and 3.04 kPa ± 1.17 respectively for the skin and the fatty and fibroglandular tissue. The measurements were carried out in a reasonable time scale (<60 min in total) without any discomfort perceived by the participants. These encouraging results should be confirmed in a clinical study that will include a much larger number of volunteers and patients.

1. Introduction

Over the last 20 years, biomechanical Finite Element (FE) modelling of human breast tissues has been investigated for various medical applications such as surgical procedure training (Babarenda Gamage et al., 2019), preoperative planning (Vavourakis et al., 2016; Weis et al., 2017), clinical biopsy (Tagliabue et al., 2019), image registration (Han et al., 2013), mammography (Chung et al., 2008), or image-guided surgery (Richey et al., 2021). The choice of appropriate constitutive equations associated with each breast tissue has strong consequences on numerical simulations. This was illustrated by Eder and colleagues who tested 12 material properties proposed in the literature to FE simulation models derived from prone MRI breast datasets of 18 female volunteers (Eder et al., 2014). The upright position of the breast was simulated for each model and then compared to the real breast geometry as collected on the volunteers in standing position. Distances between the breast surfaces simulated with various constitutive laws could reach a maximum of 3 cm, which illustrated how the numerical results are sensitive to material properties (Eder et al., 2014 - Fig. 5).

Most FE models reported in the literature assume constitutive equations estimated from ex vivo experiments (see for example O'Hagan and Samani, 2009) and/or using an optimisation technique to identify the constitutive parameter values that allowed the FE model to reliably predict a number of gravity-loaded configurations of the breast acquired using 3D images (Rajagopal et al., 2008). Some of these constitutive parameters are reported in Gefen and Dilmoney (2007) Measuring the breast constitutive parameters in vivo seems, however, a prerequisite if a subject-specific clinical application based on FE simulations is targeted. The mechanical behaviour of living tissues varies significantly between in vivo and ex vivo conditions, for a number of reasons, including the lack of vascularisation and protein degradation of ex vivo tissues (Gefen and Margulies, 2004; Kerdok et al., 2006; Ottensmeyer, 2002; Girard et al., 2019). Moreover, for the same subject, a significant cyclic change in breast tissue elasticity has been demonstrated in phase with the menstrual cycle, with elasticity values that were highest among days 11 and 25 (+ 35%), and lowest (−29%) on Day 5 after onset of menses (Lorenzen et al., 2003).

Elastography is nowadays a well-established non-invasive technique

* Corresponding author.
E-mail address: noemie.briot@univ-grenoble-alpes.fr (N. Briot).

https://doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2022.105743
Received 1 August 2022; Accepted 12 August 2022
Available online 20 August 2022
0268-0033/© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

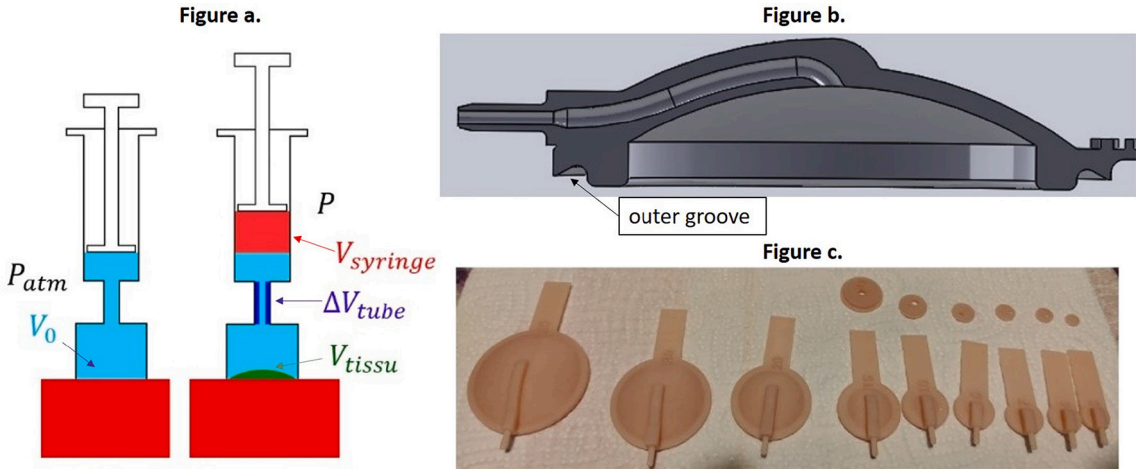

Fig. 1. VLASTIC device, with aspiration cups of various diameters; -a- functional sketch of the device -b- cross-section of a cup -c- all the different cup diameters available (from 30 mm to 4 mm).

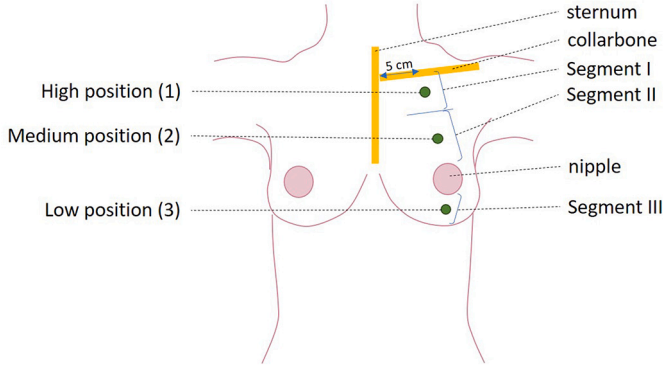

Fig. 2. Cups positions defined by anatomical markers.

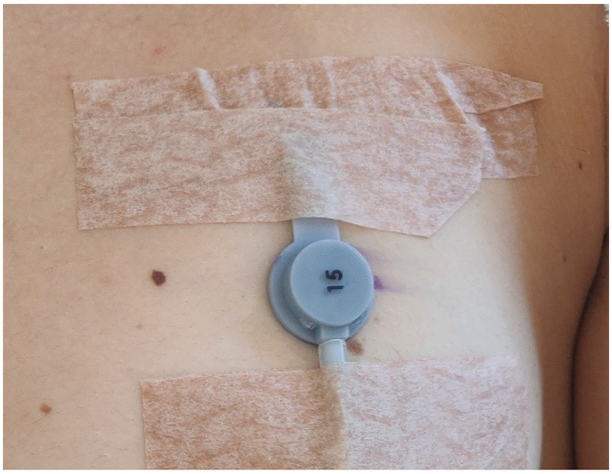

Fig. 3. 15 mm VLASTIC aspiration cup during measurement in position 1.

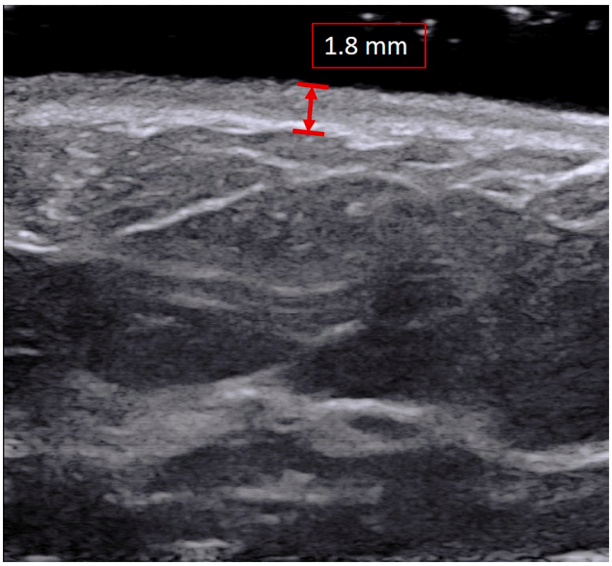

Fig. 4. Ultrasound measurement of skin thickness (upper layer).

Table 1
Skin thickness (upper layer) measurements on all volunteers.

Volunteer	Skin thickness [mm]		
	Position 1	Position 2	Position 3
1	1.2	1.7	1.8
2	1.4	1.7	1.4
3	1.7	1.7	2.1
4	1.8	2.0	1.7
5	2.1	2.3	2.5
6	2.0	2.2	2.4
7	1.7	1.7	1.4

to estimate in vivo the elasticity of the human breast soft tissues. The underlying idea consists in generating a mechanical wave inside the tissue and measuring the wave propagation speed, which can be related to tissue stiffness (equivalent Young modulus). Clinically available elastography techniques include US-based elastography such as transient elastography (TE) and point shear wave elastography (pSWE), and MR-elastography (MRE). In a recent review paper, Bohte et al. (2018) described current developments in the field of breast MRE and highlighted the variability of subject-specific tissue stiffness estimated from various studies of literature (with, for example, fibroglandular tissue shear moduli ranging between 0.85 and 10.8 kPa and fatty tissue shear moduli ranging between 0.43 and 8.5 kPa (Bohte et al., 2018)). Despite its high potential in the accurate estimation of subject-specific breast tissue stiffness, the MRE technique is still quite far from use in daily clinical practice. US-based elastography such as shear waves

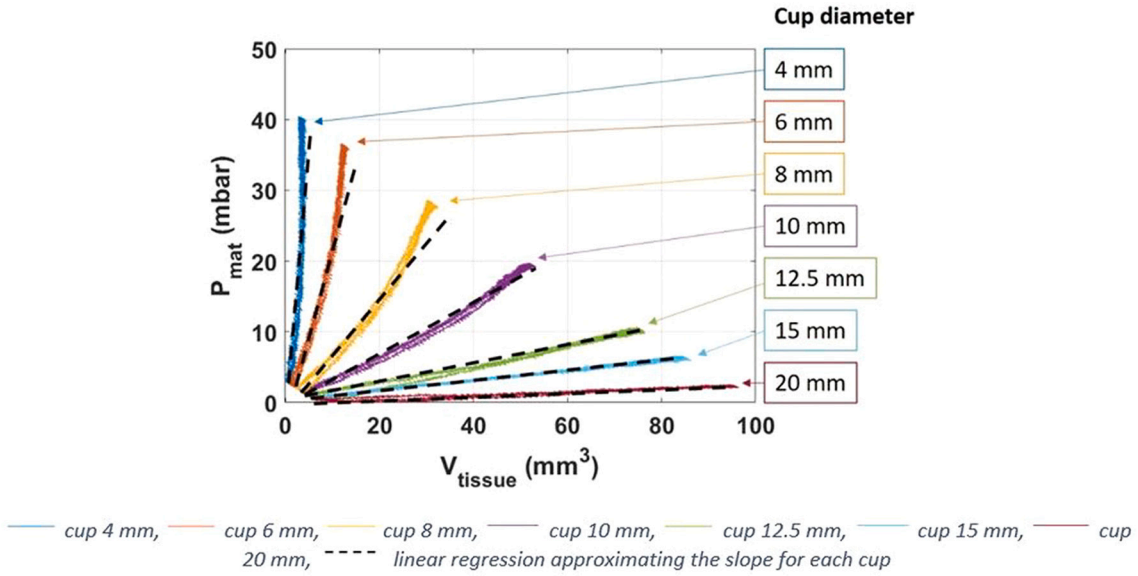

Fig. 5. Pressures measured as a function of the volume of material sucked in for the seven cups at position 2 of volunteer 6.

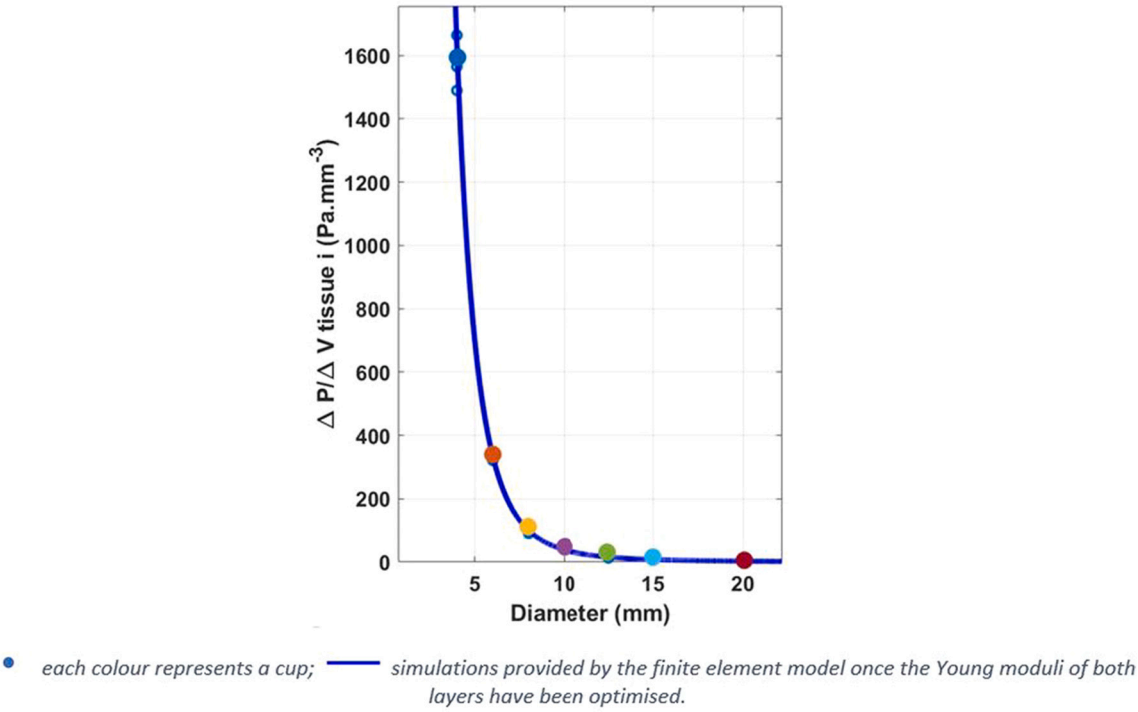

Fig. 6. Apparent stiffness $\Delta P/\Delta V$ estimated for each cup on the positioin 2 of volunteer 6.

elastography has probably an advantage over MRE by means of its availability and its lower cost. However, if we target the estimation of subject-specific breast tissue stiffness for many clinical applications, it might be relevant to propose a much lighter device that would not rely on any imaging modality. This approach has been studied by our group since 2009 using the aspiration technique. Such a technique consists of putting a chamber with an aperture in contact with the investigated tissue and in decreasing the pressure inside the chamber in order to mechanically load and test in suction the investigated zone. Because of the vacuum pressure, the portion of the tissue under the aperture is partially aspirated, with an amount of aspiration related to tissue stiffness. Our group recently proposed to use a light disposable aspiration system reduced to a simple tube with a customisable (in size, shape and material) head aperture, able to meet any required severe sterilisation process (Elahi et al., 2018; Elahi et al., 2019; Connesson et al., 2022 - under review). This method, called VLASTIC, has been validated by comparing its estimations of synthetic material stiffness with the ones measured with classical experimental tensile tests. This was done using homogenous silicone phantoms. Results obtained showed that errors in stiffness estimations remained below 7% (Elahi et al., 2019). The method has been used in a clinical pilot study to measure the tongue stiffness assuming an isotropic homogeneous material for tongue tissue (Kappert et al., 2021).

Recently, the VLASTIC method and device have been developed to address bilayer materials and were tested on bilayer phantoms (Connesson et al., 2022 - under review). The method provided correct

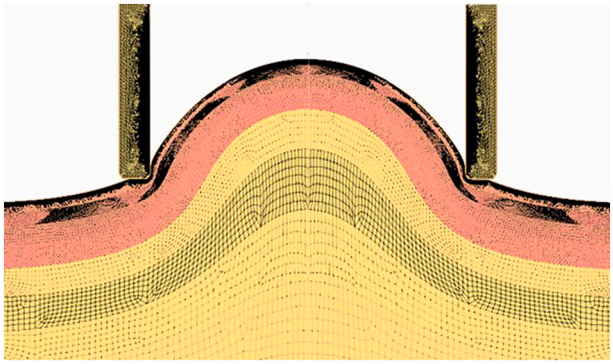

Fig. 7. Axisymmetric finite element model of the suction experiment (Connesson et al., 2022).

Table 2
Young moduli [kPa] of the upper (skin) and lower (fibroglandular tissue) layers estimated for the seven volunteers.

Volunteer	1	2	3	4	5	6	7
				Upper Layer (skin)			
Position 1	62.2	55.9	72.3	49.0	40.5	57.4	48.3
Position 2	106	87.9	120	64.2	55.1	70.3	109
Position 3	69.9	62.0	78.1	64.1	75.1	51.1	40.2
				Lower Layer (fibroglandular tissue)			
Position 1	3.19	2.57	3.52	4.39	3.02	5.41	3.45
Position 2	5.00	4.54	6.24	4.19	3.33	4.69	1.23
Position 3	4.42	3.70	4.91	2.81	2.33	3.16	0.45

stiffness estimation of both layers with the same order of error magnitude (around 15%). The objective of the present paper is to use the bilayer version of the VLASTIC method to estimate the breast tissue stiffness of seven healthy volunteers with measurements made in three regions of the breast. The organ was assumed as a bilayer structure with the top layer representing the skin and the underlying layer approximating the fatty and fibroglandular tissues. The VLASTIC method as well as the experimental set-up for the pilot study is described is Section 2 while Section 3 provides the breast tissue stiffness estimated for each volunteer.

2. Materials and methods

2.1. VLASTIC method

The VLASTIC device is made of a small syringe used to cyclically withdraw a known volume $V_{syringe}$ (Fig. 1 -a-), from a system composed of a manometer, a valve, connection tubes and a 3D printed resin cup of aspiration diameter D_i. This cup rests onto the tested material (breast skin here). The idea consists of measuring the negative pressure P and the corresponding removed volume $V_{syringe}$ during quasi-static cyclic tests. A parallel calibration procedure is used to evaluate the impact of the deformation of the system during a suction cycle. Different apertures can be used (resin cup of aspiration diameters Di varying between 4 and 30 mm, Fig. 1 -c-).

Once the Pressure-Tissue Volume curves are collected, an inverse analysis is performed using an axisymmetric Finite Element (FE) model (ANSYS software) to estimate the Young moduli of the bilayer structure (equivalent stiffness in small strains).

Assuming the breast tissue is made of two isotropic homogeneous materials, namely the skin (upper layer) and the fatty and fibroglandular tissues (lower layer), the FE model includes two incompressible Neo–Hookean materials (Treloar, 1943; Eq. (1)) with parameters C_{10Skin} and $C_{10Fat/Gland}$ (thus providing the equivalent Young moduli E_{Skin} and $E_{Fat/Gland}$ with $E = 6C_{10}$ in the framework of the quasi-incompressibility hypothesis). The calibration of the material parameters using the inverse analysis only concerns the coefficients of the bilayer structure material constitutive equation:

$$W_{Neo} = C_{10}(I_1 - 3) \tag{1}$$

The skin thickness is given as a parameter of the FE model and is measured by US echography.

2.2. Experimental protocol

Seven healthy women (age between 19 and 55 years old, BMI between 20.3 and 24.8 kg/mˆ2, bra cup between A and D) gave their informed consent to the experimental protocol of this pilot study, as

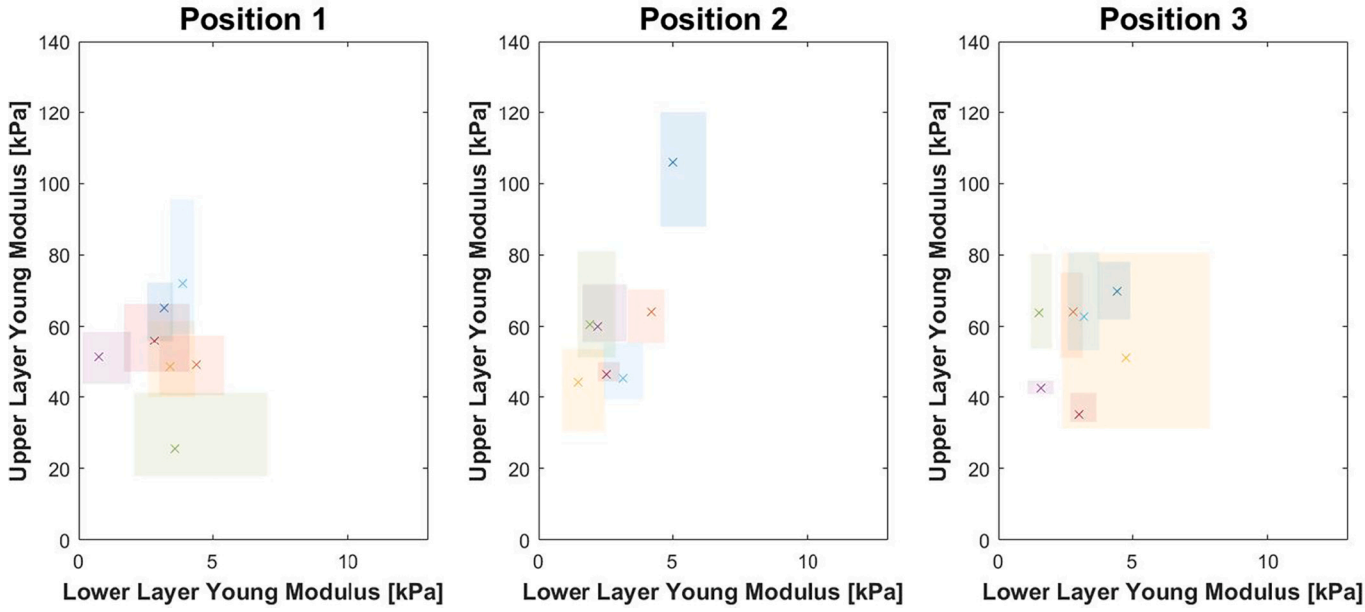

Fig. 8. Young moduli and their uncertainty zones estimated for the seven volunteers, for each of the three positions. x: Young modulus; Rectangular regions: uncertainty zones.

required by the Helsinki declaration (1964) and the local Ethics Committee (study agreement CERNI N° 2013-11-19-30). Three breast anatomical positions (high (1), medium (2) and low (3)) were tested on each volunteer (see Fig. 2). Seven cups with various diameters (4-6-8-10-12.5-15-20 mm) were used with subjects lying on a table in supine position. Subjects were requested to stay calm with a normal breathing, without talking during the measurements (the VLASTIC measurements are sensitive to any vibrations due to speech). Four successive measurements comprising each five aspiration cycles were collected for each position on the breast (the three positions being marked with a pencil cross).

During each measurement, the cups were carefully placed on the position markers. To prevent air leakage, ultrasound gel was put in the outer groove of the cup (visible in the cross-sectional view in Fig. 1 -b-) before applied onto the skin. Special care was taken to ensure that the gel does not get inside the cup. The cup was held in position using medical plasters placed at both ends of the cup as shown in Fig. 3. The plasters did not press on the cup and were only used to hold it in position. Once the tests had been carried out, the cup could be easily removed and the same protocol was applied for the next cup diameter.

3. Results

3.1. Skin thickness measurement through ultrasound

In order to estimate the Young modulus values of the two layers, it is necessary to know the thickness of the upper layer i.e. skin thickness here (the lower layer being considered infinitely thick). To achieve this, five ultrasound measurements (as shown in Fig. 4) were carried out for each position on all the volunteers. The measurements were accurate to $\pm 0.1mm$ (precision given by the ultrasound device).

Table 1 lists the skin thicknesses measured on the seven volunteers.

3.2. Estimations of skin and fibroglandular tissue stiffness

For each volunteer, all seven cups are used in each of the three positions. For each cup, a series of 5 suction cycles is performed. Fig. 5 plots all the pressure–volume cycles performed for the seven cups in one position.

A linear regression line of the Pressure/Volume curves is then modelled to approximate the apparent stiffness $\Delta P/\Delta V$ for each cup.

The cycles are very reproducible and a clear difference between cups is observed. Fig. 6 plots, for each cup (colour points), the apparent stiffness $\Delta P/\Delta V$ estimated by the linear regression taking all the curves in consideration.

An axisymmetric Finite Element model of the suction experiment is built (Fig. 7), in order to estimate the Young modulus of each layer of these sets of discrete measurements of apparent stiffness (colour points on Fig. 6). In practice, the optimisation process reduces CPU time by using a pre-calculated FE database gathering models and results created for specific ratio of layer thickness over cup sizes. The Young moduli of skin and fibroglandular tissue layers are optimised to best fit the experimental points, resulting into the blue curve in Fig. 6 (drawn for any cup size).

The Young moduli of skin and fibroglandular tissue obtained for the seven volunteers are shown in Table 2. A clear difference is observed between the moduli of the upper and lower layers. The average Young modulus of the upper layer is 56.3 kPa while the average for the lower layer is 3.04 kPa, with respective standard deviations of 16.4 and 1.17 kPa.

Connesson et al. (2022) (under revision) implemented a method based on indifference regions to quantify the uncertainty zone at 95% for each estimation of the Young modulus. Fig. 8 plots the Young moduli estimated from measurements of all volunteers for each of the 3 positions with the corresponding uncertainty zones.

4. Discussion/Conclusion

As a first result concerning this pilot study, it seems important to note that the measurements were carried out in a reasonable time scale (less than 20 min for each position) without any discomfort perceived by the participants. The estimations of the Young moduli for both layers (skin and fibroglandular tissues) gathered on Fig. 8 provide a clustering of the data that makes us confident about the results obtained. The mean Young moduli (for all participants and all positions) estimated for the breast skin are 56.3 kPa $\pm$ 16.4 and 3.04 kPa $\pm$ 1.17 for the fibroglandular tissue. Such values are coherent with the literature, with for example 58.4 kPa proposed for skin by Hendriks et al. (2006) and 2.6 kPa (Sinkus et al., 2005) or 3.6 kPa (Xydeas et al., 2005) proposed for the fibroglandular tissue. Another interesting result concerns the moduli estimated for the three positions. It seems that the fibroglandular tissue stiffness estimated for the medium position 2 is in most cases higher than stiffness estimated for positions 1 and 3. This result has to be studied further in order to see whether any anatomical/morphological explanation could be given to explain such a difference.

Looking into the details of the results, it appears that the non-linearity of the pressure/volume curves (Fig. 5) is more pronounced for smaller cups. This means that the linear regression with the estimation of the apparent stiffness is probably closer to the data for large diameter cups (with an overestimation of the apparent stiffness for smaller cups). It moreover strengthens the fact that the VLASTIC device should be used for small strains only with the estimation of the corresponding Young modulus. In addition to differences between the volunteers (age, weight, etc.) and measurement errors (leaks, poor positioning, etc.) that can explain the dispersion among results, one piece of data stands out (Fig. 8, right-hand graph) with an uncertainty zone that is much larger than the other ones. This is probably due to the fact that for this particular volunteer, it was difficult to seal the cups, which may result in a less repeatable initial pressure than for the other volunteers. Finally, we should acknowledge that a number of parameters can have a significant influence on the results, such as temperature, the presence of gel inside the cups or the movements of the volunteer during the measurements. The corresponding artefact can, however, be avoided by taking a few precautions during the experiment.

In conclusion, it appears that the VLASTIC device allows for relatively fast and non-invasive in vivo measurements of skin and fibroglandular breast stiffness. The preliminary results provided in this paper are encouraging but should be confirmed in a clinical study that will include a much larger number of volunteers and patients.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

Thanks to all the volunteers for allowing us to carry out this study.

References

Babarenda Gamage, T.P., Malcolm, D.T., Maso Talou, G., Mīra, A., Doyle, A., Nielsen, P. M., Nash, M.P., 2019. An automated computational biomechanics workflow for improving breast cancer diagnosis and treatment. Interface Focus 9 (4), 20190034.

Bohte, A., Nelissen, J., Runge, J., Holub, O., Lambert, S., de Graaf, L., Kolkman, S., Van Der Meij, S., Stoker, J., Strijkers, G., et al., 2018. Breast magnetic resonance elastography: a review of clinical work and future perspectives. NMR Biomed. 31 (10), e3932.

Chung, J.-H., Rajagopal, V., Nielsen, P.M., Nash, M.P., 2008. Modelling mammographic compression of the breast. In: International conference on medical image computing and computer-assisted intervention. Springer, pp. 758–765.

Connesson, N., Briot, N., Rohan, P., Barraud, P., Elahi, S., Payan, Y., 2022. Bi-layer stiffness identification of soft tissues by aspiration (https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03718672). Exp. Mech.

Eder, M., Raith, S., Jalali, J., Volf, A., Settles, M., Machens, H.-G., Kovacs, L., 2014. Comparison of different material models to simulate 3-d breast deformations using finite element analysis. Ann. Biomed. Eng. 42 (4), 843–857.
Elahi, S.A., Connesson, N., Payan, Y., 2018. Disposable system for in-vivo mechanical characterization of soft tissues based on volume measurement. J. Mech. Med. Biol. 18 (04), 1850037.
Elahi, S.A., Connesson, N., Chagnon, G., Payan, Y., 2019. In-vivo soft tissues mechanical characterization: volume-based aspiration method validated on silicones. Exp. Mech. 59 (2), 251–261.
Gefen, Amit, Dilmoney, Benny, 2007. Mechanics of the normal woman's breast. Technology and Health Care 15, 259–271. https://doi.org/10.3233/THC-2007-15404, 4, In press.
Gefen, A., Margulies, S.S., 2004. Are in vivo and in situ brain tissues mechanically similar? J. Biomech. 37 (9), 1339–1352.
Girard, E., Chagnon, G., Gremen, E., Calvez, M., Masri, C., Boutonnat, J., Trilling, B., Nottelet, B., 2019. Biomechanical behaviour of human bile duct wall and impact of cadaveric preservation processes. J. Mech. Behav. Biomed. Mater. 98, 291–300.
Han, L., Hipwell, J.H., Eiben, B., Barratt, D., Modat, M., Ourselin, S., Hawkes, D.J., 2013. A nonlinear biomechanical model based registration method for aligning prone and supine mr breast images. IEEE Trans. Med. Imaging 33 (3), 682–694.
Hendriks, F., Brokken, D., Oomens, C., Bader, D., Baaijens, F., 2006. The relative contributions of different skin layers to the mechanical behavior of human skin in vivo using suction experiments. Med. Eng. Phys. 28 (3), 259–266.
Kappert, K., Connesson, N., Elahi, S., Boonstra, S., Balm, A., van der Heijden, F., Payan, Y., 2021. In-vivo tongue stiffness measured by aspiration: Resting vs general anesthesia. J. Biomech. 114, 110147.
Kerdok, A.E., Ottensmeyer, M.P., Howe, R.D., 2006. Effects of perfusion on the viscoelastic characteristics of liver. J. Biomech. 39 (12), 2221–2231.
Lorenzen, J., Sinkus, R., Biesterfeldt, M., Adam, G., 2003. Menstrual-cycle dependence of breast parenchyma elasticity: estimation with magnetic resonance elastography of breast tissue during the menstrual cycle. Invest. Radiol. 38 (4), 236–240.
O'Hagan, J.J., Samani, A., 2009. Measurement of the hyperelastic properties of 44 pathological ex vivo breast tissue samples. Phys. Med. Biol. 54 (8), 2557.
Ottensmeyer, M.P., 2002. In vivo measurement of solid organ visco-elastic properties. Stud. Health Technol. Inform. 328–333.
Rajagopal, V., Lee, A., Chung, J.-H., Warren, R., Highnam, R.P., Nash, M.P., Nielsen, P. M., 2008. Creating individual-specific biomechanical models of the breast for medical image analysis. Acad. Radiol. 15 (11), 1425–1436.
Richey, W.L., Heiselman, J.S., Luo, M., Meszoely, I.M., Miga, M.I., 2021. Impact of deformation on a supine-positioned image-guided breast surgery approach. Int. J. Comput. Assist. Radiol. Surg. 16 (11), 2055–2066.
Sinkus, R., Tanter, M., Xydeas, T., Catheline, S., Bercoff, J., Fink, M., 2005. Viscoelastic shear properties of in vivo breast lesions measured by mr elastography. Magn. Reson. Imaging 23 (2), 159–165.
Tagliabue, E., Dall'Alba, D., Magnabosco, E., Tenga, C., Peterlik, I., Fiorini, P., 2019. Position-based modeling of lesion displacement in ultrasound-guided breast biopsy. Int. J. Comput. Assist. Radiol. Surg. 14 (8), 1329–1339.
Treloar, L., 1943. The elasticity of a network of long-chain molecules—ii. Trans. Faraday Soc. 39, 241–246.
Vavourakis, V., Eiben, B., Hipwell, J.H., Williams, N.R., Keshtgar, M., Hawkes, D.J., 2016. Multiscale mechano-biological finite element modelling of oncoplastic breast surgery—numerical study towards surgical planning and cosmetic outcome prediction. PloS one 11 (7), e0159766.
Weis, J.A., Miga, M.I., Yankeelov, T.E., 2017. Three-dimensional image-based mechanical modeling for predicting the response of breast cancer to neoadjuvant therapy. Comput. Methods Appl. Mech. Eng. 314, 494–512.
Xydeas, T., Siegmann, K., Sinkus, R., Krainick-Strobel, U., Miller, S., Claussen, C.D., 2005. Magnetic resonance elastography of the breast: correlation of signal intensity data with viscoelastic properties. Invest. Radiol. 40 (7), 412–420.

3.2.4 Conclusion

Cette étude a proposé un protocole expérimental de mesure *in vivo* des modules de Young des deux premières couches de tissus du sein, c'est-à-dire la peau et le tissu fibroglandulaire. Les mesures reposant sur une analyse inverse par EF ont permis d'estimer des modules de Young de 56.3 ± 16.4 kPa et 3.04 ± 1.17 kPa respectivement pour la peau et le tissu fibroglandulaire. Ces valeurs sont cohérentes avec les valeurs publiées dans la littérature [Hendriks et al., 2003, Sinkus et al., 2005, Xydeas et al., 2005]. Ces résultats sont à ce jour limités, car les tests n'ont été effectués que sur 7 volontaires. Néanmoins, les résultats sont très encourageants puisqu'en cohérence avec la littérature et puisque la méthode s'adapte à tous les volontaires sans aucune contre-indication.

3.3 Conclusion Chapitre 3

Ce chapitre a permis de mettre en lumière l'efficacité d'un dispositif de mesure très prometteur pour estimer les propriétés mécaniques d'un matériau bicouche de façon non invasive. Ce dispositif a dans un premier temps été validé sur des matériaux bicouches de raideurs connues. Dans un second temps, le dispositif a été appliqué de manière préliminaire sur les tissus du sein. Les résultats correspondants sont en accord avec la littérature et sont donc très encourageants puisqu'ils ouvrent de nouvelles voies pour la réalisation de mesures *in vivo*. La prochaine étape de ce processus est de mettre en place un protocole de mesure sur un grand nombre de patients/sujets d'âge, d'IMC ou encore d'origine ethnique différents afin de permettre une étude statistique de l'influence de chacun de ces paramètres. Cette étude est en cours et est réalisée en collaboration avec Martha Duares, gynécologue au CHU de Montpellier, qui a obtenu un accord CPP pour réaliser des mesures d'aspiration sur 200 patientes. Ces mesures viennent de se conclure et l'ensemble des données seront analysées dans les prochaines semaines.

4 Conclusion générale

Ce travail de thèse avait pour but de proposer une contribution à la caractérisation mécanique des seins pour fournir à la communauté des valeurs numériques pour les différents tissus constitutifs et rendre ainsi les simulations numériques plus fiables. Le travail de thèse s'est orienté en deux phases. La première phase a concerné le développement de méthodes de caractérisation mécanique *ex vivo*, c'est-à-dire *post mortem*, et la seconde phase s'est focalisée sur les méthodes *in vivo* et *in situ*, donc non invasives et non destructrices.

Lors de la première partie de la thèse, deux aspects de caractérisation *post mortem* ont été développés. Le premier concernait l'utilisation d'une méthode de caractérisation mécanique classique, en l'occurrence des essais de traction uniaxiale. Ces tests ont été réalisés sur une partie de la structure interne du sein, les ligaments de Cooper. Les résultats obtenus ont mis en évidence la disparité des raideurs entre les ligaments pour un même sujet anatomique. Ces disparités d'un ligament à l'autre concernaient aussi bien l'élasticité initiale du tissu que le raidissement du tissu à déformation plus importante. Les modèles hyperélastiques existants ont montré leurs limites pour décrire le comportement de ces tissus. Il a donc été proposé une nouvelle loi hyperélastique avec peu de paramètres, reposant sur une loi puissance. Cette loi a été identifiée sur l'ensemble des données expérimentales obtenues et des jeux de paramètres moyens ont été proposés pour les futures simulations par éléments finis intégrant les ligaments de Cooper.

Le deuxième aspect de caractérisation *post mortem* concernait la compressibilité des tissus mous du sein. Ces tissus sont en effet souvent considérés comme quasi incompressibles dans les travaux de la littérature alors qu'aucune preuve expérimentale fiable n'a été jusqu'à présent fournie. En premier lieu, il a alors été nécessaire de concevoir un dispositif de mesure de la compressibilité des tissus. En effet, il n'existait jusque-là aucun moyen de mesurer de façon fiable la compressibilité de matériaux tels que les tissus mous humains. Un dispositif a donc été conçu et testé (avec succès) sur des matériaux industriels afin de prouver que son utilisation était applicable aux tissus humains. Dans un deuxième temps, les tissus mous du sein ont pu être testés. Ainsi, le coefficient de compressibilité et une estimation du coefficient de Poisson ont pu être proposés pour des échantillons de peau, de glande mammaire et de graisse.

Au cours de la deuxième partie de cette thèse, un des aspects de la caractérisation *in vivo* et *in situ* des tissus mous mammaires a été développé. Cette deuxième partie s'est déroulée en deux temps. Tout d'abord, un dispositif de mesure des modules de Young d'un matériau mou supposé bicouche a été développé, reposant sur une technique d'aspiration. Les tests effectués avec ce dispositif sur des silicones, dont les modules des deux couches le composant étaient connus, a permis de prouver le bon fonctionnement du dispositif. Suite à ces tests sur silicones, la deuxième partie de cette étude a pu être réalisée : des tests ont été conduits *in vivo* et *in situ* sur les seins de volontaires. Ainsi, une première estimation des modules de Young moyens de la peau et des tissus fibroglandulaires a été proposée pour les futures simulations par éléments finis.

Les résultats trouvés pour chacune des cinq études conduites au cours de ce travail de recherche sont une première pierre apportée à l'édifice de la recherche sur le comportement mécanique des tissus mous du sein. L'ensemble de ces résultats semble encourageant et mérite d'être poursuivi et amélioré.

Sur l'ensemble des trois sujets d'étude conduits durant cette thèse (les deux sujets *ex vivo* et le sujet *in vivo*), plusieurs poursuites pourront y être données. En ce qui concerne les tests de traction uniaxiale sur les ligaments de Cooper, la première étape pour poursuivre ce projet sera de réaliser un plus grand nombre de tests sur plusieurs corps différents. Ensuite, une étude de l'influence des modes de conservation pourra être conduite. Pour finir, en fonction des résultats obtenus sur l'influence potentielle des modes de conservation, une étude pourra être réalisée sur des tissus frais. Pour les mesures de compressibilité, le nombre de corps étudiés étant déjà de 8, il serait souhaitable d'étendre encore ce nombre pour pouvoir déduire des résultats obtenus une

étude statistique. Puis, tout comme pour les ligaments de Cooper, une étude sur l'influence du mode de conservation des corps sur la compressibilité des tissus du sein pourra être menée. En fonction de ces résultats, des tests sur des tissus frais pourront être envisagés. Pour ce qui est des tests d'aspiration conduits *in vivo*, des tests sur un grand nombre de personnes saines ont été réalisés afin de pouvoir en déduire une étude statistique. Enfin, des tests sur des personnes malades pourraient être envisagés afin de comparer les résultats avec ceux obtenus pour des personnes saines.

L'ensemble de ces travaux pourront permettre à notre équipe de recherche d'avancer sur l'amélioration et l'évaluation des modèles par EF du sein et ainsi faire progresser la recherche médicale.

5 Annexe - Estimation des coefficients de compressibilité de différents tissus mous

Le dispositif expérimental de compression hydrostatique peut être utilisé plus largement que dans le cadre des tissus du sein. En complément des résultats présentés dans le manuscrit, une étude préliminaire de mesure des coefficients de compressibilité, et par conséquent du coefficient de Poisson, de différents tissus biologiques mous, a été réalisée dans le cadre d'un stage de Master 2 que j'ai encadré au cours de ma troisième année de thèse.

Le but de ce stage de Master était d'utiliser le dispositif de compressibilité développé dans la thèse [Briot et al., 2022b] et de l'appliquer à d'autres tissus mous humains. Pour rappel, le principe est de placer un échantillon de volume connu dans une chambre de volume connu. La chambre est remplie d'un fluide de compressibilité connue puis elle est refermée. Ensuite, la variation du volume ainsi que la variation de pression dans la chambre sont monitorées pour mesurer le coefficient de compressibilité (chi_T). Enfin, le coefficient de Poisson est estimé à partir du module de Young du matériau (mesuré ou estimé à partir de données issues de la littérature).

Les tests menés sur les échantillons de sein ont montré l'importance du module de Young dans le calcul du coefficient de Poisson. Une limitation de l'étude de la thèse était la nécessité d'avoir recours à la littérature pour estimer les valeurs des modules de Young des tissus mous considérés. Au cours de ce stage de Master, il a été décidé de se focaliser sur des tissus où il était possible de réaliser des tests de compression hydrostatique, mais aussi des essais de traction uniaxiale afin de mesurer le module de Young des tissus.

Comme il a été montré dans Briot et al. [2022b] les essais de compressibilité ne nécessitent pas de géométrie précise des échantillons biologiques. En revanche, les essais de traction uniaxiale requièrent des découpes d'éprouvettes rectangulaires et homogènes (dimensions constantes et structures homogènes du matériau le long de l'éprouvette). Une liste de tissus biologique a été choisie pour ces mesures, respectant ces contraintes de découpes : foie, intestin, mésentère, œsophage et langue. Ces choix ont également été guidés par l'intérêt des projets en cours dans l'équipe Bioméca.

Les essais de traction sont réalisés sur une machine de test de traction/compression de type MTS modèle C42 503. Pour limiter les phénomènes viscoélastiques, les essais sont réalisés à une faible vitesse c.-à-d. 1%/s. Les courbes de traction des tissus biologiques n'étant pas linéaires, la même méthode que pour les ligaments de Cooper [Briot et al., 2022a] est utilisée (cf. 2. Chapitre 2 - Tests *ex vivo* réalisés au cours de cette thèse). Les courbes expérimentales sont modélisées par une loi de comportement de type Néo-Hookéen [Treloar, 1943]. Le module de Young est ensuite déduit du coefficient C_{10} de la loi néo-hookéenne ($E = 6 \times C_{10}$). Pour certains tissus, il peut exister une anisotropie en fonction de l'orientation du prélèvement effectué. Pour le mésentère, dont les fibres sont visibles à l'œil nu, des prélèvements parallèles et perpendiculaires à ces fibres ont été faits. Pour l'intestin, des échantillons ont été découpés dans le sens longitudinal et d'autres dans le sens radial. Pour le foie, seule la couche extérieure (incluant vraisemblablement la capsule de Glisson) a pu être découpée en éprouvette de traction, le reste du parenchyme hépatique étant trop fragile. L'œsophage a été découpé en deux parties (la muqueuse et la partie musculaire) puis testé dans un seul sens de sollicitation (longitudinal), faute de suffisamment d'échantillons. Enfin la langue a été testée uniquement dans le sens des fibres du muscle prélevé à cause, là aussi, d'un échantillon trop peu volumineux.

L'ensemble des échantillons ont été prélevés sur le même corps. Ce corps avait été formolé puis conservé +6°C. La formule utilisée pour le calcul du coefficient de Poisson n'est valable que pour des matériaux considérés comme isotropes. Or, certains matériaux testés ne le sont pas. Les résultats obtenus pour ces matériaux sont donc des *extremums* calculés à partir du sens des fibres et du sens perpendiculaire aux fibres.

Type de tissu	**Sens de traction**	**Nb tests**		**E [MPa]**		chi_T [$\times 10^{-4}$ **MPa**$^{-1}$]	
		Tract	**Comp**	**Moy**	**E.T.**	**Moy**	**E.T.**
Mésentère	//	2	2	0.41	0.01	8.21	1.17
	Ortho	2	2	0.26	0.07	8.21	1.17
Foie	–	4	6	0.92	0.41	5.68	0.53
Langue	–	1	1	0.36	–	7.06	–
Œsophage muqueuse	–	2	1	0.55	0.14	3.49	–
Œsophage muscle	–	5	1	3.56	3.38	11.4	–
Intestin	//	6	3	0.58	0.23	5.51	1.36
	Ortho	2	3	1.18	0.36	5.51	1.36
Type de tissu	**Sens de traction**			**ν valeur haute**		**ν valeur basse**	
				Moy	**E.T.** ($\times 10^{-6}$)	**Moy**	**E.T.** ($\times 10^{-6}$)
Mésentère	//			0.499944645	7.85	0.499941903	8.24
	Ortho			0.499973953	3.70	0.499954435	6.46
Foie	–			0.499951168	4.59	0.499874288	11.8
Langue	–			0.499957418	–	–	–
Œsophage muqueuse	–			0.499762838	–	0.499599421	–
Œsophage muscle	–			0.499966204	–	0.498679828	–
Intestin	//			0.499967793	7.94	0.499925850	18.3
	Ortho			0.499924633	1.86	0.499858188	35.0

TABLE 5 – Synthèse de l'ensemble des résultats obtenus sur les différents tissus mous testés (Tract : test de traction ; Comp : test de compressibilité)

Pour chacun des différents organes testés, on obtient un coefficient de compressibilité et un ou plusieurs coefficients de Poisson (dans le cas où des tests de traction suivant différents axes ont pu être réalisés). Une synthèse de l'ensemble des résultats est présentée dans le Tableau 5. Le mésentère a un coefficient de compressibilité de $8.21 \times 10^{-4} \pm 1.17 \times 10^{-4}$ MPa^{-1} et un coefficient de Poisson compris entre 0.499941903 et 0.499944645 pour la sollicitation parallèle au sens des fibres. On obtient un coefficient de Poisson compris entre 0.499954435 et 0.499973953 pour la sollicitation orthogonale au sens des fibres. Le foie a un coefficient de compressibilité de $5.68 \times 10^{-4} \pm 0.53 \times 10^{-4}$ MPa^{-1} et un coefficient de Poisson compris entre 0.499874288 et 0.499951168. La langue a un coefficient de compressibilité de 7.06×10^{-4} MPa^{-1} et un coefficient de Poisson de 0.499957418. Pour la muqueuse de l'œsophage, on a un coefficient de compressibilité de 3.49×10^{-4} MPa^{-1} et un coefficient de Poisson compris entre 0.499599421 et 0.499762838. Alors que pour le muscle de l'œsophage, on a un coefficient de compressibilité de 11.4×10^{-4} MPa^{-1} et un coefficient de Poisson compris entre 0.498679828 et 0.499966204. Enfin, l'intestin a un coefficient de compressibilité de $5.51 \times 10^{-4} \pm 1.36 \times 10^{-4}$ MPa^{-1} et un coefficient de Poisson compris entre 0.499925850 et 0.499967793 pour la sollicitation parallèle au sens des fibres. On obtient un coefficient de Poisson compris entre 0.499858188 et 0.499924633 pour la sollicitation orthogonale au sens des fibres.

L'ensemble des résultats obtenus restent précaires du fait du peu d'échantillons testés. Il est, toutefois, intéressant de souligner qu'il y a un facteur 3 entre le coefficient de compressibilité de la muqueuse de l'œsophage et celui du muscle de l'œsophage. Si on s'intéresse aux coefficients de Poisson directement, la partie muscle de l'œsophage est celle qui a le coefficient de Poisson le plus faible alors que le mésentère sollicité orthogonalement a lui le coefficient de Poisson le plus

élevé.

Si on compare les différents coefficients de compressibilité trouvés avec ceux mesurer sur les tissus du sein, on obtient du plus compressible au moins compressible l'ordre suivant :

— La muqueuse de l'œsophage (3.49×10^{-4} MPa^{-1})
— L'**eau** (4.59×10^{-4} MPa^{-1})
— L'intestin ($5.51 \times 10^{-4} \pm 1.36 \times 10^{-4}$ MPa^{-1})
— Le foie ($5.68 \times 10^{-4} \pm 0.53 \times 10^{-4}$ MPa^{-1})
— La **glande mammaire** ($6.01 \times 10^{-4} \pm 3.61 \times 10^{-4}$ MPa^{-1})
— La langue (7.06×10^{-4} MPa^{-1})
— La **graisse mammaire** ($7.61 \times 10^{-4} \pm 2.02 \times 10^{-4}$ MPa^{-1})
— Le mésentère ($8.21 \times 10^{-4} \pm 1.17 \times 10^{-4}$ MPa^{-1})
— La **peau du sein** ($8.27 \times 10^{-4} \pm 2.25 \times 10^{-4}$ MPa^{-1})
— Le muscle de l'œsophage (11.4×10^{-4} MPa^{-1})

En conclusion, cette étude a permis d'obtenir des résultats préliminaires sur des organes différents du sein. Une étude sur un nombre plus étendu d'échantillons permettra de confirmer ces premiers résultats qui semblent encourageants.

Références

Monaderm. Http ://Monaderm.Com/Produit/Cutometre-Dual-Mpa-580/.

Information hospitalière. Https ://Www.Informationhospitaliere.Com/Schema-de-La-Peau-Complet-et-Avec-Legende, 2021, July.

M. Abou Karam, E. Mukhina, N. Daras, I. Rivals, H. Pillet, W. Skalli, N. Connesson, Y. Payan, and P.-Y. Rohan. Reliability of b-mode ultrasound and shear wave elastography in evaluating sacral bone and soft tissue characteristics in young adults with clinical feasibility in elderly. *Journal of Tissue Viability*, 31(2) :245–254, 2022. doi : 10.1016/j.jtv.2022.02.003.

P. Agache. *Physiologie de la peau et explorations fonctionnelles cutanées Pierre Agache et al.* Edition Medicale International, 2000.

F. S. Azar, D. N. Metaxas, and M. D. Schnall. A finite element model of the breast for predicting mechanical deformations during biopsy procedures. In *Proceedings IEEE workshop on mathematical methods in biomedical image analysis. MMBIA-2000 (Cat. No. PR00737)*, pages 38–45. IEEE, 2000. doi : 10.1109/mmbia.2000.852358.

F. S. Azar, D. N. Metaxas, and M. D. Schnall. A deformable finite element model of the breast for predicting mechanical deformations under external perturbations. *Academic Radiology*, 8 (10) :965–975, 2001. doi : 10.1016/S1076-6332(03)80640-2.

G. G. Barbarino, M. Jabareen, and E. Mazza. Experimental and numerical study on the mechanical behavior of the superficial layers of the face. *Skin Research and Technology*, 17(4) : 434–444, 2011. doi : 10.1111/j.1600-0846.2011.00515.x.

A. Bel-Brunon, M. Coret, K. Bruyere-Garnier, and A. Combescure. Compared prediction of the experimental failure of a thin fibrous tissue by two macroscopic damage models. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 27 :262–272, 2013. doi : 10.1016/j.jmbbm.2013.05.019.

N. Briot, G. Chagnon, L. Burlet, H. Gil, E. Girard, and Y. Payan. Experimental characterisation and modelling of breast cooper's ligaments. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, pages 1–12, 2022a. doi : 10.1007/s10237-022-01582-5.

N. Briot, G. Chagnon, N. Connesson, T. Alonso, and Y. Payan. Development of an experimental device to measure compressibility coefficient of soft materials. *Submitted to Clinical Biomechanics*, 2022b.

J. Brum, M. Bernal, J.-L. Gennisson, and M. Tanter. In vivo evaluation of the elastic anisotropy of the human achilles tendon using shear wave dispersion analysis. *Physics in Medicine & Biology*, 59(3) :505, 2014. doi : 10.1088/0031-9155/59/3/505.

A. Brunon, K. Bruyere-Garnier, and M. Coret. Mechanical characterization of liver capsule through uniaxial quasi-static tensile tests until failure. *Journal of biomechanics*, 43(11) :2221–2227, 2010. doi : 10.1016/j.jbiomech.2010.03.038.

T. E. Carew, R. N. Vaishnav, and D. J. Patel. Compressibility of the arterial wall. *Circulation research*, 23(1) :61–68, 1968. URL `https://doi.org/10.1161/01.RES.23.1.61`.

J. Chen, K. Brandt, K. Ghosh, R. C. Grimm, K. J. Glaser, J. Kugel, and R. Ehman. Non compressive mr elastography of breasts. *Proceedings of the international society for magnetic resonance in medicine. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Salt Lake City, USA*, 2013.

A. P. Del Palomar, B. Calvo, J. Herrero, J. López, and M. Doblaré. A finite element model to accurately predict real deformations of the breast. *Medical engineering & physics*, 30(9) : 1089–1097, 2008. doi : 10.1016/j.medengphy.2008.01.005.

S. A. Elahi, N. Connesson, and Y. Payan. Disposable system for in-vivo mechanical characterization of soft tissues based on volume measurement. *Journal of Mechanics in Medicine and Biology*, 18(04) :1850037, 2018. doi : 10.1142/S0219519418500379.

S. A. Elahi, N. Connesson, G. Chagnon, and Y. Payan. In-vivo soft tissues mechanical characterization : volume-based aspiration method validated on silicones. *Experimental Mechanics*, 59(2) :251–261, 2019. doi : 10.1007/s11340-018-00440-9.

K. M. Gaskin, G. E. Peoples, and D. E. McGhee. The fibro-adipose structure of the female breast : A dissection study. *Clinical Anatomy*, 33(1) :146–155, 2020. doi : 10.1002/ca.23505.

A. Gefen and S. S. Margulies. Are in vivo and in situ brain tissues mechanically similar ? *Journal of biomechanics*, 37(9) :1339–1352, 2004. doi : 10.1016/j.jbiomech.2003.12.032.

E. Girard, G. Chagnon, E. Gremen, M. Calvez, C. Masri, J. Boutonnat, B. Trilling, and B. Nottelet. Biomechanical behaviour of human bile duct wall and impact of cadaveric preservation processes. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 98 :291–300, 2019. URL `https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.07.001`.

D. M. Harcourt, N. J. Rumsey, N. R. Ambler, S. J. Cawthorn, C. D. Reid, P. R. Maddox, J. M. Kenealy, R. M. Rainsbury, and H. C. Umpleby. The psychological effect of mastectomy with or without breast reconstruction : a prospective, multicenter study. *Plastic and reconstructive surgery*, 111(3) :1060–1068, 2003. doi : 10.1097/01.PRS.0000046249.33122.76.

F. Hendriks, D. v. Brokken, J. Van Eemeren, C. Oomens, F. Baaijens, and J. Horsten. A numerical-experimental method to characterize the non-linear mechanical behaviour of human skin. *Skin research and technology*, 9(3) :274–283, 2003. doi : 10.1016/j.medengphy.2005.07.001.

R. A. Jesinger. Breast anatomy for the interventionalist. *Techniques in vascular and interventional radiology*, 17(1) :3–9, 2014. doi : 10.1053/j.tvir.2013.12.002.

K. Kappert, N. Connesson, S. Elahi, S. Boonstra, A. Balm, F. van der Heijden, and Y. Payan. In-vivo tongue stiffness measured by aspiration : Resting vs general anesthesia. *Journal of biomechanics*, 114 :110147, 2021. URL `https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2020.110147`.

A. E. Kerdok, M. P. Ottensmeyer, and R. D. Howe. Effects of perfusion on the viscoelastic characteristics of liver. *Journal of Biomechanics*, 39(12) :2221–2231, 2006. URL `https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2005.07.005`.

T. A. Krouskop, T. M. Wheeler, F. Kallel, B. S. Garra, and T. Hall. Elastic moduli of breast and prostate tissues under compression. *Ultrasonic imaging*, 20(4) :260–274, 1998. doi : 10.1177/016173469802000403.

A. Lawrence, R. Muthupillai, P. Rossman, J. Smith, A. Manduca, and R. Ehman. Magnetic resonance elastography of the breast : preliminary experience. *Proceedings of the international society for magnetic resonance in medicine. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Sydney, Australia*, 1998.

X. Liang and S. Boppart. Biomechanical properties of.

V. Luboz, E. Promayon, and Y. Payan. Linear elastic properties of the facial soft tissues using an aspiration device : towards patient specific characterization. *Annals of biomedical engineering*, 42(11) :2369–2378, 2014. doi : 10.1007/s10439-014-1098-1.

C. Masri, G. Chagnon, D. Favier, H. Sartelet, and E. Girard. Experimental characterization and constitutive modeling of the biomechanical behavior of male human urethral tissues validated by histological observations. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 17(4) :939–950, 2018. doi : 10.1007/s10237-018-1003-1.

T. Matsumura, T. Umemoto, Y. Fujihara, E. Ueno, M. Yamakawa, T. Shiina, and T. Mitake. Measurement of elastic property of breast tissue for elasticity imaging. In *2009 IEEE International Ultrasonics Symposium*, pages 1451–1454. IEEE, 2009. doi : 10.1109/ULTSYM.2009.5442044.

A. L. McKnight, J. L. Kugel, P. J. Rossman, A. Manduca, L. C. Hartmann, and R. L. Ehman. Mr elastography of breast cancer : preliminary results. *American journal of roentgenology*, 178 (6) :1411–1417, 2002. doi : 10.2214/ajr.178.6.1781411.

K. Miller. Method of testing very soft biological tissues in compression. *Journal of biomechanics*, 38(1) :153–158, 2005. URL `https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2004.03.004`.

A. Mira. *Modèle biomécanique du sein pour l'évaluation de la compression et de la perception d'inconfort en mammographie*. PhD thesis, Université Grenoble Alpes (ComUE), 2018.

A. Mîra, A.-K. Carton, S. Muller, and Y. Payan. A biomechanical breast model evaluated with respect to mri data collected in three different positions. *Clinical Biomechanics*, 60 :191–199, 2018. doi : 10.1016/j.clinbiomech.2018.10.020.

D. Mohan and J. W. Melvin. Failure properties of passive human aortic tissue. ii—biaxial tension tests. *Journal of biomechanics*, 16(1) :31–44, 1983. doi : 10.1016/0021-9290(83)90044-1.

T. T. Mugea, M. A. Shiffman, et al. *Aesthetic surgery of the breast*. Springer, 2015. doi : 10.1007/978-3-662-43407-9.

F. H. Netter. *Atlas of human anatomy, Professional Edition E-Book : including NetterReference. com Access with full downloadable image Bank*. Elsevier health sciences, 2014.

T.-M. Nguyen, M. Couade, J. Bercoff, and M. Tanter. Assessment of viscous and elastic properties of sub-wavelength layered soft tissues using shear wave spectroscopy : theoretical framework and in vitro experimental validation. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, 58(11) :2305–2315, 2011. doi : 10.1109/TUFFC.2011.2088.

M. P. Ottensmeyer. In vivo measurement of solid organ visco-elastic properties. *Studies in health technology and informatics*, pages 328–333, 2002.

C. Pailler-Mattei, S. Bec, and H. Zahouani. In vivo measurements of the elastic mechanical properties of human skin by indentation tests. *Medical engineering & physics*, 30(5) :599–606, 2008. doi : 10.1016/j.medengphy.2007.06.011.

A. Samani, J. Bishop, M. J. Yaffe, and D. B. Plewes. Biomechanical 3-d finite element modeling of the human breast using mri data. *IEEE transactions on medical imaging*, 20(4) :271–279, 2001. doi : 10.1109/42.921476.

A. Samani, J. Zubovits, and D. Plewes. Elastic moduli of normal and pathological human breast tissues : an inversion-technique-based investigation of 169 samples. *Physics in medicine & biology*, 52(6) :1565, 2007.

Y. Sednieva, A. Viste, A. Naaim, K. Bruyère-Garnier, and L.-L. Gras. Strain assessment of deep fascia of the thigh during leg movement : an in situ study. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8 :750, 2020. doi : 10.3389/fbioe.2020.00750.

M. H. Sherebrin, J. E. Hegney, and M. R. Roach. Effects of age on the anisotropy of the descending human thoracic aorta determined by uniaxial tensile testing and digestion by naoh under load. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 67(8) :871–878, 1989. doi : 10.1139/y89-136.

R. Sinkus, J. Lorenzen, D. Schrader, M. Lorenzen, M. Dargatz, and D. Holz. High-resolution tensor mr elastography for breast tumour detection. *Physics in Medicine & Biology*, 45(6) : 1649, 2000. doi : 10.1088/0031-9155/45/6/317.

R. Sinkus, M. Tanter, T. Xydeas, S. Catheline, J. Bercoff, and M. Fink. Viscoelastic shear properties of in vivo breast lesions measured by mr elastography. *Magnetic resonance imaging*, 23(2) :159–165, 2005. URL `https://doi.org/10.1016/j.mri.2004.11.060`.

G. Sommer, D. C. Haspinger, M. Andrä, M. Sacherer, C. Viertler, P. Regitnig, and G. A. Holzapfel. Quantification of shear deformations and corresponding stresses in the biaxially tested human myocardium. *Annals of biomedical engineering*, 43(10) :2334–2348, 2015. doi : 10.1007/s10439-015-1281-z.

A. Srivastava, Y. Verma, K. Rao, and P. Gupta. Determination of elastic properties of resected human breast tissue samples using optical coherence tomographic elastography. *Strain*, 47(1) : 75–87, 2011. doi : 10.1111/j.1475-1305.2009.00627.x.

A. Sutradhar and M. J. Miller. In vivo measurement of breast skin elasticity and breast skin thickness. *Skin Research and Technology*, 19(1) :e191–e199, 2013. doi : 10.1111/j.1600-0846.2012.00627.x.

A. Tang, G. Cloutier, N. M. Szeverenyi, and C. B. Sirlin. Ultrasound elastography and mr elastography for assessing liver fibrosis : part 1, principles and techniques. *AJR. American journal of roentgenology*, 205(1) :22, 2015. doi : 10.2214/AJR.15.14552.

A. Thomas, T. Fischer, H. Frey, R. Ohlinger, S. Grunwald, J.-U. Blohmer, K.-J. Winzer, S. Weber, G. Kristiansen, B. Ebert, et al. Real-time elastography—an advanced method of ultrasound : first results in 108 patients with breast lesions. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology : The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 28(3) :335–340, 2006. doi : 10.1002/uog.2823.

L. Treloar. The elasticity of a network of long-chain molecules—ii. *Transactions of the Faraday Society*, 39 :241–246, 1943. URL `https://doi.org/10.1039/TF9433900241`.

T. Umemoto, E. Ueno, T. Matsumura, M. Yamakawa, H. Bando, T. Mitake, and T. Shiina. Ex vivo and in vivo assessment of the non-linearity of elasticity properties of breast tissues for quantitative strain elastography. *Ultrasound in medicine & biology*, 40(8) :1755–1768, 2014. doi : 10.1016/j.ultrasmedbio.2014.02.005.

E. E. Van Houten, M. M. Doyley, F. E. Kennedy, J. B. Weaver, and K. D. Paulsen. Initial in vivo experience with steady-state subzone-based mr elastography of the human breast. *Journal of Magnetic Resonance Imaging : An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 17(1) :72–85, 2003. doi : 10.1002/jmri.10232.

F. Velardi, F. Fraternali, and M. Angelillo. Anisotropic constitutive equations and experimental tensile behavior of brain tissue. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 5(1) :53–61, 2006. doi : 10.1007/s10237-005-0007-9.

P. Wellman, R. D. Howe, E. Dalton, and K. A. Kern. Breast tissue stiffness in compression is correlated to histological diagnosis. *Harvard BioRobotics Laboratory Technical Report*, 1, 1999.

S. Woo and R. Levine. Ligament, tendon and fascia. *Handbook of biomaterial properties*, pages 59–65, 1998. doi : 10.1007/978-1-4615-5801-9_6.

J. Z. Wu, R. G. Cutlip, M. E. Andrew, and R. G. Dong. Simultaneous determination of the nonlinear-elastic properties of skin and subcutaneous tissue in unconfined compression tests. *Skin Research and Technology*, 13(1) :34–42, 2007. doi : 10.1111/j.1600-0846.2007.00182.x.

T. Xydeas, K. Siegmann, R. Sinkus, U. Krainick-Strobel, S. Miller, and C. D. Claussen. Magnetic resonance elastography of the breast : correlation of signal intensity data with viscoelastic properties. *Investigative radiology*, 40(7) :412–420, 2005. doi : 10.1097/01.rli.0000166940.72971.4a.

M. Zain-Ul-Abdein, F. Morestin, L. Bouten, J. Cornolo, et al. Numerical simulation of breast deformation under static conditions. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 16(S1) :50–51, 2013. doi : 10.1080/10255842.2013.815857.