



**HAL**  
open science

# Innovations en élastographie ultrasonore pour la quantification des propriétés mécaniques du muscle squelettique

Ha Hien Phuong Ngo

► **To cite this version:**

Ha Hien Phuong Ngo. Innovations en élastographie ultrasonore pour la quantification des propriétés mécaniques du muscle squelettique. Physique Médicale [physics.med-ph]. Université Paris-Saclay, 2023. Français. NNT : 2023UPAST117 . tel-04306627

**HAL Id: tel-04306627**

**<https://theses.hal.science/tel-04306627>**

Submitted on 25 Nov 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.

# Innovations en élastographie ultrasonore pour la quantification des propriétés mécaniques du muscle squelettique

*Innovation in ultrasound elastography for the quantification  
of skeletal muscle mechanical properties*

**Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay**

École doctorale n° 575, Electrical, optics and bio : physics and engineering (EOBE)  
Spécialité de doctorat : Physique et imagerie médicale  
Graduate school : Sciences de l'ingénierie et des systèmes  
Réfèrent : Faculté des sciences d'Orsay

Thèse préparée dans le **Laboratoire d'Imagerie Biomédicale Multimodale  
Paris Saclay** (Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, Inserm), sous la direction  
de **Jean-Luc GENNISSON**, directeur de recherche

**Thèse soutenue à Paris-Saclay, le 11 Octobre 2023, par**

**Ha Hien Phuong NGO**

## Composition du Jury

Membres du jury avec voix délibérative

### **Marie POIRIER-QUINOT**

Professeure,  
Université Paris-Saclay

Présidente

### **Jonathan VAPPOU**

Chargé de recherche, HDR  
CNRS, IHU de Strasbourg,  
RDH/ICube

Rapporteur & Examineur

### **Samuel CALLE**

Professeur,  
Université de Tours

Rapporteur & Examineur

### **Christophe CORNU**

Professeur,  
Université de Nantes

Examineur

### **Christophe FRASCHINI**

Directeur R&D,  
Supersonic Imagine

Examineur

**Titre :** Innovation en élastographie ultrasonore pour la quantification des propriétés mécaniques du muscle squelettique

**Mots clés :** Elastographie, ultrasons, imagerie, muscle, anisotropie, non linéarité

**Résumé :** L'élastographie ultrasonore par ondes de cisaillement est devenue populaire dans les sciences fondamentales et cliniques.

Tirant parti d'une technologie d'échographie ultrarapide innovante, cette technique fournit une mesure précise des propriétés mécaniques locales des tissus biologiques en se basant sur la mesure de la vitesse des ondes de cisaillement.

L'élastographie a montré un potentiel pour le diagnostic de diverses pathologies dans lesquelles la rigidité des tissus est altérée, comme le cancer du sein ou la fibrose hépatique.

Cependant, les techniques actuellement commercialisées ont été développées pour les organes considérés comme élastiques isotropes. Pour les tissus anisotropes, viscoélastiques et non linéaires, tels que les muscles, l'élastographie présente des inconvénients qui limitent ses applications.

Les objectifs de cette thèse ont été de développer de nouveaux biomarqueurs innovants en élastographie pour prendre en compte la complexité des propriétés mécaniques tridimensionnelles du muscle.

Deux axes principaux ont été abordés : le premier axe s'est focalisé sur une séquence ultrasonore innovante pour fournir une mesure précise de l'anisotropie viscoélastique musculaire dans un seul plan d'imagerie. Le deuxième axe s'est focalisé sur la non linéarité élastique des muscles pouvant être caractérisé par la théorie de l'acoustoélasticité en milieu transverse isotrope.

L'objectif final de cette thèse est d'appliquer ces nouveaux outils dans les domaines du sport (lésions musculaires avec l'Université de Nantes) et de la médecine (dystrophie musculaire de Duchenne avec le CHU de Nantes).

**Title :** Innovation in ultrasound elastography for the quantification of skeletal muscle mechanical properties

**Keywords :** Elastography, ultrasound, muscle, anisotropy, non linearity

**Abstract :** Ultrasound shear wave elastography has become popular in basic and clinical sciences.

Leveraging innovative ultra-fast ultrasound technology, this technique provides an accurate measurement of local mechanical properties of biological tissues based on the measurement of shear wave velocity.

Elastography has shown potential for the diagnosis of various pathologies in which tissue rigidity is altered, such as breast cancer or hepatic fibrosis.

However, the techniques currently marketed have been developed for organs considered to be isotropic elastic. For anisotropic, viscoelastic and nonlinear tissues, such as muscles, elastography has drawbacks that limit its applications.

The objectives of this thesis were to develop new innovative biomarkers in elastography to take into account the complexity of the three-dimensional mechanical properties of the muscle.

Two main axes were addressed: the first axis focused on an innovative ultrasound sequence to provide an accurate measurement of muscle viscoelastic anisotropy in a single imaging plane. The second axis focused on the elastic non-linearity of muscles that can be characterized by the theory of acoustoelasticity in an isotropic transverse medium.

The final objective of this thesis is to apply these new tools to the fields of sport (muscular lesions with the University of Nantes) and medicine (Duchenne muscular dystrophy with the University Hospital of Nantes).

## REMERCIEMENTS

---

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse, **Jean-Luc Gennisson** pour m'avoir accompagné durant ces trois ans et demi de thèse. Ses compétences scientifiques, sa capacité à coordonner les projets, et son soutien sans faille depuis mon premier jour au laboratoire ont eu un rôle déterminant dans la réussite de cette thèse.

Les travaux présentés dans ce manuscrit ont été menés sur trois sites : le laboratoire d'Imagerie Biomédicale Multimodale (BioMaps) à Orsay, le laboratoire Motricité, Interactions, Performances (MIP) à Nantes, et le laboratoire des sciences de l'ingénieur, de l'informatique et de l'imagerie (ICube) à Strasbourg, en collaboration avec le Laboratorio de Acustica Ultrasonor (LAU), Montevideo, Uruguay. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers tous les collaborateurs qui ont contribué à cette thèse. En particulier :

**Ricardo Andrade** pour son expertise en biomécanique musculaire, son enthousiasme pour la recherche, et sa bienveillance, qui ont joué un rôle essentiel dans la réussite de mes développements *in vivo* et dans leur validation. Sans lui, cela n'aurait pas été possible. Je tiens également à remercier **Juliette Lancelot** pour ses excellents travaux de stage.

**Simon Chatelin** pour son expertise en mécanique des matériaux, son attention méticuleuse et son habileté dans le traitement des échantillons de porc *ex vivo*. Grâce à lui, une grande partie de la thèse a été réalisée avec succès.

**Aude Loumeau** pour sa généreuse assistance et ses idées précieuses pendant les expériences. Les sorties sympathiques à Strasbourg resteront mémorables pour moi.

**Javier Brum** et **Nicolas Benech** pour leur solide expertise en physique des ondes ainsi que leur contribution immense au développement théorique de mon travail. Leur contribution a été cruciale pour renforcer et enrichir la dimension théorique de ce projet tout au long de ma thèse.

Je souhaite aussi remercier l'ensemble des membres du jury pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture de ce manuscrit, ainsi que pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant

de prendre part à ma soutenance.

~ ~

Je n'oublierai jamais tous les collègues de BioMaps qui m'ont soutenu tout au long de ma thèse. Merci du fond du cœur pour l'atmosphère chaleureuse au laboratoire, pour votre amitié indéfectible, et pour les agréables sorties au bar, même en dépit de mes absences fréquentes.

Un merci tout particulier à **Camille, Marianne, Sophie, Nathalie, Ambre, Sina, Aimé, Marion, Alexiane, Gwenael** et **Sarah** pour votre amitié sincère et votre gentillesse qui ont illuminé mes années de thèse.

À **Steve, Lenin, Alexandre** et **Steven**, mes premiers collègues de bureau, les éclats de rire partagés dans notre bureau resteront gravés dans ma mémoire. Merci à Steve et Lenin pour votre soutien inconditionnel, tant sur le plan moral que professionnel.

Pour **Corentin** et **Clément**, ce fut un véritable plaisir de partager le bureau avec vous. Votre gentillesse et votre sens de l'humour ont rendu chaque journée de plus agréable et productive.

Enfin, mon chéri d'amour **Anatole**, je te suis au fond du cœur reconnaissante pour ta rigueur dans la relecture de ce manuscrit ainsi que pour les répétitions de ma soutenance. Tes critiques constructives sur l'ensemble de mon travail ont été d'une valeur inestimable.

# TABLE DES MATIERES

---

<b>Chapitre 1 Introduction générale</b>	1
A. Préambule	2
B. Cadre théorique	4
I. Muscles squelettiques et la force musculaire	4
1. Muscles squelettiques	4
2. Contraction musculaire des muscles squelettiques	5
a. Types de contraction musculaire	5
b. Génération et transmission de force	6
c. Architecture des muscles et production de force	7
d. Force et rigidité musculaire	9
II. Élastographie	9
1. Méthodes d'élastographie	10
2. Élastographie par ultrasons	12
a. Échographie	12
b. Élastographie par imagerie ultrarapide	15
3. Élastographie musculaire	16
a. Milieu isotrope	17
b. Milieu anisotrope	19
c. Non linéarité musculaire	21
C. Objectifs du projet de thèse	23
I. Projet INNOVAN	23
1. Impact des propriétés mécaniques sur les blessures musculaires	23
2. Myopathies et le besoin d'un biomarqueur en clinique	24
3. Objectifs du projet INNOVAN	25
II. Objectifs et organisation de la thèse	26
D. Bibliographie	29
<b>Chapitre 2 Revue de littérature de la quantification d'anisotropie musculaire</b>	35
<b>Chapitre 3 Quantification d'anisotropie musculaire par la méthode SSI</b>	45

A. Expériences <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> par SSI	45
B. Étude sur le premier muscle interosseux dorsal par SSI	48
<b>Chapitre 4 Nouvelle méthode d'élastographie pour quantifier l'anisotropie musculaire</b>	54
A. Préambule	54
B. Quantification d'anisotropie élastique musculaire par la méthode des « pushes en biais »	55
C. Discussions complémentaires de l'article	83
I. Base théorique	83
1. Vitesse de phase et vitesse de groupe	83
2. Facteur d'anisotropie	85
II. Limites de la méthode des pushes en biais	86
III. Obstacles à l'application <i>in vivo</i>	89
<b>Chapitre 5 Quantification de la non linéarité anisotrope musculaire</b>	95
A. Préambule	95
B. Quantification de l'élasticité de cisaillement non linéaire anisotrope dans les muscles <i>ex vivo</i> et <i>in vivo</i>	98
C. Discussions complémentaires de l'article	120
I. Protocole expérimental <i>ex vivo</i>	120
II. Protocole expérimental <i>in vivo</i>	122
<b>Chapitre 6 Conclusion générale et perspectives</b>	126
<b>Annexe 1</b> Vitesse de phase et vitesse de groupe des ondes	129
<b>Annexe 2</b> Direction de propagation de l'onde de cisaillement et calcul du gradient du temps de vol	131
<b>Annexe 3</b> Positionnement des pushes	134
<b>Annexe 4</b> Régions d'intérêt	136

## *Chapitre 1*

# ***Introduction générale***



## A. PREAMBULE

---

Chez l'homme, qu'il s'agisse de parler ou de respirer, de la marche ou de battements cardiaques, le fonctionnement musculaire est primordial. La diversité des muscles se reflète dans la richesse de leurs formes, de leurs tailles et leurs activités. Les muscles longs se trouvent principalement dans les membres tels que le triceps et le quadriceps. Ils produisent principalement la force pour de grands mouvements. Les muscles courts, en revanche, se trouvent principalement autour de la colonne vertébrale et dans les zones responsables des petits mouvements tels que les muscles mastica-teurs. D'autres muscles de grande taille présentent une variété de formes, allant des muscles plats aux muscles convexes comme le diaphragme, le principal muscle res-piratoire (*AFMTéléthon, n.d.*). Cette variété permet aux muscles d'assurer un fonction-nement optimal.

La rigidité des muscles est étroitement liée à la fois aux anomalies et aux performances musculaires (*Kalkhoven and Watsford, 2020a*) (*Kalkhoven and Watsford, 2018*) (*Wilson et al., 1991*). L'élastographie est une méthode d'imagerie non invasive qui permet de quantifier la rigidité des organes. La plupart des techniques d'élastographie exploitent la physique des ondes mécaniques pour quantifier la rigidité et l'hétérogénéité d'un milieu. Une onde mécanique correspond à une perturbation qui se propage et interagit en fonction des propriétés physiques locales du milieu. En particulier, sa vitesse de propagation dépend de la rigidité du milieu. Grâce à cette caractéristique, l'élastogra- phie, signifiant mesure de l'élasticité, est devenue un outil précieux pour le diagnostic des pathologies et des anomalies musculaires. Parmi les modalités d'imagerie qui per- mettent la mesure de la rigidité, l'imagerie par ultrasons émerge comme une méthode d'élastographie efficace, commode et rapide. Dans le domaine médical, l'imagerie ul- trasonore utilise des ondes de très haute fréquence pour produire des images de dif- férentes structures dans le corps humain. Un dispositif d'imagerie ultrasonore consiste en une petite sonde pilotée par une machine transportable. Ce design compact et peu coûteux facilite son utilisation et le rend largement disponible. Grâce à sa cadence d'imagerie élevée (jusqu'à 10 kHz), l'échographie offre un affichage rapide avec une

bonne résolution. Par conséquent, il n'y a aucun délai entre l'examen et l'analyse médicale, ce qui permet une prise en charge immédiate et réactive. Les récents progrès dans le développement d'imagerie par ultrason ouvrent la porte à de nombreuses applications médicales.

Dans ce premier chapitre de la thèse, une introduction sur les muscles et leurs propriétés sera présentée, en abordant leur architecture et leur fonctionnement. L'élastographie par ultrasons ultrarapides sera également abordée, en mettant en évidence ses avantages et ses limites, ainsi que les différentes méthodes visant à améliorer la mesure de l'élasticité musculaire.

## B. CADRE THEORIQUE

---

### I. Muscles squelettiques et la force musculaire

#### 1. Muscles squelettiques

Le corps humain compte environ 600 muscles, représentant autour de 40% de la masse corporelle (*Janssen et al., 2000*) (*Muscles types, n.d.*). Il existe trois types de tissus musculaires : les muscles squelettiques, cardiaques et lisses. Les muscles squelettiques jouent un rôle fondamental dans les activités physiques, tant chez les animaux que chez les humains. Ces muscles sont des muscles volontaires qui sont liés aux os par les tendons. Leur fonction principale est de mouvoir le squelette, de maintenir une posture adéquate et de stabiliser les articulations. Comme tout muscle, les muscles squelettiques sont composés d'unités fonctionnelles connues sous le nom de sarcomères.

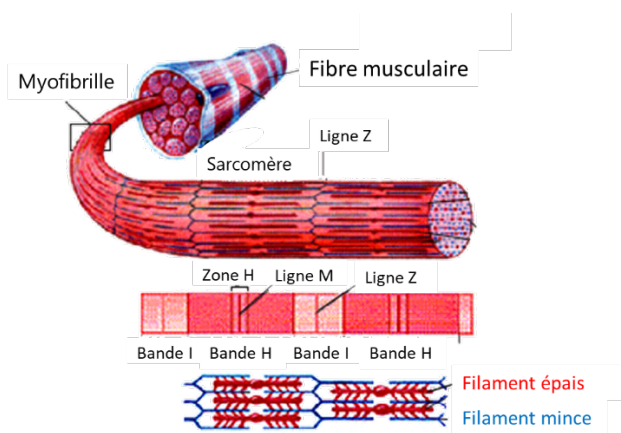


Figure 1 La structure des fibres musculaires (*Eskinder Demeke, n.d.*)

Les sarcomères sont des éléments contractiles musculaires de base. Ils sont assemblés en série de bandes pour former les myofibrilles, tissus musculaires allongés et parallèles les uns aux autres (*Heeransh D. Dave; Micah Shook; Matthew Varacallo., 2022*) (*Mukund and Subramaniam, 2020*). Les myofibrilles composent des fibres musculaires, appelées aussi myocytes, qui génèrent la contraction musculaire lorsqu'elles se raccourcissent. Les fibres musculaires d'un muscle squelettique sont

enveloppées par une fine membrane appelée sarcolemme et agencées en faisceaux (Brian MacIntosh, Phillip F. Gardiner, Alan J. McComas, 2005) (Lieber and Friden, 2000).

## 2. Contraction musculaire des muscles squelettiques

### a. Types de contraction musculaire

L'activation musculaire entraîne des forces musculaires appelées aussi contractions. Concernant les muscles squelettiques, la contraction, souvent en opposition à une force extérieure, est classée en deux types : statique et dynamique (Frontera and Ochala, 2015). Une contraction statique (isométrique) se caractérise par la génération de force en absence de mouvement de l'articulation. Dans ce type de contraction, la force produite par le muscle est égale à la charge extérieure, donc il n'y a pas de travail effectué et les fibres ne sont pas raccourcies. Les contractions isométriques sont nécessaires pour maintenir une stabilité, résister à une force ou pendant les renforcements et les rééducations musculaires. En revanche, une contraction dynamique (isotonique) implique un mouvement des articulations avec un changement de longueur des fibres. Les contractions dynamiques sont divisées en contraction concentrique et excentrique. Une contraction concentrique résulte du raccourcissement des fibres (par exemple, fléchir le coude, pousser avec le pied ou la main). Elle produit une force qui est supérieure à la force extérieure et effectue donc un travail. Ainsi, ce type de contraction est souvent simplement appelé "contraction" lorsque le muscle génère une force utile. Contrairement à ce dernier, une contraction excentrique résulte de l'allongement des fibres. Elle produit une force inférieure à la force extérieure et dans la plupart des cas, n'effectue pas de travail. Faisant partie des entraînements et des rééducations musculaires, une contraction excentrique sert principalement à détendre ainsi qu'à améliorer la flexibilité et l'amplitude de mouvement des muscles (Radák, 2018).

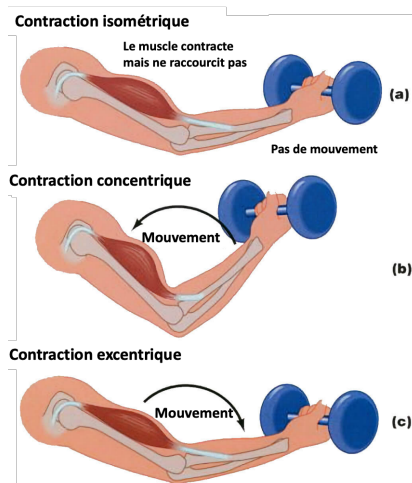


Figure 2 Les types de contraction musculaire (Definition of contraction, n.d.)

### b. Génération et transmission de force

S'agissant d'une contraction concentrique des muscles squelettiques, comme pour tous les muscles, le sarcomère représente la plus petite unité contractile qui assure le rôle de moteur dans la production de force et de mouvement. Chaque sarcomère est une machine moléculaire caractérisé par un haut niveau de complexité.

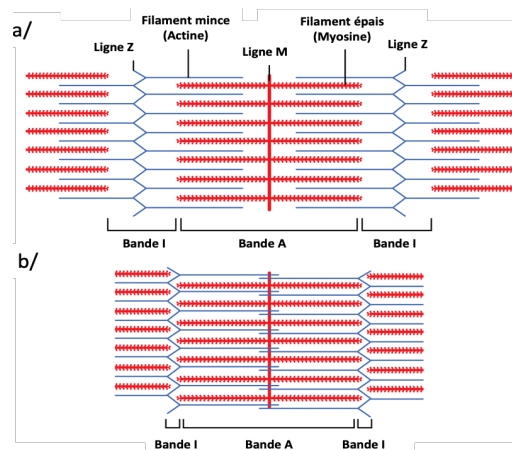


Figure 3 Arrangement des filaments actine et myosine du muscle a/ Au repos b/ En contraction (Sanja Hinić-Frlog, n.d.)

Il s'étend d'une ligne Z à une ligne Z (figure 3) et ne mesure que quelques micromètres de long (*The Sliding Filament Theory of Muscle Contraction, n.d.*). Sa région centrale, la bande A, est composée d'un maillage de deux protéines: l'actine et la myosine. Ces protéines sous forme de filaments, appelés myofilaments, sont responsables de la

contraction musculaires. Ces filaments minces (actine) et épais (myosine) sont disposés en alternance à travers la bande A. Cette bande conserve toujours sa longueur pendant la production de force. Pendant la contraction, les bandes I, de part et d'autre de la bande A se raccourcissent.

Le muscle génère la force par les glissements asynchrones entre les filaments épais et les filaments minces entraînant la traction des lignes Z l'une vers l'autre et ainsi, un raccourcissement des fibres. La force produite est ensuite transmise au tendon puis au squelette à travers la matrice extracellulaire (MEC), un réseau de macromolécules de protéines (collagène, élastine, protéoglycanes, ...) qui entoure le muscle (figure 4). Comme les fibres d'un muscle ne parcourent pas totalement sa longueur et ne sont pas reliées de manière rigide les unes aux autres, la transmission efficace de la force des myofilaments à la MEC est cruciale pour la contraction. Les liaisons mécaniques entre le muscle et la MEC sont renforcées par plusieurs molécules complexes dont la dystrophine, une protéine de grande taille qui relie la MEC aux filaments d'actine. La présence de la dystrophine est vitale pour la stabilisation de la membrane musculaire (sarcolemme) pendant la contraction, et son absence est associée à des pathologies musculaires sévères (*Frontera and Ochala, 2015*).

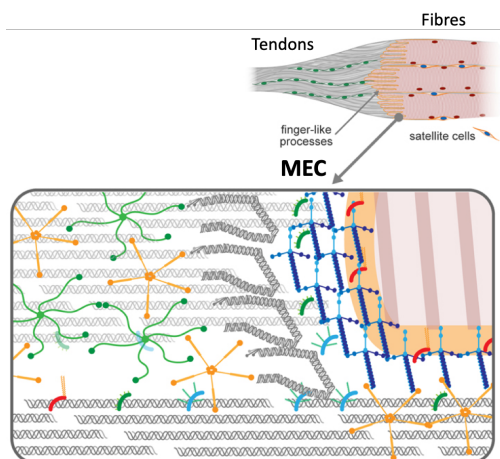


Figure 4 La matrice extracellulaire (MEC) à la jonction myotendineuse (*Narayanan and Calve, 2021*)

### c. Architecture des muscles et production de force

L'architecture du muscle est définie par la disposition des faisceaux musculaires par rapport à l'axe de génération de force, qui est souvent aussi l'axe osseux. En fonction

de leur architecture, les muscles squelettiques peuvent être catégorisés en fusiforme ou penné. Dans les muscles fusiformes, les fibres sont alignées le long de l'axe de génération de force. Quelques muscles squelettiques sont fusiformes tels que les muscles du bras : biceps brachial, triceps brachial, biceps fémoral ou les petits muscles de la main et du pied. Dans les muscles pennés, les fibres ne sont pas alignées le long de l'axe de génération de force. La plupart des muscles squelettiques sont pennés tels que les muscles de la jambe : le quadriceps, le tibialis. (Brian MacIntosh, Phillip F. Gardiner, Alan J. McComas, 2005) (Lieber and Friden, 2000). Un muscle penné peut présenter des fibres orientées dans une seule direction (unipenné), orientées dans deux directions (bipenné) ou orientées dans de multiples directions (multi-penné) par rapport à l'axe de génération de force. Lorsque le muscle penné est au repos, l'angle de pennation par rapport à l'axe de force oscille entre  $0^\circ$  et  $30^\circ$ . Il peut s'étendre jusqu'à  $60^\circ$  en fonction de l'amplitude de mouvement du muscle (Lieber and Friden, 2000).

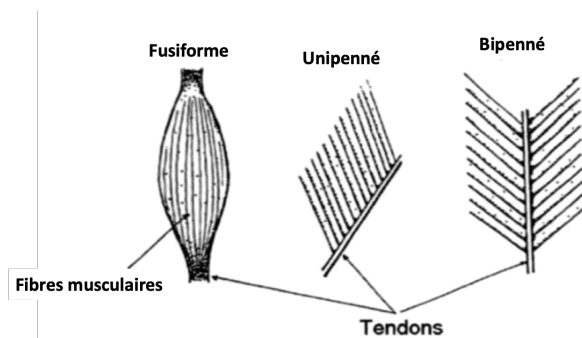


Figure 5 L'architecture des faisceaux musculaires. (Brian MacIntosh, Phillip F. Gardiner, Alan J. McComas, 2005)

Il existe une relation étroite entre l'architecture, la longueur des fibres, la force et la durée de contraction musculaire. L'architecture des muscle pennés implique que ses fibres ne s'étendent pas sur toute la longueur du muscle, ce qui rend les fibres plus courtes que celles d'un muscle fusiforme. Étant donné que les fibres sont plus courtes, il y en a donc plus dans un même volume musculaire. Ainsi, la pennation des muscles permet d'augmenter la section transversale du muscle, ce qui représente un grand avantage sur la force produite. En effet, cette force dépend de la section combinée de toutes les fibres et croît proportionnellement à cette section. La force produite par les muscles pennés est donc supérieure à celle produite par les muscles fusiformes. En revanche, les muscles fusiformes, grâce à leurs fibres plus longues, ont des plages

fonctionnelles plus longues, peut produire la force avec plus de précision. De plus, les fibres plus longues contiennent plus de sarcomères en série qui assurent une meilleure vitesse de contraction pour une même tension maximale (*Lieber and Friden, 2000*).

#### *d. Force et rigidité musculaire*

Parmi les paramètres biomécaniques du muscle, la force musculaire est un élément important pour l'évaluation de son état fonctionnel. La force générée durant la contraction du muscle dépend non seulement de l'architecture des fibres mais aussi de sa rigidité. L'intensité absolue de la force musculaire est très variée entre les sujets. Pour cette raison, elle est souvent normalisée par la force maximale produite pour chaque effort dans une configuration particulière appelée contraction volontaire maximale (MVC). Il a été montré que le niveau de force (% MVC) d'une contraction est fortement et linéairement corrélé à la rigidité des muscles. De plus, la fatigue neuromusculaire, ayant une forte influence sur l'électromyogramme et d'autres paramètres électrophysiologiques, ne modifie pas la relation entre le module de cisaillement et la force. L'évolution de la force des muscles pendant la contraction en fonction de leur rigidité est donc indépendante de la fatigue musculaire (*Hug et al., 2015*).

Par ailleurs, comme les muscles se superposent les uns aux autres, les efforts musculaires sont généralement réalisés par différentes combinaisons de forces (*Hug et al., 2015*). Afin de mieux comprendre la répartition de ces forces entre les muscles, il est essentiel de quantifier précisément la force produite par chaque muscle individuel. Dans cette optique, la mesure de la rigidité locale offre une solution appropriée pour atteindre cet objectif.

En conséquence, la quantification de la rigidité musculaire est nécessaire pour une caractérisation complète et non invasive des muscles squelettiques. Cela permet d'évaluer les variations de la force musculaire dans différentes conditions. En milieu clinique, la mesure de la rigidité est précieuse pour le traitement des maladies musculaires et les programmes de rééducation.

## **II. Élastographie**



## 1. Méthodes d'élastographie

L'élastographie quantitative *in vivo*, qui permet la mesure et la cartographie de la rigidité, présente un potentiel diagnostique important. Effectivement, le module d'Young, un indicateur de la rigidité des matériaux, est depuis longtemps reconnu comme étant étroitement associé à de nombreuses pathologies (telles que le cancer, la fibrose, etc.). De nombreuses techniques basées sur la mesure de ce paramètre ont été développées pour mieux quantifier la rigidité des organes. L'élastographie quasi-statique est la première méthode d'élastographie quantitative, également connue sous le nom d'élastographie de déformation. Elle se sert d'une force externe de valeur approximative pour compresser le milieu puis en déduire la déformation. Étant donné la relation entre la contrainte ( $\sigma$ ) et la déformation ( $\varepsilon$ ) via le module d'Young ( $E$ ) selon la loi de Hook :  $\sigma = E \cdot \varepsilon$ , la déformation mesurée est ensuite utilisée pour représenter la rigidité du milieu. Cependant, en raison du manque de connaissances sur la contrainte, il n'est pas possible d'estimer le module d'Young local (*Gennisson et al., 2013*). En contrepartie, les techniques d'élastographie dynamique utilisent les ondes de cisaillement, dont la vitesse de propagation est liée au module d'Young dans le cas isotrope, afin d'obtenir une imagerie quantitative de module d'Young :

$$E = 3\mu = 3\rho v_{\text{cisaillement}}^2$$

L'onde de cisaillement est une onde élastique qui se produit dans un milieu lorsqu'il est soumis à une source de force. Elle est aussi appelée onde secondaire du fait qu'elle est précédée par une onde de compression également appelée primaire. Cette onde implique une dilatation du milieu et propage beaucoup plus rapidement dans une direction perpendiculaire à la direction de cisaillement. Un cisaillement correspond à un changement de forme sans changement de volume, généré par une paire de forces égales agissant dans des directions opposées. Dans un milieu élastique, les particules reprennent leur forme d'origine après le cisaillement, puis les particules adjacentes subissent un cisaillement et le déplacement se propage sous forme d'onde (*Erik Gergersen., n.d.*).

Pour décrire une onde mécanique dans un milieu élastique, deux directions doivent être distinguées : la polarisation et la propagation. La polarisation ( $\vec{u}$ ) correspond à la direction de déplacement des particules du milieu. La propagation ( $\vec{k}$ ) est la direction selon laquelle l'onde se propage. Dans le cas d'une onde de compression, les particules se déplacent en même direction que la propagation d'onde, ce qui donne  $\vec{u} // \vec{k}$ . D'un autre côté, une onde de cisaillement génère un déplacement des particules perpendiculaire à sa direction de propagation. Nous avons donc  $\vec{u} \perp \vec{k}$ .

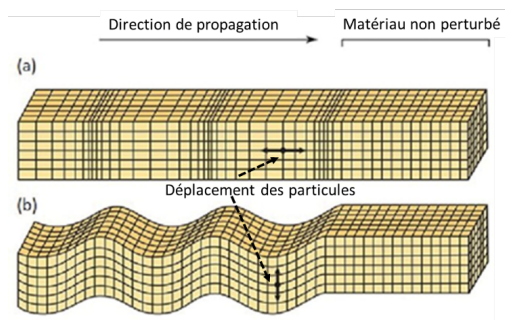


Figure 3 (a) onde de compression (b) onde de cisaillement (Mirnaziry et al., 2017)

Parmi les techniques d'élastographie dynamique, on distingue les techniques dites « transitoires » et « monochromatiques ». Les techniques transitoires utilisent la propagation d'un front d'onde de cisaillement transitoire dans une direction donnée. En revanche, les techniques monochromatiques utilisent des ondes de cisaillement d'une fréquence précise, en régime stationnaire, se réverbérant plusieurs fois dans le milieu en créant nœuds et ventres. Ces deux approches ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients : l'élastographie transitoire permet la visualisation et la mesure directe de la vitesse du front d'onde de cisaillement. Elle est insensible aux conditions aux limites et riche en informations spectrales. Toutefois elle demande une imagerie capable de suivre la propagation d'onde de cisaillement, donc une cadence d'imagerie très élevée (des milliers d'images par seconde)(Sandrin et al., 2002). L'approche monochromatique permet une acquisition plus lente des ondes. Cependant, elle est sensible aux conditions de bord et nécessite l'inversion de l'équation d'onde en trois dimensions (Muthupillai et al., 1995).

Parmi les méthodes d'élastographie dynamiques monochromatiques, l'élastographie par résonance magnétique (ERM) est une approche qui a été déjà implémentée en clinique. Cette méthode exploite les excitations mécaniques périodiques (20 - 100 Hz en clinique) afin de générer des ondes mécaniques à des fréquences précises dans les tissus biologiques. Les séquences d'imagerie par résonance magnétique (IRM) à gradients d'encodage du déplacement permettent d'enregistrer les déplacements du tissu. Ces déplacements sont estimés à partir du déphasage mesuré dans les voxels, permettant de reconstruire la propagation de l'onde mécanique dans le temps. L'ERM est peu opératoire dépendante et permet d'explorer les structures profondes, notamment chez les sujets obèses. En outre, elle offre un contraste tissulaire optimal, un champ de vue large et permet la cartographie de l'élasticité et de la viscosité en 3D (Radzik et al., 2021) (Department of Radiology Karaman State Hospital, Karaman, Turkey et al., 2018). Toutefois, l'ERM présente plusieurs limitations, notamment un temps d'acquisition en 3D considérable, ainsi qu'un fonctionnement complexe qui constitue son principal obstacle en recherche et en clinique. Une opération d'ERM, tout comme pour l'IRM, est coûteuse et énergivore. Lors d'un examen d'ERM, le patient doit rester immobile et confiné dans un tunnel avec un bruit répétitif pendant plusieurs minutes selon la séquence utilisée. Cela rend l'examen d'ERM, et l'IRM en général, désagréable pour les patients ayant des difficultés à rester allongés et immobiles.

## 2. Élastographie par ultrasons

### a. Échographie

L'échographie est une modalité d'imagerie qui emploie les ondes acoustiques à haute fréquence, appelées ultrasons, pour générer une image (Scott Secrest, DVM, n.d.). Les ultrasons sont produits par un transducteur, appelé aussi une sonde à ultrasons. Chaque sonde a des spécificités particulières adaptées à l'objectif de l'examen dont la fréquence d'acquisition, la forme de réseau, la taille d'ouverture, etc. La fréquence des ultrasons utilisées en échographie est bien supérieure au seuil d'audition humaine (20 kHz) - généralement comprise entre 2 et 12 MHz. Une fréquence plus élevée se traduit par une longueur d'onde plus courte. Les ondes à très haute fréquence offrent une

résolution d'image supérieure, mais leur capacité à pénétrer les tissus en profondeur est limitée par l'atténuation à cause de l'interaction forte avec le milieu. En revanche, les ondes à basse fréquence ont une meilleure pénétration, mais leur résolution est moins précise en raison de leurs longueurs d'onde plus longues. Le milieu et l'objectif de l'acquisition dictent la bande de fréquence et donc le choix de transducteur.

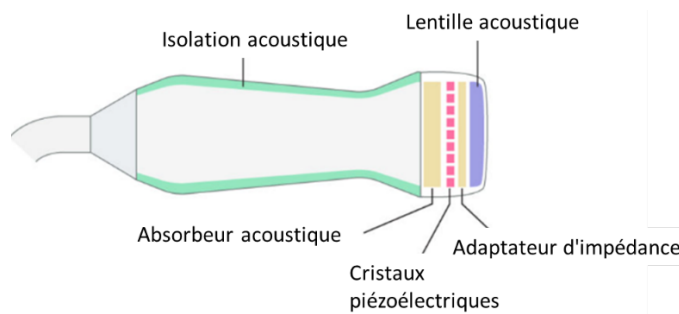


Figure 4 Schéma d'une sonde à ultrasons (The ultrasound transmitter probe, n.d.)

Le transducteur sert à la fois à émettre des ultrasons et à recevoir les échos ultrasonores réfléchis. Un transducteur est composé d'éléments piézoélectriques qui convertissent l'énergie mécanique en énergie électrique, et vice versa. Ils sont faits de cristaux de céramiques (fig 7). Ces matériaux sont capables de produire des ondes mécaniques lorsqu'ils sont soumis à un champ électrique, et inversement, produire un signal électrique lorsqu'ils sont soumis à une onde mécanique.

Lorsqu'une séquence d'échographie est lancée, un courant électrique est transmis au transducteur avec généralement une loi de délai focalisée à l'émission, provoquant les vibrations de ses éléments. Ainsi, chaque élément produit une onde sphérique, celles-ci interfèrent entre elles pour former un faisceau d'ultrason. Ce faisceau, en traversant le milieu, est réfléchi par les interfaces entre tissus d'impédances acoustiques différentes rencontrés sur son trajet. Il est notamment rétrodiffusé par les microdiffuseurs présents dans les tissus responsables du speckle de l'image. Lorsque les échos réfléchis ou rétrodiffusés atteignent les éléments du transducteur, ils génèrent des signaux électriques. En connaissant la vitesse du son, les signaux électriques sont convertis en une ligne de l'image. Ce processus est répété pour chaque élément, un faisceau est émis et une ligne est reconstruite en balayant le champ de vue. L'image obtenue

est appelée image en mode B (image B-mode) dont la luminosité de chaque point est déterminée par l'amplitude du signal d'écho.

L'acquisition d'une image par échographie conventionnelle nécessite donc un nombre d'émission-réception égal au nombre d'éléments de la sonde utilisée. Une révolution de l'échographie est l'imagerie ultrarapide, une technique qui permet de reconstruire une image en émettant une seule fois avec tous les éléments de la sonde. L'émission simultanée, appelée onde plane, permet une insonification de tout le champ de vue. De ce fait, la cadence d'imagerie ultrarapide peut atteindre les 10 000 images par seconde par rapport à l'échographie conventionnelle atteignant 60 images par seconde (Fujikura et al., 2021).

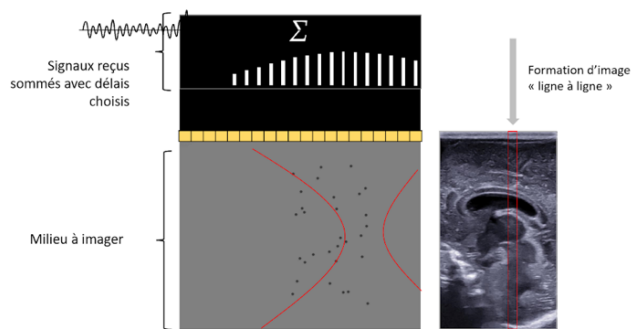


Figure 5 Échographie conventionnelle

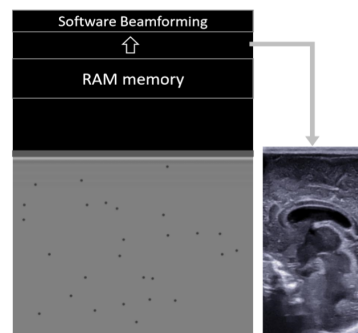


Figure 6 Échographie ultrarapide

En contrepartie, un traitement complexe est nécessaire pour reconstruire une image en imagerie ultrarapide. Ce traitement a été réalisé grâce à l'amélioration du hardware qui permet de réaliser le calcul parallèle. Une des limites majeures de cette technique concerne son rapport signal sur bruit. Contrairement à l'échographie conventionnelle qui forme une image avec plusieurs éléments focalisés sur une seule ligne, l'imagerie ultrarapide forme une image avec plusieurs éléments non focalisés sur toutes les lignes. Cela entraîne une réduction significative de l'énergie transmise. Par conséquent, la fréquence d'imagerie ultrarapide compromet son rapport signal sur bruit. Une solution à ce compromis consiste à acquérir plusieurs sous-images différentes et à les synthétiser en une seule. Pour former ces sous-images différentes, un délai linéaire différent pour chacune est appliqué à l'émission pour former un front d'onde plan incliné. Cela permet d'augmenter synthétiquement le nombre d'éléments sur une seule ligne et de mieux focaliser. Cette synthèse réduit la fréquence d'imagerie par le nombre

de sous-images (environ 10). Etant donné que la fréquence ultrarapide est environ 500 fois plus élevée que celle de l'échographie classique, cette stratégie permet de conserver une fréquence d'imagerie élevée d'imagerie ultrarapide (Montaldo *et al.*, 2009).

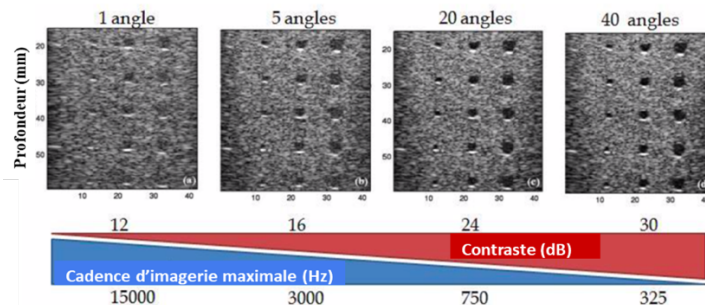


Figure 5 Compromis entre le contraste et la cadence d'imagerie en relation avec le nombre d'angle (Montaldo *et al.*, 2009)

### b. Élastographie par imagerie ultrarapide

Introduite pour la première fois en 2004 (Bercoff *et al.*, 2004), l'élastographie ultrarapide par ultrason (« Supersonic Shear Imaging » - SSI) est une technique d'élastographie transitoire qui repose sur l'utilisation de la force de radiation acoustique, afin de générer une onde de cisaillement quasi-plane. La séquence de SSI est composée de deux étapes. Dans un premier temps, une force de radiation acoustique est appliquée en focalisant longtemps en un point pour y générer un déplacement micrométrique du milieu, ce qui génère un cisaillement sphérique appelé « push ». Plusieurs pushes alignés sont transmis successivement (typiquement trois) à différentes profondeurs. L'interférence des ondes de cisaillement sphériques le long des pushes forment un cône de Mach qui engendre deux fronts d'onde de cisaillement opposés. Dans un second temps, après la génération du cône de Mach, la propagation de l'onde de cisaillement est imagée par échographie ultrarapide à une fréquence d'environ 10 kHz. Cette fréquence permet de suivre la propagation de l'onde de cisaillement, qui est à la fois rapide (~2 - 3 m/s) et courte (atténuation au bout de quelques millimètres). Enfin, la vitesse de l'onde de cisaillement est estimée par le calcul du temps de vol sur le film de propagation acquis à l'étape d'imagerie. Le module de cisaillement est ensuite déduit par la relation  $\mu = \rho v^2$ . En acceptant l'approximation du module d'Young (E) pour

les milieux isotropes, qui est imprécise dans le cas du muscle, la carte de rigidité affichant  $E$  est calculée par la relation  $E = 3\mu$ .

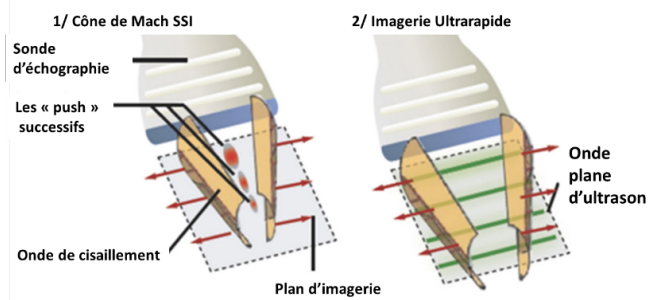


Figure 6 Principe de SSI 1/ Les push sont créés à différentes profondeurs. Leurs interférences forment un cône de Mach et une onde de cisaillement qui se propage dans le milieu. 2/ L'échographe bascule dans le mode imagerie ultrarapide pour suivre l'onde de cisaillement qui se propage dans le milieu (Gennisson et al., 2013)

La méthode SSI a été aujourd'hui implémentée sur plus de 3500 échographes cliniques. Les applications de SSI sont très variées: caractérisation des tumeurs du sein (Athanasίου et al., 2010), de la fibrose hépatique (Muller et al., 2009), de l'état du greffon rénal (Gennisson et al., 2010b) ou encore de la thyroïde (Sebag et al., 2010). SSI présente également un intérêt majeur pour la recherche en biomécanique des tissus *in vivo*, ainsi que pour l'étude de leurs propriétés complexes. A présent, il est également possible de réaliser de l'élastographie en trois dimensions par une sonde à balayage mécanique (Gennisson et al., 2008) ou une sonde bidimensionnelle. Néanmoins, cette approche se heurte à plusieurs limites, notamment la cadence d'imagerie et le temps de calcul qui la rendent difficilement utilisable dans un contexte clinique.

### 3. Elastographie musculaire

L'élastographie offre un outil efficace pour évaluer la rigidité de l'ensemble des tissus mous dont les muscles. L'élastographie SSI, rapide et pratique, a facilité la mesure de la rigidité musculaire. Cette méthode repose sur la mesure de la vitesse de propagation d'une onde de cisaillement. L'onde de cisaillement est induite par une succession de push générés par force de radiation acoustique et suivie grâce à la cadence élevée d'imagerie ultrarapide.

En élastographie, le milieu sondé est caractérisé par un tenseur élastique. Ce tenseur peut être interprété comme une mesure de la réponse du matériau aux contraintes externes, ce qui le rend crucial pour la propagation des ondes élastiques. Lorsque cette réponse varie selon la direction spatiale, le milieu, ainsi que le tenseur, élastique est considéré comme anisotrope. A l'aide du tenseur élastique, nous pouvons caractériser le milieu musculaire. Cela nous offre une meilleure compréhension de ses comportements lorsqu'il est soumis à une onde de cisaillement.

### a. Milieu isotrope

Jusqu'à présent, la majorité des applications cliniques d'élastographie considèrent que le milieu cible, en l'occurrence le muscle, est isotrope. Il s'agit d'un milieu linéaire localement homogène. Son tenseur élastique nous permet de relier la contrainte à la déformation en décrivant l'ensemble des relations possibles entre les différentes composantes selon la loi de Hook.

$$\text{contraintes} \begin{bmatrix} \sigma_{11} \\ \sigma_{22} \\ \sigma_{33} \\ \sigma_{23} \\ \sigma_{13} \\ \sigma_{12} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & C_{13} & C_{14} & C_{15} & C_{16} \\ C_{12} & C_{22} & C_{23} & C_{24} & C_{25} & C_{26} \\ C_{13} & C_{23} & C_{33} & C_{34} & C_{35} & C_{36} \\ C_{14} & C_{24} & C_{34} & C_{44} & C_{45} & C_{46} \\ C_{15} & C_{25} & C_{35} & C_{45} & C_{55} & C_{56} \\ C_{16} & C_{26} & C_{36} & C_{46} & C_{56} & C_{66} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \varepsilon_{11} \\ \varepsilon_{22} \\ \varepsilon_{33} \\ 2\varepsilon_{23} \\ 2\varepsilon_{13} \\ 2\varepsilon_{12} \end{bmatrix} \text{déformations}$$

Le cas isotrope permet de simplifier le tenseur en faisant apparaître les coefficients de Lamé,  $\lambda$  et  $\mu$  pour décrire le milieu :

$$\text{contraintes} \begin{bmatrix} \sigma_{11} \\ \sigma_{22} \\ \sigma_{33} \\ \sigma_{23} \\ \sigma_{13} \\ \sigma_{12} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \lambda + 2\mu & \lambda & \lambda & 0 & 0 & 0 \\ \lambda & \lambda + 2\mu & \lambda & 0 & 0 & 0 \\ \lambda & \lambda & \lambda + 2\mu & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \mu & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \mu & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \mu \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \varepsilon_{11} \\ \varepsilon_{22} \\ \varepsilon_{33} \\ 2\varepsilon_{23} \\ 2\varepsilon_{13} \\ 2\varepsilon_{12} \end{bmatrix} \text{déformations}$$

$$\begin{cases} \lambda := C_{11} - 2C_{44} \\ \mu := C_{44} \end{cases}$$

En résolvant le tenseur élastique avec les équations de la dynamique, on peut faire apparaître une équation d'onde mécanique dont les solutions comprennent une onde de compression et une onde de cisaillement.



$$\rho \frac{\partial^2 \mathbf{u}}{\partial t^2} = (\lambda + \mu) \nabla (\nabla \cdot \mathbf{u}) + \mu \nabla^2 \mathbf{u}$$

Ces équations nous permettent alors de résoudre la vitesse de ces ondes en fonction des coefficients de Lamé  $\lambda$  et  $\mu$

$$v_{compression} = \sqrt{\frac{\lambda+2\mu}{\rho}}; \quad v_{cisaillement} = \sqrt{\frac{\mu}{\rho}}$$

Il apparaît ainsi que la vitesse de cisaillement ( $v_{cisaillement}$ ) est directement liée au deuxième coefficient de Lamé  $\mu$ , autrement appelé module de cisaillement et la densité  $\rho$  du milieu. Les deux coefficients de Lamé sont reliés au module de Young (E) et au coefficient de Poisson( $\nu$ ).

$$E = \frac{(3\lambda+2\mu)\mu}{(\lambda+\mu)}; \quad \nu = \frac{\lambda}{2(\lambda+\mu)}$$

Tandis que E détermine la rigidité du milieu, le coefficient de Poisson  $\nu$  caractérise la contraction de la matière perpendiculairement à la direction d'effort appliqué. Ce dernier reflète la compressibilité de matière. Pour la plupart des matériaux,  $\nu$  est compris entre 0 et 0,5. Lorsque  $\nu$  est à 0, le matériau ne présente pas de contraction latérale lorsqu'il est soumis à une contrainte uniaxiale; en revanche, son volume augmente et ainsi sa densité ( $\rho$ ) diminue. Un tel le milieu est dit compressible. Une valeur 0,5 de  $\nu$  indique que le matériau est incompressible, c'est-à-dire son volume et sa densité resteront conservés par un rétrécissement latéral lors de l'application d'une contrainte uniaxiale. Les cellules biologiques qui composent les tissus mous, en l'occurrence les muscles, sont constituées principalement de fluide (75%). Par conséquent, le muscle peut être considéré comme un matériau incompressible avec une densité très proche de celle de l'eau ( $\approx 1000 \text{ kg/m}^3$ ). Pour le reste de ce manuscrit, comme le milieu musculaire est étudié, nous maintiendrons  $\nu$  égal à 0,5 et  $\rho \approx 1060 \text{ kg/ m}^3$  dans nos équations.

Dans les milieux mous, à l'exception de l'os, il a été démontré que la valeur de  $\mu$  est négligeable par rapport à  $\lambda$ , en se basant sur les mesures respectives effectuées sur des échantillons biologiques séparés de plusieurs ordres de grandeur.

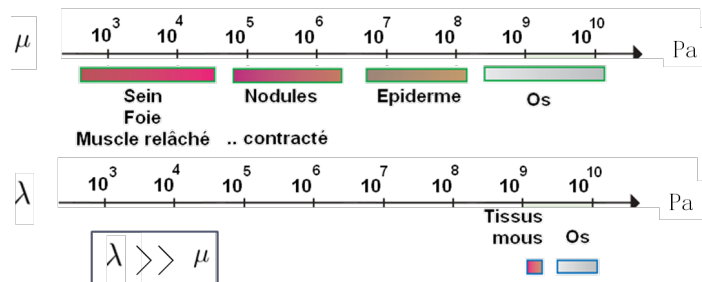


Figure 7 Valeurs des modules de compression et de cisaillement pour différents types de tissus biologiques (A. P. Sarvazyan, A. R. Skovoroda, S. Y. Emelianov, J. B. Fowlkes, J. G. Pipe, R. S. Adler, R. B. Buxton & P. L. Carson, n.d.)

Cette approximation ( $\lambda \gg \mu$ ) permet d'écrire le module d'Young, qui quantifie la dureté des matériaux sans tenir compte de la viscosité :

$$E = \frac{\mu(3\lambda + 2\mu)}{\lambda + \mu} = \frac{\mu(3 + 2\mu/\lambda)}{1 + \mu/\lambda} \approx 3\mu$$

C'est sur cette dernière équation que repose l'imagerie par ondes de cisaillement pour former des cartes quantitatives du module d'Young.

Il s'est avéré que le muscle n'est un exemple de tissu contractile qui possède une nature fortement hétérogène. Contrairement à un matériau isotrope, qui a des propriétés similaires dans toutes les directions, le muscle présente une structure et une organisation internes qui conduisent à des propriétés mécaniques dépendantes de direction. Le milieu musculaire est donc considéré comme anisotrope. De plus, le muscle possède aussi un comportement élastique non linéaire. Cela est lié au fait que le muscle est aussi un milieu hyper-élastique. Le milieu musculaire est donc très complexe et possède également d'autres propriétés mécaniques telles que la viscoélasticité et l'incompressibilité. Dans le cadre de cette thèse, seules l'anisotropie musculaire et la non linéarité seront focalisées.

### b. Milieu anisotrope

Une première façon de modéliser la structure fibreuse d'un muscle est d'utiliser le modèle transverse isotrope (TI). Ce modèle stipule un axe de symétrie (l'axe des fibres) avec deux modules de cisaillement indépendants :  $C_{44}$  et  $C_{66}$  qui correspondent dans le cas des ondes de cisaillement pures à deux vitesses de propagation  $V_{//}$  et  $V_{\perp}$  respectivement parallèle et perpendiculaire aux fibres. Ce modèle peut être simplifié au cas isotrope en considérant l'égalité des deux modules de cisaillement  $C_{66}$  et  $C_{44}$ . Il a aussi été montré qu'un composite de fibres avec des directions différentes à une échelle sub-longueur d'ondes pouvait être modélisé par un milieu effectif transverse isotrope. C'est donc un modèle assez général pour décrire les fibres musculaires ayant une direction privilégiée. Ce modèle impose ses symétries à la matrice de Christoffel qui décrit mécaniquement un milieu TI.

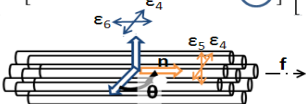
$$\begin{array}{|l|} \hline \text{Contraintes} \\ \hline \end{array}
 \begin{bmatrix} \sigma_1 \\ \sigma_2 \\ \sigma_3 \\ \sigma_4 \\ \sigma_5 \\ \sigma_6 \end{bmatrix}
 =
 \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & C_{13} & 0 & 0 & 0 \\ C_{12} & C_{11} & C_{13} & 0 & 0 & 0 \\ C_{13} & C_{13} & C_{33} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & C_{44} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & C_{44} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & C_{66} \end{bmatrix}
 \begin{array}{|l|} \hline \text{Déformations} \\ \hline \end{array}
 \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \varepsilon_3 \\ \varepsilon_4 \\ \varepsilon_5 \\ \varepsilon_6 \end{bmatrix}$$


Figure 8 Tenseur Christoffel pour une polarisation d'onde de cisaillement perpendiculaire à la direction des fibres

En résolvant les équations de Christoffel pour une polarisation d'onde perpendiculaire à la direction des fibres, nous obtenons une onde de cisaillement pure se propageant dans le plan perpendiculaire à sa polarisation avec une vitesse  $V_{SH}$ . Cette vitesse dépend de l'angle entre sa direction de propagation par rapport à l'axe des fibres. Étant donné que la vitesse est maximale le long de cet axe ( $C_{44} > C_{66}$ ), il s'agit également d'un moyen pour déterminer la direction des fibres.

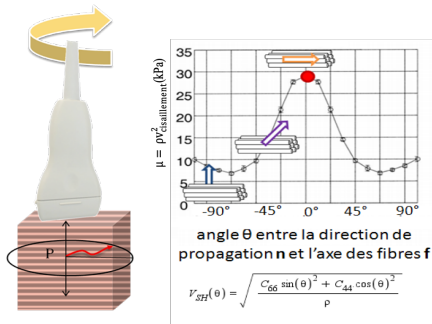


Figure 9 La polarisation d'onde de cisaillement est perpendiculaire à l'axe des fibres

Néanmoins, cette solution suppose que l'onde dont la vitesse est mesurée soit une onde de cisaillement pur, autrement dit que sa polarisation reste toujours perpendiculaire à l'axe des fibres (figure 15). Cela signifie que la direction des fibres doit toujours être perpendiculaire à l'axe de la sonde. Bien qu'il existe beaucoup de muscles dont les fibres sont principalement parallèles à l'axe osseux (muscles fusiformes) et qu'une sonde 2D puisse donc être placée le long de cet axe, la plupart des muscles squelettiques présentent une disposition pennée. Il s'agit donc d'une hypothèse très limitante si nous souhaitons par exemple retrouver l'orientation des fibres musculaires sans a priori. Par conséquent, il est nécessaire d'étudier en profondeur les hypothèses et méthodes d'estimation de la rigidité pour prendre en compte l'anisotropie des muscles pennés. Cela nous permettra de développer la théorie pour le cas particulier des tissus mous ainsi qu'une nouvelle modalité d'imagerie diagnostique clinique dédiée au muscle.

La possibilité d'utiliser l'élastographie transitoire par ondes de cisaillement pour mesurer *in vivo* l'anisotropie des tissus biologiques a récemment été démontrée dans le cas de différents organes (muscle (Gennisson *et al.*, 2010a), cerveau (Macé and Cohen, 2011), cœur (Lee *et al.*, 2010), cornée (Nguyen *et al.*, n.d.), reins (Gennisson *et al.*, 2010b)...). Ces données s'ajoutent à celles établies par histologie, par tests mécaniques *ex vivo* ou par d'autres formes d'imagerie *in vivo* comme l'élastographie par résonance magnétique. La possibilité de réaliser rapidement la mesure d'anisotropie élastique des organes partir d'un échographe ouvre la voie à l'étude de la biomécanique des tissus *in vivo*.

### c. Non linéarité d'élasticité musculaire

La relation linéaire contrainte-déformation pour les muscles selon la loi de Hook est une approximation simplifiée. En effet, les tissus musculaires ont un comportement mécanique non linéaire à cause de leur extensibilité finie (*Rosen and Jiang, 2019*). Ce comportement est typique d'un matériau hyper-élastique. Un tel matériau est capable de supporter des déformations importantes sans dissiper d'énergie lors de la transition réversible d'un état initial à déformé (*Laure-Lise Gras, 2011*). Afin de mieux caractériser les propriétés mécaniques musculaires dont l'hyper-élasticité, la mesure des modules élastiques non linéaires a été développée (*Gennisson et al., 2007*). La quantification de l'élasticité non linéaire (NL) des tissus repose sur la théorie de l'acousto-élasticité (AE) (*Gennisson et al., 2007*) qui permet de déterminer les constantes élastiques non linéaires des solides en utilisant les ondes ultrasonores. Cette théorie repose sur l'expression de l'énergie interne de déformation en utilisant les invariants du tenseur de déformation de Green-Cauchy (*Landau, L. D., Lifšic, E. M., Lifshitz, E. M., Kosevich, A. M., & Pitaevskij, L. P., 1986*).

Dans le domaine de l'élastographie, la quantification de l'élasticité NL est devenue une mesure complémentaire à celle du module de cisaillement  $\mu$  caractérisant l'élasticité linéaire des tissus. Cette quantification consiste à déduire les coefficients élastiques NL à partir de l'évolution de la vitesse de l'onde de cisaillement dans des milieux soumis à une contrainte uniaxiale (*Gennisson et al., 2007*). Dans les tissus mous comme les muscles qui ont longtemps été considérés comme un milieu liquide d'un point de vue ultrasonore, l'évaluation de l'élasticité NL sera un complément essentiel pour améliorer le diagnostic ou la caractérisation tissulaire par l'élastographie.

## C. OBJECTIFS DU PROJET DE THESE

---

### I. Projet « Innovations en élastographie pour quantifier la viscosité et l'isotropie du muscle » (INNOVAN)

La connaissance en biomécanique musculaire a beaucoup d'applications dans les domaines médicaux et sportifs. Elle contribue dans la science du sport, les études des pathologies musculaires, la rééducation, la simulation chirurgicale (*Lim et al., 2009*) ainsi que le transport de médicaments dans les muscles (*Wu et al., 2009*). La rigidité est une des propriétés mécaniques importantes des muscles. Elle est corrélée avec la force ainsi que l'architecture des fibres musculaires. Deux domaines spécifiques où une caractérisation biomécanique des muscles, notamment de rigidité, est nécessaire sont les blessures musculaires et les myopathies.

#### 1. Impact des propriétés mécaniques sur les blessures musculaires

La blessure musculaire est une préoccupation qui englobe de nombreuses pathologies courantes tant chez les athlètes que dans la population générale. Lorsqu'un muscle se blesse, les myofibrilles sont perturbées et l'architecture des sarcomères est désorganisée. Ainsi, la disposition des fibres musculaires joue un rôle crucial dans la caractérisation des blessures.

Des études ont montré que, la plupart des blessures surviennent lorsque les muscles sont soumis à des contraintes durant une tension de contraction élevée. Cette tension de contraction élevée permet au muscle d'améliorer sa capacité de stockage d'énergie pour une contrainte donnée et de mieux résister lorsque une charge spécifique est appliquée (*Kalkhoven and Watsford, 2020b*). En accord avec la théorie de l'acoustoélasticité (*Gennisson et al., 2007*), la tension accrue entraîne une augmentation de la rigidité musculaire. De plus, les fibres musculaires varient en longueur et en vitesse de raccourcissement, cela génère des déséquilibres entre les forces qu'ils supportent (*Kalkhoven and Watsford, 2020b*). Ainsi, la rigidité des fibres musculaires joue un rôle crucial dans la survenue de blessures.

En somme, une évaluation précise de la rigidité des muscles et adaptée à l'anisotropie fournit des indices importants sur la survenue, la caractérisation et la récupération de blessures. Cela permettra une meilleure prise en charge des athlètes.

## 2. Myopathies et le besoin d'un biomarqueur en clinique

Les myopathies sont un ensemble de troubles hétérogènes qui affectent principalement la structure musculaire squelettique et la fonction des canaux cellulaires (*Nagy and Veerapaneni, 2023*). En général, ces troubles se manifestent par une faiblesse ou une douleur musculaire qui entrave les activités quotidiennes. Certaines formes de myopathies peuvent affecter différents groupes musculaires tels que les cuisses, le dos ou les doigts. Elles peuvent être accompagnées d'autres symptômes tels que des éruptions cutanées, une fatigue accrue ou des crampes. Les causes de ces maladies sont très variées et souvent liées à des perturbations de l'intégrité des tissus musculaires ainsi qu'à des problèmes de stabilité métabolique.

Les myopathies sont classifiées en deux catégories : héréditaire et acquise. Les dystrophies musculaires figurent parmi les types de myopathies héréditaires les plus couramment rencontrés. Les dystrophies musculaires les plus répandues sont les dystrophies musculaires de Duchenne (DMD) et de Becker (DMB), qui touchent entre 19,8 et 25,1 personnes sur 100 000 chaque année (*Nagy and Veerapaneni, 2023*). Ces formes de dystrophie musculaire surviennent presque exclusivement chez les hommes. Elles présentent des signes et symptômes similaires. Leur origine est attribuée à des mutations distinctes d'un gène commun qui bloquent la synthèse de la dystrophine, une protéine essentielle dans l'articulation musculaire. Elle assure une transmission efficace de la force des fibres musculaires vers le squelette (section 2.b) (*Darras et al., 1993*) (*Al-Khalili Szigyarto and Spitali, 2018*).

Les dystrophies se caractérisent par une faiblesse progressive liée à la dégénérescence musculaire qui apparaît dès l'enfance. Les muscles squelettiques sont les premiers à être affectés, suivis des muscles respiratoires tels que le diaphragme et les

muscles abdominaux (*AFMTéléthon, n.d.*). De plus, ces deux formes de dystrophie sont associées à une maladie du muscle cardiaque ou cardiomyopathie. Ces anomalies cardiaques apparaissent généralement à l'adolescence. Avec le temps, le muscle cardiaque se développe anormalement et entraîne des symptômes sévères qui concernent principalement l'essoufflement et la perturbation du rythme cardiaque. Globalement, les symptômes et signes de la DMB sont moins graves et plus variés que ceux de la DMD (*Darras et al., 1993*). Les patients atteints de DMD vivent généralement jusqu'à une vingtaine d'années, tandis que les patients atteints de la DMB peuvent vivre jusqu'à une quarantaine d'années ou au-delà (*Darras et al., 1993*). La DMD affecte environ 1 personne sur 5 000 à 9 000, c'est la forme la plus prévalente de dystrophie musculaire (*Al-Khalili Szigyarto and Spitali, 2018*).

Ces dernières années, la recherche de biomarqueurs de myopathies a été au cœur d'investigations intenses. Différents biomarqueurs de diagnostics et de surveillance de la DMD ont été explorés par la communauté scientifique. Néanmoins, ces biomarqueurs nécessitent un protocole clinique complexe, invasif et peu d'entre eux ont été validés pour une utilisation clinique (*Al-Khalili Szigyarto and Spitali, 2018*). Plusieurs études récentes ont établi des liens entre les propriétés mécaniques des muscles et la dégénérescence dystrophique (*Moore et al., 2018*) (*Lin et al., 2021*) (*Li et al., 2016*). En particulier, l'anisotropie viscoélastique des muscles est une approche prometteuse pour comprendre la physiopathologie de la DMD et développer des biomarqueurs de dégradation musculaire (*Moore et al., 2018*). Ces futurs biomarqueurs visent à être plus efficaces, accessibles et non invasifs.

### 3. Objectifs du projet INNOVAN

Pour répondre à ces exigences, diverses méthodes d'élastographie ont été développées afin de quantifier la rigidité musculaire. A présent, la plupart des techniques d'élastographie utilisée en clinique, telles que l'élastographie par ultrasons, ne tiennent pas compte de toutes les propriétés mécaniques des tissus musculaires, comme la viscosité, l'anisotropie et la non-linéarité. Par conséquent, ces techniques ne sont pas suffisantes pour une caractérisation biomécanique complète des muscles.



Dans ce contexte, le projet INNOVAN a pour objectif global de développer de nouveaux outils d'élastographie par ultrasons permettant de quantifier la viscoélasticité, l'anisotropie et la non linéarité musculaire. Cette quantification permettra une caractérisation tridimensionnelle complète des muscles.

L'objectif ultime du projet est d'avoir un impact clinique significatif grâce à ces avancées. Sa première application consiste à quantifier et prédire les blessures musculaires qui surviennent fréquemment lors d'efforts intenses au cours de la pratique sportive et de la vie quotidienne. Les blessures musculaires représentent un enjeu majeur tant sur le plan de la santé, de l'économie et de la performance, à la fois dans le sport et en médecine. Il est donc crucial de mieux prédire leur survenue en développant ces outils de quantification.

La deuxième application issue du projet vise à développer une nouvelle modalité d'imagerie pour quantifier l'effet des myopathies. Elle permet également un diagnostic clinique dans de nombreux tissus, au-delà des muscles, tels que la peau, le cœur et les nerfs. Les propriétés mécaniques de ces différents tissus peuvent aussi être liées à l'apparition ou à la progression de la maladie.

Enfin, l'objectif à long terme du projet est d'accroître les connaissances de la biomécanique des muscles et de créer des outils d'imagerie clinique pour améliorer le traitement et la gestion des patients ou des sportifs.

## **II. Objectifs et organisation de la thèse**

Grâce aux développements en imagerie médicale tels que l'échographie et l'IRM, une relation entre les propriétés et les comportements mécaniques des muscles a été mise en évidence. Plus précisément, l'anisotropie musculaire, qui est étroitement liée à l'élasticité du tissu, peut servir d'un outil important concernant les myopathies et les blessures musculaires. L'objectif général de cette thèse est de développer de nouveaux biomarqueurs innovants pour prendre en compte la complexité des propriétés mécaniques tridimensionnelles du muscle.

La thèse a commencé par des expériences *in vitro* avec la méthode d'élastographie SSI. Les expériences ont été réalisées sur un fantôme de l'alcool polyvinylique (PVA) simulant un milieu transverse isotrope (TI) et les muscles fusiformes. L'objectif de cette étape est de reproduire les résultats des anciennes études de l'anisotropie par SSI. En tournant une sonde linéaire 2D de 180° et en concaténant les coupes 2D, nous avons remarqué l'existence d'un axe où la rigidité du milieu TI atteint son maximum. Cela correspond à l'axe de symétrie du milieu. Cette approche simple permet de quantifier l'anisotropie dans le plan de symétrie, et elle a déjà été utilisée dans des travaux antérieurs. En appliquant cette méthode, dans le cadre d'une collaboration avec l'INRS (*l'Institut national de recherche et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles*), une nouvelle étude a été menée sur l'anisotropie des muscles de la main. Cette étude consiste à modéliser la main pour analyser l'effet de la vibration des machines sur la main des travailleurs. L'anisotropie et l'activation musculaire font partie des paramètres d'entrée de cette modélisation. Le module de cisaillement mesuré par SSI a permis de quantifier ces deux facteurs sur les muscles fusiformes de la main. Le travail a été exposé au congrès international des vibrations main-bras à Nancy, Juin, 2023. Un proceeding qui a été publié sera présenté comme la première étude de la thèse (Chapitre 3) (*Vauthier et al., 2023*).

Tout au long de la thèse, une nouvelle méthode de quantification de l'anisotropie élastique musculaire par ultrasons a été développée et mise en pratique. Cette méthode s'appuie sur SSI, une technique robuste de l'élastographie par ultrason. Une revue de littérature a été publiée (Chapitre 2), fournissant la base théorique de cette nouvelle méthode (*Ngo et al., 2022b*). Elle permet non seulement d'obtenir le module de cisaillement habituel de la méthode SSI classique, mais également les paramètres d'anisotropie élastique. Les premiers résultats de cette avancée ont été présentés lors des congrès internationaux (*Ngo et al., 2021*), (*Ngo et al., 2022a*) et ont suscité des retours positifs des chercheurs du monde entier. Un article décrivant cette technique et ses premières applications biomécaniques a été soumis pour publication et est également inclus dans cette thèse (Chapitre 4).

Pour la suite de ce travail, nous visons à étudier en profondeur la biomécanique des muscles squelettiques. Des études biomécaniques sont en cours de réalisation au sein

du laboratoire Motricité, Interactions, Performance (MIP) de l'université de Nantes. Ces études se sont concentrées sur le comportement de différents muscles squelettiques comme le biceps (fusiforme), le gastrocnémien (penné), le rectus femoris (bipenné), et d'autres présentant une variété de géométries et d'architectures de fibres. Les comportements mécanique lors de différents efforts physiques sont très diversifiés mais la relation entre ces deux facteurs reste encore obscure. Une compréhension approfondie de l'évolution des propriétés mécaniques lors des efforts physiques permettra de mettre en évidence cette relation, ce qui conduira à une meilleure caractérisation des propriétés mécaniques des muscles. La connaissance du fonctionnement des muscles squelettiques revêt une importance capitale dans la recherche sur les myopathies ainsi que les blessures sportives. L'objectif final de cette approche est d'utiliser la nouvelle technique d'élastographie pour trouver un biomarqueur d'anisotropie musculaire qui sert à diagnostiquer ainsi qu'à évaluer ces deux problématiques.

Un deuxième axe abordé au cours de cette thèse s'est focalisé sur la non linéarité élastique des muscles. Cela a été étudié à l'aide de la théorie de l'acoustoélasticité en milieu transverse isotrope. Avec une collaboration avec l'Institut de Physique Biologique (IPB), faisant partie du laboratoire Icube de l'Université de Strasbourg, nous avons réalisé des essais mécaniques en complément de l'élastographie par ultrasons. Ces essais visent à mesurer les paramètres mécaniques non accessibles par échographie. Ils jouent un double rôle en contribuant à la validation de la nouvelle méthode d'élastographie par ultrasons, et en déterminant les coefficients non linéaires des muscles. En parallèle du premier axe de la thèse, ces coefficients ont aussi part à la quantification des propriétés mécaniques des muscles. Les études cliniques sont également menées au laboratoire MIP afin de déterminer *in vivo* des coefficients non linéaires. Ce travail été présenté à trois reprises lors de congrès internationaux IEEE IUS (2020-2023), (Bied et al., 2020), (Bied et al., 2021), (Ngo, et al., 2022), suscitant des réactions positives des spécialistes du domaine. De plus, un article couvrant les deux aspects (*ex vivo* et *in vivo*) de ce sujet a été soumis et est également inclus dans cette thèse (Chapitre 5).

## D. BIBLIOGRAPHIE

---

- A. P. Sarvazyan, A. R. Skovoroda, S. Y. Emelianov, J. B. Fowlkes, J. G. Pipe, R. S. Adler, R. B. Buxton & P. L. Carson (n.d.). "Biophysical Bases of Elasticity Imaging," in *Acoustical Imaging Acoustical Imaging* book series.
- AFMTéléthon (n.d.). Dystrophie musculaire de Duchenne. Available at: <https://www.afm-telethon.fr/fr/fiches-maladies/dystrophie-musculaire-de-duchenne>.
- AFMTéléthon (n.d.). Le\_système\_musculaire\_squelettique\_. Available at: [https://www.afm-telethon.fr/sites/default/files/legacy/le\\_système\\_musculaire\\_squelettique\\_0309.pdf](https://www.afm-telethon.fr/sites/default/files/legacy/le_système_musculaire_squelettique_0309.pdf).
- Al-Khalili Szgyarto, C., and Spitali, P. (2018). Biomarkers of Duchenne muscular dystrophy: current findings. *DNND* Volume 8, 1–13. doi: 10.2147/DNND.S121099.
- Athanasidou, A., Tardivon, A., Tanter, M., Sigal-Zafrani, B., Bercoff, J., Deffieux, T., et al. (2010). Breast lesions: quantitative elastography with supersonic shear imaging--preliminary results. *Radiology* 256, 297–303. doi: 10.1148/radiol.10090385.
- Bercoff, J., Tanter, M., and Fink, M. (2004). Supersonic shear imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping. *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr.* 51, 396–409. doi: 10.1109/TUFFC.2004.1295425.
- Bied, M., Jourdain, L., and Gennisson, J.-L. (2020). Acoustoelasticity in transverse isotropic soft tissues: quantification of muscles' nonlinear elasticity. in *2020 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)* (Las Vegas, NV, USA: IEEE), 1–4. doi: 10.1109/IUS46767.2020.9251574.
- Bied, M., Schott, C., and Gennisson, J.-L. (2021). Refinement of the Acoustoelastic Theory in TI Quasi-Incompressible Media for Robust Muscle Nonlinear Elasticity Quantification. in *2021 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)* (Xi'an, China: IEEE), 1–4. doi: 10.1109/IUS52206.2021.9593702.
- Brian MacIntosh, Phillip F. Gardiner, Alan J. McComas (2005). *Skeletal Muscle: Form And Function*. Human Kinetics Publishers.
- Darras, B. T., Urion, D. K., and Ghosh, P. S. (1993). "Dystrophinopathies," in *GeneReviews®*, eds. M. P. Adam, G. M. Mirzaa, R. A. Pagon, S. E. Wallace, L. J. Bean, K. W. Gripp, et al. (Seattle (WA): University of Washington, Seattle). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1119/> [Accessed June 23, 2023].
- Deffinition of contraction (n.d.). Available at: <https://www.aquaportail.com/definition-34-contraction.html>.
- Department of Radiology Karaman State Hospital, Karaman, Turkey, Akkaya, H. E., Erden, A., Department of Radiology Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey, Kuru Oz, D., Department of Radiology Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey, et al. (2018). Magnetic resonance elastography: basic principles, technique, and clinical applications in the liver. *Diagn Interv Radiol* 24, 328–335. doi: 10.5152/dir.2018.18186.
- Erik Gregersen. (n.d.). shear wave. Available at: <https://www.britannica.com/science/shear-wave>.

- Eskinder Demeke (n.d.). How muscles contract by Eskinder Demeke. Available at: <http://humanbiologylab.pbworks.com/w/page/76683452/How%20muscles%20contract%20by%20Eskinder%20Demeke>.
- Frontera, W. R., and Ochala, J. (2015). Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. *Calcif Tissue Int* 96, 183–195. doi: 10.1007/s00223-014-9915-y.
- Fujikura, K., Makkiya, M., Farooq, M., Xing, Y., Humphrey, W., Mustehsan, M. H., et al. (2021). Speckle-Tracking Echocardiography with Novel Imaging Technique of Higher Frame Rate. *JCM* 10, 2095. doi: 10.3390/jcm10102095.
- Gennisson, J., Felix, N., Deffieux, T., Bercoff, J., and Tanter, M. (2008). Full 3D elasticity reconstruction using supersonic shear imaging technique for breast cancer diagnosis. in *IEEE Ultrasonic Symposium, Beijing*.
- Gennisson, J.-L., Deffieux, T., Fink, M., and Tanter, M. (2013). Ultrasound elastography: Principles and techniques. *Diagnostic and Interventional Imaging* 94, 487–495. doi: 10.1016/j.diii.2013.01.022.
- Gennisson, J.-L., Deffieux, T., Macé, E., Montaldo, G., Fink, M., and Tanter, M. (2010a). Viscoelastic and Anisotropic Mechanical Properties of in vivo Muscle Tissue Assessed by Supersonic Shear Imaging. *Ultrasound in Medicine & Biology* 36, 789–801. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.02.013.
- Gennisson, J.-L., Grenier, N., Hubrecht, R., Couzy, L., Delmas, Y., Derieppe, M., et al. (2010b). Multiwave technology introducing shear wave elastography of the kidney: Pre-clinical study on a kidney fibrosis model and clinical feasibility study on 49 human renal transplants. in *2010 IEEE International Ultrasonics Symposium* (San Diego, CA, USA: IEEE), 1356–1359. doi: 10.1109/ULTSYM.2010.5935793.
- Gennisson, J.-L., Rénier, M., Catheline, S., Barrière, C., Bercoff, J., Tanter, M., et al. (2007). Acoustoelasticity in soft solids: Assessment of the nonlinear shear modulus with the acoustic radiation force. *The Journal of the Acoustical Society of America* 122, 3211–3219. doi: 10.1121/1.2793605.
- Heeransh D. Dave; Micah Shook; Matthew Varacallo. (2022). *Anatomy, Skeletal Muscle*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537236/>.
- Hug, F., Tucker, K., Gennisson, J.-L., Tanter, M., and Nordez, A. (2015). Elastography for Muscle Biomechanics: Toward the Estimation of Individual Muscle Force. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 43, 125–133. doi: 10.1249/JES.0000000000000049.
- Janssen, I., Heymsfield, S. B., Wang, Z., and Ross, R. (2000). Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr. *Journal of Applied Physiology* 89, 81–88. doi: 10.1152/jappl.2000.89.1.81.
- Kalkhoven, J. T., and Watsford, M. (2020a). Mechanical Contributions to Muscle Injury: Implications for Athletic Injury Risk Mitigation. SportRxiv doi: 10.31236/osf.io/a5um4.
- Kalkhoven, J. T., and Watsford, M. (2020b). Mechanical Contributions to Muscle Injury: Implications for Athletic Injury Risk Mitigation. SportRxiv doi: 10.31236/osf.io/a5um4.
- Kalkhoven, J. T., and Watsford, M. L. (2018). The relationship between mechanical stiffness and athletic performance markers in sub-elite footballers. *Journal of Sports Sciences* 36, 1022–1029. doi: 10.1080/02640414.2017.1349921.

- Landau, L. D., Lifšić, E. M., Lifshitz, E. M., Kosevich, A. M., & Pitaevskii, L. P. (1986). *Theory of Elasticity*.
- Laure-Lise Gras (2011). Caractérisation du comportement mécanique du muscle à différentes vitesses de sollicitation.
- Lee, W. W., Couade, M., Flanagan, C., Fink, M., Pernot, M., and Tanter, M. (2010). Noninvasive Assessment of Myocardial Anisotropy in Vitro and in Vivo using Supersonic Shear Wave Imaging. in *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*.
- Li, G. D., Liang, Y. Y., Xu, P., Ling, J., and Chen, Y. M. (2016). Diffusion-Tensor Imaging of Thigh Muscles in Duchenne Muscular Dystrophy: Correlation of Apparent Diffusion Coefficient and Fractional Anisotropy Values With Fatty Infiltration. *AJR Am J Roentgenol* 206, 867–870. doi: 10.2214/AJR.15.15028.
- Lieber, R. L., and Friden, J. (2000). Functional and clinical significance of skeletal muscle architecture. *Muscle Nerve* 23, 1647–1666. doi: 10.1002/1097-4598(200011)23:11<1647::AID-MUS1>3.0.CO;2-M.
- Lim, Y.-J., Deo, D., Singh, T. P., Jones, D. B., and De, S. (2009). In situ measurement and modeling of biomechanical response of human cadaveric soft tissues for physics-based surgical simulation. *Surg Endosc* 23, 1298–1307. doi: 10.1007/s00464-008-0154-z.
- Lin, C.-W., Tsui, P.-H., Lu, C.-H., Hung, Y.-H., Tsai, M.-R., Shieh, J.-Y., et al. (2021). Quantifying Lower Limb Muscle Stiffness as Ambulation Function Declines in Duchenne Muscular Dystrophy with Acoustic Radiation Force Impulse Shear Wave Elastography. *Ultrasound in Medicine & Biology* 47, 2880–2889. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2021.06.008.
- Macé, E., and Cohen, I. (2011). In Vivo Mapping of Brain Elasticity in Small Animals Using Shear Wave Imaging. *Medical Imaging, ....*
- Mirnaziry, S. R., Wolff, C., Steel, M. J., Eggleton, B. J., and Poulton, C. G. (2017). Stimulated Brillouin scattering in integrated ring resonators. *J. Opt. Soc. Am. B* 34, 937. doi: 10.1364/JOSAB.34.000937.
- Montaldo, G., Tanter, M., Bercoff, J., Benech, N., and Fink, M. (2009). Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography. *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr.* 56, 489–506. doi: 10.1109/TUFFC.2009.1067.
- Moore, C. J., Caughey, M. C., Meyer, D. O., Emmett, R., Jacobs, C., Chopra, M., et al. (2018). In Vivo Viscoelastic Response (VisR) Ultrasound for Characterizing Mechanical Anisotropy in Lower-Limb Skeletal Muscles of Boys with and without Duchenne Muscular Dystrophy. *Ultrasound in Medicine & Biology* 44, 2519–2530. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2018.07.004.
- Mukund, K., and Subramaniam, S. (2020). Skeletal muscle: A review of molecular structure and function, in health and disease. *WIREs Mechanisms of Disease* 12. doi: 10.1002/wsbm.1462.
- Muller, M., Gennisson, J.-L., Deffieux, T., Tanter, M., and Fink, M. (2009). Quantitative viscoelasticity mapping of human liver using supersonic shear imaging: preliminary in vivo

- feasibility study. *Ultrasound in medicine & biology* 35, 219–29. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2008.08.018.
- Muscles types (n.d.). *NIH*. Available at: <https://training.seer.cancer.gov/anatomy/muscular/types.html#:~:text=Skeletal%20muscle%2C%20attached%20to%20bones,muscle%20fiber%20with%20many%20nuclei>.
- Muthupillai, R., Lomas, D. J., Rossman, P. J., Greenleaf, J. F., Manduca, A., and Ehman, R. L. (1995). Magnetic Resonance Elastography by Direct Visualization of Propagating Acoustic Strain Waves. *Science* 269, 1854–1857. doi: 10.1126/science.7569924.
- Nagy, H., and Veerapaneni, K. D. (2023). “Myopathy,” in *StatPearls* (Treasure Island (FL): StatPearls Publishing). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562290/> [Accessed June 23, 2023].
- Narayanan, N., and Calve, S. (2021). Extracellular matrix at the muscle – tendon interface: functional roles, techniques to explore and implications for regenerative medicine. *Connective Tissue Research* 62, 53–71. doi: 10.1080/03008207.2020.1814263.
- Ngo, H.-H.-P., Andrade, R., Chatelin, S., Bruni, J., Benech, N., Frappart, T., et al. (2022a). Quantification of in vivo muscle elastic anisotropy factor by steered push beams. in *2022 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)* (Venice, Italy: IEEE), 1–4. doi: 10.1109/IUS54386.2022.9958479.
- Ngo, H.-H.-P., Bied, M., Bahlouli, N., Andrade, R., Nordez, A., Chatelin, S., et al. (2022). Anisotropic nonlinear shear elasticity quantification in ex vivo muscles. in *2022 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)* (Venice, Italy: IEEE), 1–4. doi: 10.1109/IUS54386.2022.9957407.
- Ngo, H.-H.-P., Frappart, T., Beuve, S., Fraschini, C., and Gennisson, J.-L. (2021). Direct in plane elastic anisotropy factor quantification with inclined push beams in muscles. in *2021 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)* (Xi'an, China: IEEE), 1–4. doi: 10.1109/IUS52206.2021.9593896.
- Ngo, H.-H.-P., Poulard, T., Brum, J., and Gennisson, J.-L. (2022b). Anisotropy in ultrasound shear wave elastography: An add-on to muscles characterization. *Front. Physiol.* 13, 1000612. doi: 10.3389/fphys.2022.1000612.
- Nguyen, T.-M., Aubry, J. F., Touboul, D., Bercoff, J., and Tanter, M. (n.d.). Assessment of shear anisotropy using Supersonic Shear Imaging with rotating arrays : in vivo evidence of cornea elastic anisotropy. in *IEEE International Ultrasonics Symposium, Orlando (USA)*.
- Radák, Z. (2018). “Skeletal Muscle, Function, and Muscle Fiber Types,” in *The Physiology of Physical Training* (Elsevier), 15–31. doi: 10.1016/B978-0-12-815137-2.00002-4.
- Radzik, A., Pagé, G., Ronot, M., Garteiser, P., and Van Beers, B. E. (2021). Bases techniques de l'élastographie par résonance magnétique. *Journal d'imagerie diagnostique et interventionnelle* 4, 379–386. doi: 10.1016/j.jidi.2021.04.005.
- Rosen, D., and Jiang, J. (2019). Analyzing acoustoelastic effect of shear wave elastography data for perfused and hydrated soft tissues using a macromolecular network inspired model. *Journal of Biomechanics* 97, 109370. doi: 10.1016/j.jbiomech.2019.109370.

- Sandrin, L., Tanter, M., Catheline, S., and Fink, M. (2002). Shear modulus imaging with 2-D transient elastography. *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Contr.* 49, 426–435. doi: 10.1109/58.996560.
- Sanja Hinić-Frlog (n.d.). *A\_Introductory\_Animal\_Physiology*. Available at: [https://med.libretexts.org/Bookshelves/Veterinary\\_Medicine/Book%3A\\_Introductory\\_Animal\\_Physiology\\_%28Hinic-Frlog%29/6%3A\\_Locomotion/6.4%3A\\_Muscle\\_Contraction](https://med.libretexts.org/Bookshelves/Veterinary_Medicine/Book%3A_Introductory_Animal_Physiology_%28Hinic-Frlog%29/6%3A_Locomotion/6.4%3A_Muscle_Contraction).
- Scott Secrest, DVM (n.d.). Basic Principles of Ultrasonography. Available at: <https://www.vetfolio.com/learn/article/basic-principles-of-ultrasonography>.
- Sebag, F., Vaillant-Lombard, J., Berbis, J., Griset, V., Henry, J. F., Petit, P., et al. (2010). Shear Wave Elastography: A New Ultrasound Imaging Mode for the Differential Diagnosis of Benign and Malignant Thyroid Nodules. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 95, 5281–5288. doi: 10.1210/jc.2010-0766.
- The Sliding Filament Theory of Muscle Contraction (n.d.). Available at: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/the-sliding-filament-theory-of-muscle-contraction-14567666/>.
- The ultrasound transmitter probe (n.d.). Available at: Source : <https://ecgwaves.com/topic/the-ultrasound-transmitter-probe/>.
- Vauthier, S., Noël, C., Settembre, N., Ngo, H. H. P., Gennisson, J.-L., Chambert, J., et al. (2023). Factoring Muscle Activation and Anisotropy in Modelling Hand-Transmitted Vibrations: A Preliminary Study. in *ICHAV 2023* (MDPI), 12. doi: 10.3390/proceedings2023086012.
- Wilson, G., Wood, G., and Elliott, B. (1991). The Relationship between Stiffness of the Musculature and Static Flexibility: An Alternative Explanation for the Occurrence of Muscular Injury. *Int J Sports Med* 12, 403–407. doi: 10.1055/s-2007-1024702.
- Wu, P. I., Minisini, S., and Edelman, E. R. (2009). Intramuscular drug transport under mechanical loading: resonance between tissue function and uptake. *J Control Release* 136, 99–109. doi: 10.1016/j.jconrel.2009.01.016.



## *Chapitre 2*

# ***Revue de littérature de la quantification d'anisotropie musculaire***

*(Article publié dans Frontiers in Physiology, 2022)*



## OPEN ACCESS

## EDITED BY

Ryota Akagi,  
Shibaura Institute of Technology, Japan

## REVIEWED BY

Masatoshi Nakamura,  
Nishikyushu University, Japan  
Andreea Borlea,  
UMF Timisoara, Romania

## \*CORRESPONDENCE

Jean- Luc Gennisson,  
jean-luc.gennisson@universite-paris-  
saclay.fr

## SPECIALTY SECTION

This article was submitted to Striated  
Muscle Physiology,  
a section of the journal  
Frontiers in Physiology

RECEIVED 22 July 2022

ACCEPTED 05 September 2022

PUBLISHED 28 September 2022

## CITATION

Ngo H-H-P, Poulard T, Brum J and  
Gennisson JL (2022), Anisotropy in  
ultrasound shear wave elastography: An  
add-on to muscles characterization.  
*Front. Physiol.* 13:1000612.  
doi: 10.3389/fphys.2022.1000612

## COPYRIGHT

© 2022 Ngo, Poulard, Brum and  
Gennisson. This is an open-access  
article distributed under the terms of the  
[Creative Commons Attribution License  
\(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or  
reproduction in other forums is  
permitted, provided the original  
author(s) and the copyright owner(s) are  
credited and that the original  
publication in this journal is cited, in  
accordance with accepted academic  
practice. No use, distribution or  
reproduction is permitted which does  
not comply with these terms.

# Anisotropy in ultrasound shear wave elastography: An add-on to muscles characterization

Ha-Hien-Phuong Ngo<sup>1</sup>, Thomas Poulard<sup>1</sup>, Javier Brum<sup>2</sup> and  
Jean- Luc Gennisson<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, Inserm, BioMaps, Laboratoire d'Imagerie Médicale Multimodale à Paris-Saclay, Orsay, France, <sup>2</sup>Laboratorio de Acústica Ultrasonora, Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Ultrasound shear wave elastography was developed the past decade, bringing new stiffness biomarker in clinical practice. This biomarker reveals to be of primarily importance for the diagnosis of breast cancer or liver fibrosis. In muscle this biomarker become much more complex due to the nature of the muscle itself: an anisotropic medium. In this manuscript we depict the underlying theory of propagating waves in such anisotropic medium. Then we present the available methods that can consider and quantify this parameter. Advantages and drawbacks are discussed to open the way to imagine new methods that can free this biomarker in a daily clinical practice.

## KEYWORDS

shear wave elastography, ultrafast ultrasound imaging, biomechanics, anisotropy, muscle

## 1 Introduction

At the end of the 20th century, static elastography was developed to enhance biological tissues characterization and medical diagnosis for pathological tissues (Ophir et al., 1991). It was inspired from the first clinical gesture of the physician, the manual palpation. It relied on the fact that the stiffness felt by the physician would translate the malignant nature of the tissue. Strain elastography was based on Hooke's law, that links Young's modulus (i.e. the stiffness  $E$ ) to the applied stress ( $\sigma$ ) and the observed strain ( $\varepsilon$ ) in an isotropic and purely elastic media:  $E = \sigma/\varepsilon$ . Some studies have been performed with this technique on muscle (Akagi et al., 2011; Chino et al., 2012; Chino et al., 2014) However, the applied stress was difficult to quantify and, in practice, only strain profile was known leading to qualitative information. To overcome this limitation, the so-called shear wave elastography (SWE) based on shear wave propagation was developed. This approach assumes that, for a quasi-incompressible elastic solid, the shear wave speed ( $V_S$ ) is related to the shear modulus ( $\mu$ ) and to the Young's modulus by the following relationship:  $E = 3\mu = 3\rho V_S^2$ , where  $\rho$  is the density of biological tissues ( $\sim 1,100 \text{ kg/m}^3$ ). Numerous ultrasound-based shear wave elastography techniques were developed based on this physical hypothesis. These techniques involved two main basic steps: i) generating shear waves within a tissue and ii) imaging their propagation to retrieve their speed (Ophir et al., 1991a; Sarvazyan et al., 1995; Nightingale et al., 2002; Gennisson et al., 2003; Sandrin et al., 2003; Palmeri et al., 2008; McAleavey et al., 2009). With these "dynamic" techniques muscle has been

widely investigated (Nordez et al., 2008; Akagi and Takahashi, 2013; Alfuraih et al., 2018; Hirata et al., 2020). Nonetheless, in order to solve the inverse problem (i.e. image tissue’s elasticity from shear wave velocity estimation), all these methods assume, in first approximation, that tissues are isotropic, quasi-incompressible and purely elastic media. However, this is not the case for muscles which can be modeled as transverse isotropic solid since they are composed of a random distribution of parallel fibers around one axis of symmetry (Eby et al., 2013). As a result, shear waves propagate faster along the muscle fibers than across the fibers (Gennisson et al., 2003; Miyamoto et al., 2015; Alfuraih et al., 2017). Thus, the link between Young’s modulus and shear waves speed is no more valid and the stiffness must be quantified by the estimation of two shear moduli,  $\mu_{//}$  and  $\mu_{\perp}$ , along and perpendicularly to the fibers respectively (Royer et al., 2011). In order to improve tissue characterization and potentially medical diagnosis, it is then important to define new biomarkers such as anisotropy. As an example, because shear wave speed is linearly related to muscle force (Hug et al., 2015), estimating muscle anisotropic behavior would be of particular interest to better characterize muscle behavior and adaptation to various phenomena, such as training or disuse. In neuromuscular diseases, such as Duchenne myopathy, changes in the muscle molecular organization (Zemla et al., 2021) could certainly lead to modification of mechanical properties that could impact anisotropy. In this review, we focus on the possible ways to quantify anisotropy after considering theoretical aspects of shear wave propagation in a transverse isotropic medium. Then, an overview of the main dynamic ultrasound-based SWE techniques that have been developed from one-dimensional (1D) (one value) to three-dimensional (3D) (stiffness volume) shear wave imaging is presented and discussed with special emphasis on the developments made to include anisotropy as a new biomarker for physicians.

## 2 Shear wave propagation in transverse isotropic medium

Most muscles often present a random distribution of fibers oriented in the same direction, which implies a symmetry about the fiber orientation. Because of this symmetry, muscles are usually modeled as a transverse isotropic (TI) tissue, i.e. a tissue whose physical properties (e.g. stiffness) are symmetric with respect to an axis that is normal to the plane of isotropy.

In the limit of small displacements, the stress-strain relationship in an anisotropic tissue is linear and can be described by Hooke’s law

$$\sigma_{ij} = C_{ijkl} \varepsilon_{kl} \tag{1}$$

where  $\sigma_{ij}$  is the stress tensor,  $\varepsilon_{kl}$  is the infinitesimal strain tensor,  $C_{ijkl}$  is the fourth-order stiffness tensor. In Eq. 1 summation over repeated indices is implied (i.e. Einstein’s summation notation).

In a TI tissue, based on symmetry, the eighty-one entries of the stiffness tensor are reduced to only five and Eq. 1 can be expressed using Voigt’s notation as follows:

$$\begin{bmatrix} \sigma_1 \\ \sigma_2 \\ \sigma_3 \\ \sigma_4 \\ \sigma_5 \\ \sigma_6 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & C_{13} & 0 & 0 & 0 \\ C_{12} & C_{11} & C_{13} & 0 & 0 & 0 \\ C_{13} & C_{13} & C_{33} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & C_{44} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & C_{44} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & C_{66} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \varepsilon_3 \\ \varepsilon_4 \\ \varepsilon_5 \\ \varepsilon_6 \end{bmatrix} \tag{2}$$

with  $C_{66} = (C_{11} - C_{12})/2$ . It is important to mention that in Eq. 2 the symmetry axis of the material (i.e. given by the direction of muscle fibers) is oriented parallel to  $\hat{x}_3$ . Eq. 2 can also be expressed in terms of the Young’s moduli ( $E_L, E_T$ ), Poisson’s ratios ( $\nu_{LT}, \nu_{TT}$ ) and shear moduli ( $\mu_L, \mu_T$ ), as

$$\begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \varepsilon_3 \\ \varepsilon_4 \\ \varepsilon_5 \\ \varepsilon_6 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1/E_T & -\nu_{TT}/E_T & -\nu_{LT}/E_L & 0 & 0 & 0 \\ -\nu_{TT}/E_T & 1/E_T & -\nu_{LT}/E_L & 0 & 0 & 0 \\ -\nu_{LT}/E_L & -\nu_{LT}/E_L & 1/E_L & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1/\mu_L & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1/\mu_L & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1/\mu_T \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \sigma_1 \\ \sigma_2 \\ \sigma_3 \\ \sigma_4 \\ \sigma_5 \\ \sigma_6 \end{bmatrix} \tag{3}$$

where  $\mu_T = \frac{1}{2}E_T/(1 + \nu_{TT})$  and the subscripts  $L$  and  $T$  correspond to the longitudinal and transverse directions relative to the symmetry axis, respectively.

A smart way to non-invasively measure the mechanical properties of TI tissue is to use wave propagation, since as in isotropic tissues, the wave speed is directly linked to the tissue’s stiffness constants or equivalently to the tissue’s Young and shear moduli. The fundamental difference between isotropic and TI tissue is that the wave speed will depend not only on the direction of propagation but also on the wave polarization. Particularly, the elastic wave propagation in TI tissue is governed by a set of linear equations known as “Christoffel equations” which relate wave speed, propagation direction, polarization and mechanical properties.

Let us consider a TI tissue that obeys Hooke’s law. In the absence of body forces a disturbance propagating within the medium will obey the following wave equation

$$\rho \frac{\partial^2 u_i}{\partial t^2} = C_{ijkl} \frac{\partial^2 u_l}{\partial x_j \partial x_k} \tag{4}$$

Where  $u_i$  ( $i = 1, 2, 3$ ) denotes the components of the displacement field and  $\rho$  is the material density assumed to be constant ( $\sim 1,100 \text{ kg/m}^3$ ). Under plane wave decomposition, a monochromatic plane wave of the form  $u_i(\vec{r}, t) = u_o \exp[i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)]$  where the wave amplitude is  $u_o$ ,  $\vec{k}$  denotes the wave vector and  $\omega$  is the frequency is a non-trivial solution of Eq. 4 if the following secular equation is satisfied:

$$|C_{ijkl} k_j k_l - \rho \omega^2 \delta_{ik}| = 0 \tag{5}$$

Eq. 5 can be rewritten in terms of the phase velocity  $v = \omega/k$ , the direction cosines  $n_i$  ( $i = 1, 2, 3$ ) and the Christoffel matrix  $\Gamma_{ik} = C_{ijkl}n_jn_l$  as

$$|\Gamma_{ik} - \rho v^2 \delta_{ik}| = 0 \tag{6}$$

Eq. 6 corresponds to the eigenvalue equation for matrix  $\Gamma$  and is known as the Christoffel equation. From Eq. 2, we may now write  $\Gamma$  in the particular case of a TI tissue:

$$\Gamma = \begin{pmatrix} C_{11}n_1^2 + C_{66}n_2^2 + C_{44}n_3^2 & (C_{11} + C_{66})n_2n_1 & (C_{44} + C_{13})n_1n_3 \\ (C_{11} + C_{66})n_2n_1 & C_{66}n_1^2 + C_{11}n_2^2 + C_{44}n_3^2 & (C_{44} + C_{13})n_2n_3 \\ (C_{44} + C_{13})n_1n_3 & (C_{44} + C_{13})n_2n_3 & C_{44}n_1^2 + C_{44}n_2^2 + C_{33}n_3^2 \end{pmatrix} \tag{7}$$

In what follows we will consider some examples of particular interest for shear wave elastography in muscles.

i)  $\vec{n} = (1, 0, 0)$ : For this case there are three different phase velocities (i.e. three different eigenvalues) given by  $v_1 = \sqrt{C_{11}/\rho}$ ,  $v_2 = \sqrt{C_{66}/\rho}$  and  $v_3 = \sqrt{C_{44}/\rho}$  with eigenvectors  $\hat{e}_1 = (1, 0, 0)$ ,  $\hat{e}_2 = (0, 1, 0)$  and  $\hat{e}_3 = (0, 0, 1)$ , respectively. The first eigenvector corresponds to a pure longitudinal mode propagating at the speed of ultrasound while the second and third eigenvector correspond to pure shear modes with phase velocities given by the shear moduli  $\mu_T$  and  $\mu_L$ , respectively. Consequently, the shear anisotropy can be measured by propagating shear waves in depth and using a source that favors each mode, as it is depicted in Royer et al., 2011.

ii)  $\vec{n} = (0, \sin(\phi), \cos(\phi))$ : For this example, an evident solution to Eq. 6 is:

$$\rho v^2 = C_{66}\sin^2(\phi) + C_{44}\cos^2(\phi) \tag{8}$$

with eigenvector  $\hat{e}_1 = (1, 0, 0)$ , thus, corresponding to a “pure” shear wave which is the mode often used in most shear wave elastography techniques applied to skeletal muscle. This mode is termed shear horizontal (SH) in the sense that the wave polarization vector  $\hat{e}_1$  is perpendicular to the plane formed by the material symmetry axis and wave propagation direction. As it will be seen below there are other ways to generate a SH mode.

It is important to point out that the velocity given by Eq. 8 corresponds to the phase velocity of the wave which is not the magnitude measured by many elastography techniques. Many elastography techniques measure the time of flight of a wave packet through a known distance to compute the wave velocity. This corresponds to the group velocity of the wave packet. In a non-dispersive isotropic medium, the phase and group velocities are identical. However, in a TI tissue the phase and group velocity along the same direction are not necessarily equal. From Eq. 8 it can be shown that the group velocity  $v_g$  obeys the following equation (Wang et al., 2013):

$$\rho v_g^2 = \frac{C_{44}C_{66}}{C_{44}\sin^2(\phi) + C_{66}\cos^2(\phi)} \tag{9}$$

iii)  $\vec{n} = (\sin(\theta), 0, \cos(\theta))$ : This corresponds to the case of shear wave elastography being applied to pennate muscle,

particularly, when wave propagation vector forms an angle with the fiber orientation. In this example the eigenvalues are given by:

$$\rho v_{1,3}^2 = \frac{1}{2} \left[ \Gamma_{11} + \Gamma_{33} \mp \sqrt{(\Gamma_{33} - \Gamma_{11})^2 + 4\Gamma_{13}^2} \right] \tag{10}$$

(where the minus sign corresponds to the first eigenvalue) and:

$$\rho v_2^2 = \Gamma_{22} = C_{66}\sin^2(\theta) + C_{44}\cos^2(\theta) \tag{11}$$

The second eigenvalue corresponds to a pure shear wave, i.e. with eigenvector parallel to  $\hat{x}_2$  while the first and third eigenvalues correspond to a quasi-shear and a quasi-longitudinal wave. In the incompressibility limit the phase velocity for the quasi-shear mode reduces to (Rouze et al., 2013):

$$\begin{aligned} \rho v_1^2 &= \mu_L + \left( \frac{E_L}{E_T} \mu_T - \mu_L \right) \sin^2(2\theta) \\ &= C_{44} + \left( \frac{C_{33}C_{11} - C_{13}^2}{4(C_{11} - C_{66})} - C_{44} \right) \sin^2(2\theta) \end{aligned} \tag{12}$$

and its polarization is purely transverse. It is important to point out that the incompressibility limit, shear wave propagation in TIT only depends on three mechanical properties:  $\mu_L$ ,  $\mu_T$  and the anisotropy ratio of the Young’s moduli  $\frac{E_L}{E_T}$ . Thus, all three parameters required to characterize an incompressible TI material can be measured by observing shear wave propagation in the material. Finally, in the recent work of (Rouze et al., 2019) and (Caenen et al., 2020) the following terminology was used to describe both transverse modes: a SH mode (i.e. defined in Eq. 11) and the shear vertical (SV) mode which is defined by a wave polarization vector parallel to this plane (i.e. mode corresponding to the first eigenvalue in the incompressibility limit).

In the next parts, we will describe the most representative work allowing the quantification of biological tissues anisotropy using ultrasound elastography techniques, from 1D to 3D elastography in transverse isotropic medium.

### 3 Anisotropy quantification by elastography methods

#### 3.1 1D elastography

1D elastography is, to our knowledge, the first dynamic ultrasound elastography technique that was developed to quantify elastic anisotropy through the use of the shear elasticity probe (Gennisson et al., 2003). The idea was to change the polarization of shear waves to measure the shear modulus along and perpendicular to fibers. Gennisson et al. (2003) proposed to use a rod fixed on a vibrator to increase the energy of shear waves perpendicularly to its axis of percussion. Then, by placing the probe parallel or perpendicular to the muscle fibers, the shear waves speed could be retrieved by

following the theoretical part described in Section 2 (Eq. 8). This allows the quantification of muscle stiffness *ex vivo* (Genisson et al., 2003) and *in vivo* (Genisson et al., 2005). This device is presented in Figure 1A on an *in vivo* experiment on the *biceps brachii*. Figure 1B displays the device allowing the estimation of the elastic non-linear shear parameters in an acoustoelasticity experiment by quantifying the apparent anisotropy induced by a uniaxial stress applied on the medium (Catheline et al., 2003).

To improve this 1D approach, Chatelin et al. (2014a) proposed a new remote shear wave elasticity probe for anisotropy investigation based on radiation force of a focused ultrasound beam. The previous mini-shaker that generates shear waves on the shear elasticity probe was replaced by a focused transducer that will create remotely and locally within the muscle a shear wave source (Sarvazyan et al., 1998). Closely to this focused transducer, 8 single transducers were smartly placed to track the shear wave propagation parallel and perpendicular to the muscle fibers (Tanter et al., 2016). Taking advantage of this first prototype, Pedreira et al. (2021) recently developed a new compact probe to investigate stiffness anisotropy of the myocardium. The transducer is composed of five concentric annular elements and three lateral elements. The annular elements allow the generation of an acoustic radiation force at a chosen depth and display the M-mode images of the region of interest for a better positioning of the probe. Lateral elements are angularly spaced at 120° to estimate the local displacement in the medium around the pushing zone. Shear velocities along and across the fibers are finally assessed thanks to the ellipse fitting of the propagating shear wave using Eq. 9.

### 3.2 2D elastography

Complementary to 1D elastography, 2D elastography devices were developed using different approaches. As for 1D elastography, multiple shear wave sources were proposed

leading to different 2D elastography methods, most of which are presented here:

#### 3.2.1 Transient elastography

In 2004, Catheline proposed to adapt 1D transient elastography to anisotropic measurements in 2D. A plate was fixed on a mini-shaker to generate 2D plane shear waves in a muscle. Shear waves were then caught in 2D by an ultrafast ultrasound probe composed of 128 channels. By placing the shaking plate along or perpendicular to muscle fibers, they deduced both shear moduli along two axes of an *ex vivo* muscle (Catheline et al., 2004).

#### 3.2.2 Supersonic shear imaging

The development of the Supersonic Shear Imaging (SSI) technique (Bercoff et al., 2004) is a major breakthrough in the field of 2D elastography. Briefly, this technique consists in generating shear waves by using the acoustic radiation force and catching their propagation by using ultrafast imaging that allows an imaging frequency up to 20 kHz. Genisson et al. (2010) were, to our knowledge, the first to quantify muscle anisotropy in 2D. Two muscles were studied: human *biceps brachii* and *brachialis*, which are fusiform muscles parallel to each other. Stiffness of both muscles were measured during isometric contractions and passive extensions (Figure 2) by using two probe positions: parallel and perpendicular to the fibers. In this specific case the shear wave group velocity was investigated as described in the theoretical part Section 2. Shear waves group velocity was measured at different levels of isometric contraction. As a result, sets of shear wave group velocity maps of two adjacent muscles oriented differently with different degrees of stress (isometric contraction and passive extension) were produced in both orientations of the shear wave propagation. The relationship between elasticity and anisotropy was then studied. The authors found that shear wave group velocity progressively decreased as the probe was more and more

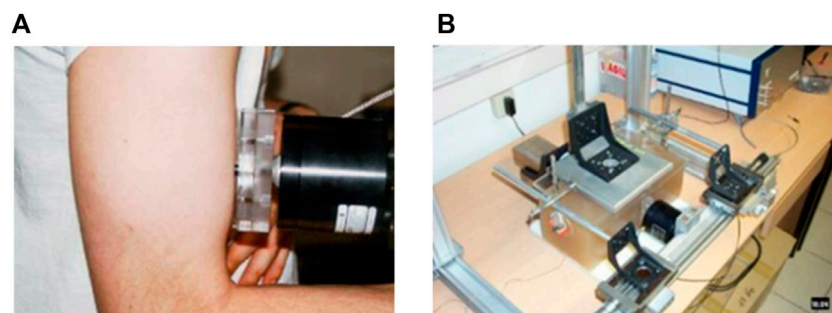
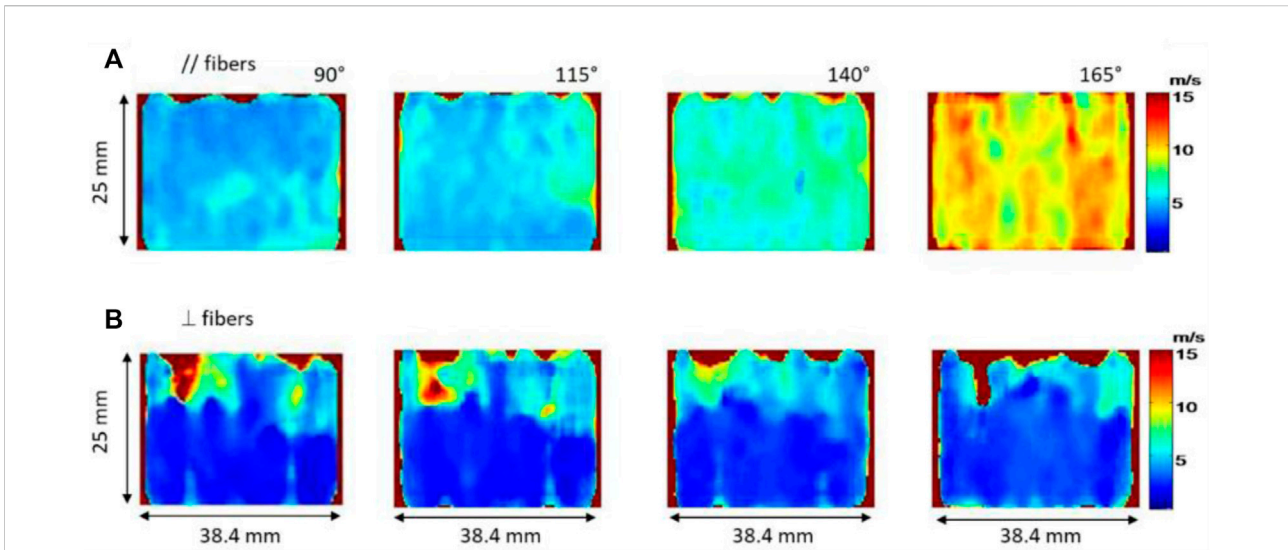
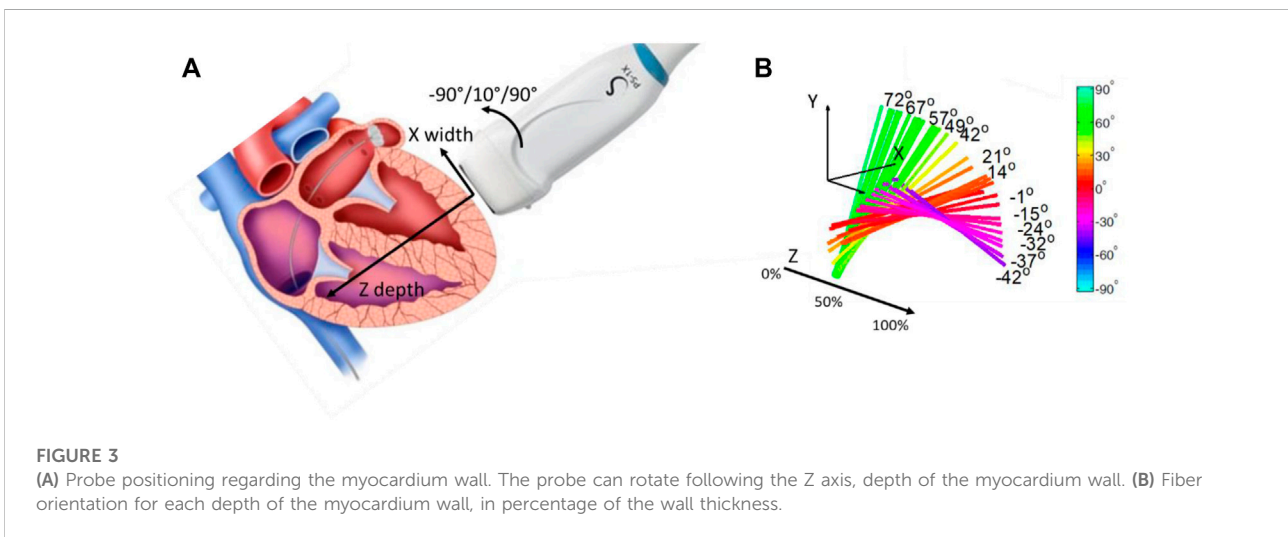


FIGURE 1

(A) 1D shear elasticity probe applied *in vivo* on the *biceps brachii* to quantify stiffness anisotropy by rotating the rod fixed on the mini-shaker. (B) Apparent anisotropy quantified with two 1D shear elasticity probe in an acoustoelasticity experiment on agar-gelatin phantom.



**FIGURE 2** Shear wave velocity maps of the biceps brachii for passive extension of the elbow with different angle (from 90° to 165° with 25° step) along the fibers (A) and perpendicularly to the fibers (B).



**FIGURE 3** (A) Probe positioning regarding the myocardium wall. The probe can rotate following the Z axis, depth of the myocardium wall. (B) Fiber orientation for each depth of the myocardium wall, in percentage of the wall thickness.

perpendicular to muscle fibers. More so, experimentally it was observed that this decrease was even more pronounced in the contracted state than in the relaxed state. It was thus deduced that the evaluation of muscle anisotropy would be more evident in the contracted state than the relaxed one. Through these measurements, the muscle anisotropic mechanical properties can be assessed with a complete set of quantitative data.

In 2012, to validate the use of the SSI method as a tool to quantify anisotropy, Lee et al. (2012a); Lee et al. (2012b) investigated myocardium fiber orientation. Myocardium is structured in distinct layers with varying orientations across

the heart wall (Streeter and Bassett 1966; Streeter et al., 1969). In this work, the ultrasonic probe was placed at the surface of an *ex vivo* myocardium and rotated around a single axis (Figure 3A). Shear waves were generated by using acoustic radiation force and shear wave velocities were measured for different depths within the myocardium for each angle of rotation (Figure 3B). By looking at the maximum velocity as a function of the angle for each depth, the muscle fiber orientation was retrieved. Results were compared to diffusion tensor imaging by using magnetic resonance imaging, a technique allowing the tracking of fibers orientation in space. A good agreement between the two

techniques showed that this ultrasonic approach, so-called elastic tensor imaging, can be proposed for the assessment of the fiber structure in muscle.

Following the same method of a pushing beam followed by an ultrafast acquisition, Urban et al. (2015) used in 2016 a transesophageal ultrasonic probe to generate in an *ex vivo* myocardium shear waves. By using an ultrafast device, they quantified shear wave velocity at different frequencies (50, 100 and 200 Hz) for different angle of the probe regarding the muscle fibers (from 0° to 170° with 9° increment). They found that low frequencies yield low sensitivity to the fiber's orientation and the true wave speeds in the layers was underestimated. By using excitations at higher frequencies, a better estimation of the fiber orientation and more accurate shear wave speeds measurement was possible. This work provided the understanding that the anisotropy factor is clearly better determined at high shear wave frequencies.

### 3.2.3 Shear wave ultrasound vibrometry

In 2009, Chen et al. proposed to investigate anisotropy in an *ex vivo* muscle by using the Shear wave Dispersion Ultrasound Vibrometry (SDUV) technique. The basic principle of SDUV is to generate a harmonic shear wave by an ultrasound beam (*i.e.*, push), and its propagation is monitored by a separate ultrasound beam (*i.e.*, detection beam). The shear wave speed is calculated from its phase measured at 2 different locations separated by a known distance along its traveling path (Chen et al., 2009). The results of this study were compared with finite element simulations. This technique was also used to measure the viscoelastic properties of *ex vivo* bovine and porcine striated muscles (Urban et al., 2009; Urban and Greenleaf, 2009). In these studies, the measurements were performed along and across the muscle fibers. As an example, in the bovine muscle tissue, the shear modulus values retrieved were  $\mu_{//} = 29$  kPa and  $\mu_{\perp} = 12$  kPa, measured along and across the muscle fibers, respectively. In the porcine muscle tissue, the values were  $\mu_{//} = 12.7$  kPa and  $\mu_{\perp} = 5.3$  kPa, measured along and across the muscle fibers, respectively. The studies showed an anisotropic ratio of about 2–3 when performing the ratio of shear waves speed along and across muscle fibers.

### 3.2.4 Acoustic radiation force impulse—shear wave speed

In parallel to the development of supersonic shear imagine technique, Nightingale et al. (2003) proposed in 2003 to use acoustic radiation force impulse as a source for shear wave generation. The principal difference with supersonic imagine was the way to image the propagation of shear waves by using parallel beamforming over a small number of tracking lines close to the pushing beam. In 2013, Rouze et al. (2013) developed a finite element simulation of shear wave propagation in an incompressible transversely isotropic medium opening the way to use the ARFI-SWS technique in studies. Recently,

Rouze et al. (2020) investigated a new modeling technique using the Green's tensor method to better characterize this anisotropy (Rouze et al., 2020). The Green's tensor is expressed with an analytic expression of SH mode and an integral expression of SV mode which allow to reduce the number of numerical integrals by a factor up to  $10^9$ , significantly lessening computational complexity. The SV and SH propagation mode were defined by the relative orientation of waves polarization with respect to the plan formed by waves propagation and material symmetry axis. This method is able to provide the three parameters that characterize an incompressible and TI material: the longitudinal  $\mu_{//}$  and transverse  $\mu_{\perp}$  shear modulus, and the tensile anisotropy  $\chi_E$  (the ratio between the Young's modulus parallel and the Young's modulus perpendicular to the fibers) following an ARFI-SWS. Taking advantage of this modeling method, ultrasonic rotational 3D elasticity imaging was developed to fully characterize muscle mechanical properties (Knight et al., 2021). To estimate the three mentioned parameters, both SH and SV are measured by rotating the probe in 3D. Regarding the modes, only  $\chi_E$  has an impact on the SV propagation. *In vivo* human experiments were conducted on the *vastus lateralis*, a pennate muscle. That allows to experimentally identify group SH and SV velocity using the Radon sum algorithm (Rouze et al., 2010). By fitting these experimental values to Eqs. 11, 12, all three transverse isotropic material parameters were computed.

## 3.3 3D elastography

To palliate the problem of being restrained to a 1D linear transducer that move or rotate to get a full 2D elastography volume, Wang et al. (2013) combined a spherical transducer, used to generate a shear wave by ARFI, with a 2-D matrix array to image shear wave propagation. By imaging the propagation of the shear wave plane by plane in a sequential way, they were able to synthetically reconstruct the shear wave propagation in the entire volume. One advantage of this technique is that the pushing beam is maintained at the same location while the tracking beams are shifted in different directions, which effectively allows for the quantification of the elastic anisotropy. However, because acquisitions must be repeated sequentially to acquire the full volume, the technique yields a low volumetric frame rate and as such is limited in presence of motion due, *e.g.*, to breathing or pulsatility. In Provost et al. (2014) developed further away the concept of ultrafast ultrasound imaging to 2D matrix array by designing a 3D ultrafast ultrasound device driving 1,024 channels. With intuitive beamforming reconstruction applied to the small aperture of 2D matrix array, Provost et al. (2014) proposed new ways to image the full volume of large organs in real time such as the heart. Later, Genisson et al. (2015) took advantage of this new ultrafast device to proposed

the first full 3D shear wave elastography probe with an ultrafast ultrasound device. Therefore, shear wave propagation can be induced and imaged in three-dimensions, and tissue stiffness can be estimated in a full volume. Experiments were performed in an isotropic breast phantom dedicated to elastography and *in vivo* measurements were also performed on a healthy volunteer in the upper right quadrant of the breast. Correia et al. (2018) then showed that anisotropy was quantifiable with this approach in three-dimensions, at high volume rate and in a few minutes of post-processing. The technique was evaluated numerically in simulated transverse isotropic model with different degrees of stiffness and anisotropy. They showed good results in weakly transversely isotropic media (PVA phantoms, Chatelin et al., 2014b) and quantification of low fractional anisotropy (< 0.34) was validated with numeric simulation.

## 4 Discussion

Shear wave ultrasound elastography is an important research field and has been growingly used in a variety of clinical settings over the last 15 years. It has provided a set of ultrasound methods allowing the noninvasive assessment of tissue stiffness *in vivo*. Several studies have shown that tissue stiffness is of great value for medical diagnosis. These advantages should certainly lead to new applications of shear wave elasticity imaging, not only for diagnosis but also for the follow-up of tissue mechanical properties in a wide range of population, whether it is athletes or patients affected with neuromuscular dystrophies to name a few. The real-time capability of some of these shear wave techniques also allowed the development of 3D elastography imaging that should facilitate the clinical use for detection, therapy planning and monitoring in the routine clinical practice.

In all these approaches, tissues are assumed to be isotropic and the variation of the shear modulus in biological tissues offers a contrast that is potentially more interesting than conventional ultrasound. This was possible because researchers have decrypted the underlying physics of each shear wave elastography method to understand their advantages and physical limitations. In this paper, we have highlighted the available shear wave elastography methods which brought effective tools that was enhanced to define new biomarker such as anisotropy. We depicted the methods for muscular elastic anisotropy characterization from the simplest in 1D to the more complex in 3D.

All methods have their advantages, such low cost in 1D elastography (Pedreira et al., 2021) or full characterization in 3D elastography (Correia et al., 2018), and drawbacks, such as the rotation step in 2D (Gennisson et al., 2010), but all allow the determination of tissue anisotropy. Globally, only the simplest case of anisotropy, TI medium were examined. This anisotropy is

easily investigable in fusiform muscle such as *biceps brachii*. Otherwise, muscles have diverse arrangements which are much more complicated than parallel structures (fusiform) with notably higher anisotropic degree, namely, circular muscles (*orbicularis oris* muscle), convergent muscles (*pectoralis major*) or bipennate muscle (*rectus femoris*), etc. Further research on different muscle models is essential to achieve a powerful method of 3D elastography that considers all the possible muscle anisotropies. Finally, all available elastography methods are unable to provide information on the orientation of the fibers in the elevation dimension (shear waves are always polarized in this axis of the ultrasound). This issue must be carefully studied to improve the 3D elastic maps.

For this biomarker, anisotropy, to be clinically relevant and usable, its quantification needs to be facilitated. For example, 2D elastography can be used to quantify tissue anisotropy in 3D by performing multiple recordings with various probe angle. In the case of fusiform muscle, if the probe is placed parallel to fibers, with a rotation around the axis defined by the ultrasound beam it is possible to determine the fiber orientation with only shear wave velocity measurements. However, in pennate muscle shear wave velocity measurements must be supplemented with Bmode acquisition in order to retrieve fiber orientation. Here 3D rotation is definitively needed as demonstrated by Knight et al., 2021. However, probe rotation is a major drawback and is not applicable to a muscle with constantly changing contraction levels. 3D elastography appears to bridge the gap between these limitations and what is expected from clinicians but still requires expensive device that are rarely if ever available in a clinical setting. So the last solution would be to use a 2D device that is fast enough to assess locally anisotropy but limits the measurement to one point, which can be a problem for full muscle characterization in specific pathologies such as myopathies. Considering all these advantages and drawbacks of these techniques, the ultimate goal would be to find a way to quantitatively estimate muscle anisotropy in real time in a 2D imaging plane without moving the probe.

## 5 Conclusion

Over the last 20 years, ultrasound elastography have been massively studied and deployed in various clinical and scientific settings. Beside stiffness, ultrasound elastography allows the assessment of tissue anisotropy, whether by performing multiple acquisitions using 1D or 2D elastography, or a single acquisition using 3D elastography. Tissue anisotropy may be a very relevant biomarker of tissue mechanical properties and could improve our understanding of muscle adaptations during aging, training, or diseases. Further developments should mainly focus on the implementation of readily available ultrasound elastography sequences that would allow clinicians and specialist to monitor tissue anisotropy on a daily basis.



## Author contributions

H-H-PN, TP, JB, and J-LG contribute equally in the conception, writing and editing of the presented manuscript.

## Funding

Authors would like to acknowledge their funding support: “Agence Nationale pour la Recherche” (ANR—France) through the grant INNOVAN (ANR-19-CE19-0017). PEDCIBA-Uruguay and the Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII-Uruguay) through the grant FMV\_1\_2019\_1\_155527.

## References

- Akagi, R., and Takahashi, H. (2013). Acute effect of static stretching on hardness of the gastrocnemius muscle. *Med. Sci. Sports Exerc.* 45 (7), 1348–1354. doi:10.1249/MSS.0b013e3182850e17
- Akagi, R., Chino, K., Dohi, M., and Takahashi, H. (2011). Relationships between muscle size and hardness of the medial gastrocnemius at different ankle joint angles in young men. *Acta Radiol.* 53, 307–311. doi:10.1258/ar.2011.110481
- Alfuraih, A. M., O'Connor, P., Tan, A. L., Hensor, E., Emery, P., and Wakefield, R. J. (2017). An investigation into the variability between different shear wave elastography systems in muscle. *Med. Ultrason.* 19 (4), 392–400. doi:10.11152/mu-1113
- Alfuraih, A. M., O'Connor, P., Hensor, E., Tan, A. L., Emery, P., and Wakefield, R. J. (2018). The effect of unit, depth, and probe load on the reliability of muscle shear wave elastography: Variables affecting reliability of SWE. *J. Clin. Ultrasound* 46 (2), 108–115. doi:10.1002/jcu.22534
- Bercoff, J., Tanter, M., and Fink, M. (2004). Supersonic shear imaging: A new technique for soft tissue elasticity mapping. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 51, 396–409. doi:10.1109/TUFFC.2004.1295425
- Caenen, A., Knight, A. E., Rouze, N. C., Bottenus, N. B., Segers, P., and Nightingale, K. R. (2020). Analysis of multiple shear wave modes in a nonlinear soft solid: Experiments and finite element simulations with a tilted acoustic radiation force. *J. Mech. Behav. Biomed. Mat.* 107, 103754. doi:10.1016/j.jmbbm.2020.103754
- Catheline, S., Gennisson, J.-L., and Fink, M. (2003). Measurement of elastic nonlinearity of soft solid with transient elastography. *J. Acoust. Soc. Am.* 114, 3087–3091. doi:10.1121/1.1610457
- Catheline, S., Gennisson, J.-L., Delon, G., Fink, M., Sinkus, R., Abouelkaram, S., et al. (2004). Measuring of viscoelastic properties of homogeneous soft solid using transient elastography: An inverse problem approach. *J. Acoust. Soc. Am.* 116, 3734–3741. doi:10.1121/1.1815075
- Chatelin, S., Correia, M., Gennisson, J.-L., Tanter, M., and Pernot, M. (2014a). Submission A new portable probe for real-time ultrasound elastic tensor imaging in fibrous tissues. *IEEE Int. Ultrason. Symp. (IUS)*. Chicago, USA. doi:10.13140/2.1.3722.4964
- Chatelin, S., Bernal, M., Deffieux, T., Papadacci, C., Flaud, P., Nahas, A., et al. (2014b). Anisotropic polyvinyl alcohol hydrogel phantom for shear wave elastography in fibrous biological soft tissue: a multimodality characterization. *Phys. Med. Biol.* 59, 6923–6940. doi:10.1088/0031-9155/59/22/6923
- Chen, S., Urban, M., Pislaru, C., Kinnick, R., Zheng, Y., Yao, A., et al. (2009). Shear wave dispersion ultrasound vibrometry (SDUV) for measuring tissue elasticity and viscosity. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 56, 55–62. doi:10.1109/TUFFC.2009.1005
- Chino, K., Akagi, R., Dohi, M., Fukashiro, S., and Takahashi, H. (2012). Reliability and validity of quantifying absolute muscle hardness using ultrasound elastography. *PLoS ONE* 7 (9), e45764. doi:10.1371/journal.pone.0045764
- Chino, K., Akagi, R., Dohi, M., and Takahashi, H. (2014). Measurement of muscle architecture concurrently with muscle hardness using ultrasound strain elastography. *Acta Radiol.* 55 (7), 833–839. doi:10.1177/0284185113507565
- Correia, M., Deffieux, T., Chatelin, S., Provost, J., Tanter, M., and Pernot, M. (2018). 3D elastic tensor imaging in weakly transversely isotropic soft tissues. *Phys. Med. Biol.* 63, 155005. doi:10.1088/1361-6560/aacfaf
- Eby, S. F., Song, P., Chen, S., Chen, Q., Greenleaf, J. F., and An, K.-N. (2013). Validation of shear wave elastography in skeletal muscle. *J. Biomech.* 46, 2381–2387. doi:10.1016/j.jbiomech.2013.07.033
- Gennisson, J.-L., Catheline, S., Chaffai, S., and Fink, M. (2003). Transient elastography in anisotropic medium: Application to the measurement of slow and fast shear wave speeds in muscles. *J. Acoust. Soc. Am.* 114, 536–541. doi:10.1121/1.1579008
- Gennisson, J. L., Cornu, C., Catheline, S., Fink, M., and Portero, P. (2005). Human muscle hardness assessment during incremental isometric contraction using transient elastography. *J. Biomech.* 38, 1543–1550. doi:10.1016/j.jbiomech.2004.07.013
- Gennisson, J.-L., Deffieux, T., Macé, E., Montaldo, G., Fink, M., and Tanter, M. (2010). Viscoelastic and anisotropic mechanical properties of *in vivo* muscle tissue assessed by supersonic shear imaging. *Ultrason. Med. Biol.* 36, 789–801. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2010.02.013
- Gennisson, J., Provost, J., Deffieux, T., Papadacci, C., Imbault, M., Pernot, M., et al. (2015). 4-D ultrafast shear-wave imaging. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 62, 1059–1065. doi:10.1109/TUFFC.2014.006936
- Hirata, K., Yamadera, R., and Akagi, R. (2020). Associations between range of motion and tissue stiffness in young and older people. *Med. Sci. Sports Exerc.* 52 (10), 2179–2188. doi:10.1249/MSS.0000000000002360
- Hug, F., Tucker, K., Gennisson, J.-L., Tanter, M., and Nordez, A. (2015). Elastography for muscle biomechanics: Toward the estimation of individual muscle force. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 43, 125–133. doi:10.1249/JES.000000000000049
- Knight, A. E., Trutna, C. A., Rouze, N. C., Hobson-Webb, L. D., Caenen, A., Jin, F. Q., et al. (2021). Full characterization of *in vivo* muscle as an elastic, incompressible, transversely isotropic material using ultrasonic rotational 3D shear wave elasticity imaging. *IEEE Trans. Med. Imaging* 41, 133–144. doi:10.1109/TMI.2021.3106278
- Lee, W.-N., Larrat, B., Pernot, M., and Tanter, M. (2012a). Ultrasound elastic tensor imaging: Comparison with MR diffusion tensor imaging in the myocardium. *Phys. Med. Biol.* 57, 5075–5095. doi:10.1088/0031-9155/57/16/5075
- Lee, W.-N., Pernot, M., Couade, M., Messas, E., Bruneval, P., Bel, A., et al. (2012b). Mapping myocardial fiber orientation using echocardiography-based shear wave imaging. *IEEE Trans. Med. Imaging* 31, 554–562. doi:10.1109/TMI.2011.2172690
- McAleavey, S., Menon, M., and Elegbe, E. (2009). Shear modulus imaging with spatially-modulated ultrasound radiation force. *Ultrason. Imaging* 31, 217–234. doi:10.1177/016173460903100401
- Miyamoto, N., Hirata, K., Kanehisa, H., and Yoshitake, Y. (2015). Validity of measurement of shear modulus by ultrasound shear wave elastography in human pennate muscle. *PLoS One* 10 (4), e0124311. doi:10.1371/journal.pone.0124311
- Nightingale, K., Scott Soo, M., Nightingale, R., and Trahey, G. (2002). Acoustic radiation force impulse imaging: *in vivo* demonstration of clinical feasibility. *Ultrason. Med. Biol.* 28, 227–235. doi:10.1016/s0301-5629(01)00499-9

## Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

- Nightingale, K., McAleavey, S., and Trahey, G. (2003). Shear-wave generation using acoustic radiation force: *In vivo* and *ex vivo* results. *Ultrasound Med. Biol.* 29 (12), 1715–1723. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2003.08.008
- Nordez, A., Gennisson, J.-L., Casari, P., Catheline, S., and Cornu, C. (2008). Characterization of muscle belly elastic properties during passive stretching using transient elastography. *J. Biomech.* 41 (10), 2305–2311. doi:10.1016/j.jbiomech.2008.03.033
- Ophir, J., Céspedes, I., Ponnekanti, H., Yazdi, Y., and Li, X. (1991). Elastography: A quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason. Imaging* 13, 111–134. doi:10.1177/016173469101300201
- Palmeri, M. L., Wang, M. H., Dahl, J. J., Frinkley, K. D., and Nightingale, K. R. (2008). Quantifying hepatic shear modulus *in vivo* using acoustic radiation force. *Ultrasound Med. Biol.* 34, 546–558. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2007.10.009
- Pedreira, O., Correia, M., Chatelin, S., Villemain, O., Goudot, G., Thiebaut, S., et al. (2021). Smart ultrasound device for non-invasive real-time myocardial stiffness quantification of the human heart. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 1, 42–52. doi:10.1109/TBME.2021.3087039
- Provost, J., Papadacci, C., Arango, J. E., Imbault, M., Fink, M., Gennisson, J.-L., et al. (2014). 3D ultrafast ultrasound imaging *in vivo*. *Phys. Med. Biol.* 59, L1–L13. doi:10.1088/0031-9155/59/19/L1
- Rouze, N. C., Wang, M. H., Palmeri, M. L., and Nightingale, K. R. (2010). Robust estimation of time-of-flight shear wave speed using a radon sum transformation. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 57, 2662–2670. doi:10.1109/TUFFC.2010.1740
- Rouze, N. C., Wang, M. H., Palmeri, M. L., and Nightingale, K. R. (2013). Finite element modeling of impulsive excitation and shear wave propagation in an incompressible, transversely isotropic medium. *J. Biomech.* 46, 2761–2768. doi:10.1016/j.jbiomech.2013.09.008
- Rouze, N. C., Palmeri, M. L., and Nightingale, K. R. (2020). Tractable calculation of the Green's tensor for shear wave propagation in an incompressible, transversely isotropic material. *Phys. Med. Biol.* 65, 015014. doi:10.1088/1361-6560/ab5c2d
- Royer, D., Gennisson, J.-L., Deffieux, T., and Tanter, M. (2011). On the elasticity of transverse isotropic soft tissues (L). *J. Acoust. Soc. Am.* 129, 2757–2760. doi:10.1121/1.3559681
- Sandrin, L., Fourquet, B., Hasquenoph, J.-M., Yon, S., Fournier, C., Mal, F., et al. (2003). Transient elastography: A new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med. Biol.* 29, 1705–1713. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2003.07.001
- Sarvazyan, A. P., Skovoroda, A. R., Emelianov, S. Y., Fowlkes, J. B., Pipe, J. G., Adler, R. S., et al. (1995). “Biophysical bases of elasticity imaging,” in *Acoustical imaging acoustical imaging*. Editor J. P. Jones (Boston, MA: Springer US), 223–240. doi:10.1007/978-1-4615-1943-0\_23
- Sarvazyan, A. P., Rudenko, O. V., Swanson, S. D., Fowlkes, J. B., and Emelianov, S. Y. (1998). Shear wave elasticity imaging: A new ultrasonic technology of medical diagnostics. *Ultrasound Med. Biol.* 24, 1419–1435. doi:10.1016/S0301-5629(98)00110-0
- Streeter, D. D., and Bassett, D. L. (1966). An engineering analysis of myocardial fiber orientation in pig's left ventricle in systole. *Anat. Rec.* 155, 503–511. doi:10.1002/ar.1091550403
- Streeter, D. D., Spotnitz, H. M., Patel, D. P., Ross, J., and Sonnenblick, E. H. (1969). Fiber orientation in the canine left ventricle during diastole and systole. *Circ. Res.* 24, 339–347. doi:10.1161/01.RES.24.3.339
- Tanter, M., Pernot, M., Fink, M., and Gennisson, J.-L. (2016). *Ultrasonic method and device for characterizing weak anisotropic media, and ultrasonic probe assembly for such a characterization device*. Patent, US, 0345938.
- Urban, M. W., and Greenleaf, J. F. (2009). A Kramers-Kronig-based quality factor for shear wave propagation in soft tissue. *Phys. Med. Biol.* 54 (19), 5919–5933. doi:10.1088/0031-9155/54/19/017
- Urban, M. W., Chen, S., and Greenleaf, J. F. (2009). Error in estimates of tissue material properties from shear wave dispersion ultrasound vibrometry. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 56, 748–758. doi:10.1109/TUFFC.2009.1097
- Urban, M. W., Qiang, B., Song, P., Nenadic, I. Z., Chen, S., and Greenleaf, J. F. (2015). Investigation of the effects of myocardial anisotropy for shear wave elastography using acoustic radiation force and harmonic vibration. *IEEE Int. Ultrason. Symp. (IUS) (Taipei, Taiwan)*. doi:10.1109/ULTSYM.2015.0154
- Wang, M., Byram, B., Palmeri, M., Rouze, N., and Nightingale, K. (2013). Imaging transverse isotropic properties of muscle by monitoring acoustic radiation force induced shear waves using a 2-D matrix ultrasound array. *IEEE Trans. Med. Imaging* 32, 1671–1684. doi:10.1109/TMI.2013.2262948
- Zemla, J., Iyer, P. S., Pyka-Fościk, G., Mermod, N., and Lekka, M. (2021). Rheological properties of skeletal muscles in a Duchenne muscular dystrophy murine model before and after autologous cell therapy. *J. Biomech.* 128, 110770. doi:10.1016/j.jbiomech.2021.110770

## *Chapitre 3*

# ***Quantification de l'anisotropie musculaire par la méthode Supersonic Shear Imaging***

## A. EXPERIENCES *IN VITRO* ET *IN VIVO* PAR SSI

---

Avec l'élastographie 2D, plus précisément la méthode SSI, nous pouvons quantifier le facteur d'anisotropie de cisaillement  $FA = \mu_{//} / \mu_{\perp}$ . Ce calcul repose sur l'équation du mode de cisaillement horizontal (SH).

Nous avons déterminé les deux modules de cisaillement du milieu transverse isotrope (TI) en utilisant une sonde à ultrasons 2D. Une rotation à 180 degrés a été réalisée à l'aide d'une sonde portable qui a été montée sur un moteur de rotation. Ce montage permet d'effectuer une acquisition tous les 5 degrés de rotation.



Figure 1 La sonde à ultrasons linéaire rotative

Dans un premier temps, l'expérience a été réalisée sur un fantôme qui simule le milieu TI. Le fantôme a été fabriqué en se basant sur Chatelin et al., 2014 (Chatelin et al., 2014) (Bied and Gennisson, 2021). Un mélange de PVA a été versé dans un moule et soumis à des cycles successifs de congélation-décongélation. En suite, en continuant ces cycles, le milieu TI a été généré lors des étirements du PVA selon une seule direction. Cela provoque la polymérisation du PVA dans la direction d'étirement, ce qui définit donc l'axe de symétrie du milieu. Finalement, il est conservé dans de l'eau à température ambiante.

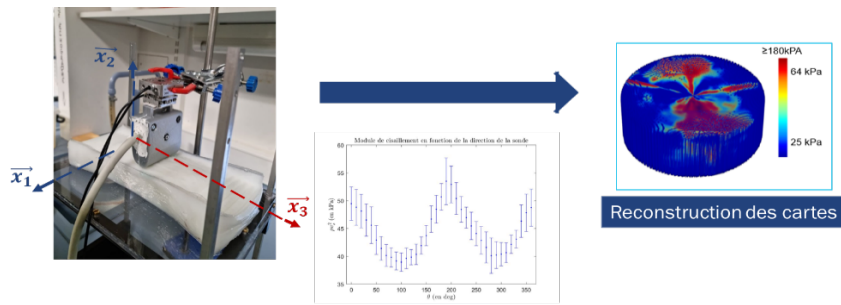


Figure 2 Expérience sur un fantôme et la reconstruction 3D de rigidité d'un fantôme transverse isotrope

Dans un second temps, nous avons réalisé une expérience *in vivo* sur le biceps brachial, un muscle épais et fusiforme de l'avant-bras. Ce muscle est superficiel et donc très accessible par l'imagerie ultrasonore. De par les conditions présentes, la rotation de la sonde n'a été effectuée que sur  $90^\circ$  sur le biceps brachial d'un volontaire.

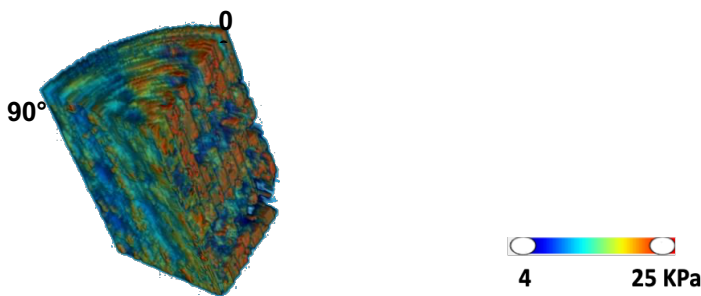


Figure 3 La reconstruction 3D d'élasticité d'un biceps brachial *in vivo* à partir des cartes 2D de rigidité

Pour les deux expériences *in vitro* et *in vivo*, nous avons observé une évolution similaire du module de cisaillement : il atteint son maximum lorsque la sonde à ultrasons est alignée avec l'axe de symétrie du milieu et son minimum lorsque la sonde est perpendiculaire à cet axe. Dans la deuxième expérience, bien que seul un quart du cercle soit affiché dans le volume, nous constatons également une différence entre les deux plans normaux l'un par rapport à l'autre: autour de l'axe des fibres, la rigidité est plus élevée que près de l'axe perpendiculaire aux fibres.

Il est important de noter que, d'après le chapitre 2, dans cette configuration (avec la rotation de la sonde), l'onde de cisaillement générée est purement de mode SH. Les résultats obtenus de ces deux expériences sont cohérents avec l'équation d'onde de cisaillement de ce mode de cisaillement (équation 9 - chapitre 2) ainsi que les études antérieures (Gennisson *et al.*, 2003) (Gennisson *et al.*, 2010) :

$$\mu_{SH} = \frac{C_{44}C_{66}}{C_{44}\sin^2(\phi)+C_{66}\cos^2(\phi)} = \frac{\mu_{//}\mu_{\perp}}{\mu_{//}\sin^2(\phi)+\mu_{\perp}\cos^2(\phi)}$$

Cette méthode permet de retrouver l'orientation du muscle dans le plan horizontal  $x_1x_3$  (comme défini dans la figure 2), qui est aussi parallèle à la surface de contact de la sonde. Nous pouvons aussi quantifier le facteur d'anisotropie grâce aux mesures de rigidité des deux directions parallèle et perpendiculaire aux fibres en tournant la sonde. Dans l'expérience *in vivo*, la rotation de la sonde est limitée par sa position par rapport à la forme du muscle. Pour la même raison, la mesure *in vivo* est assez compliquée sur différents types de muscles. En particulier, contrairement au cas d'un muscle fusiforme comme le biceps brachial où les fibres sont parallèles à l'humérus, pour les muscles pennés, la rotation de la sonde ne peut suffire pour accéder aux deux axes des fibres. En effet, pour un muscle penné, en plus de l'angle de rotation, les fibres font aussi un angle dans le plan vertical ( $x_2x_3$ ).

## BIBLIOGRAPHIE

---

Bied, M., and Gennisson, J.-L. (2021). Acoustoelasticity in transversely isotropic soft tissues: Quantification of muscle nonlinear elasticity. *The Journal of the Acoustical Society of America* 150, 4489–4500. doi: 10.1121/10.0008976.

Chatelin, S., Bernal, M., Deffieux, T., Papadacci, C., Flaud, P., Nahas, A., et al. (2014). Anisotropic polyvinyl alcohol hydrogel phantom for shear wave elastography in fibrous biological soft tissue: a multimodality characterization. *Phys. Med. Biol.* 59, 6923–6940. doi: 10.1088/0031-9155/59/22/6923.

Gennisson, J.-L., Catheline, S., Chaffai, S., and Fink, M. (2003). Transient elastography in anisotropic medium: Application to the measurement of slow and fast shear wave speeds in muscles. *The Journal of the Acoustical Society of America* 114, 536–541. doi: 10.1121/1.1579008.

Gennisson, J.-L., Deffieux, T., Macé, E., Montaldo, G., Fink, M., and Tanter, M. (2010). Viscoelastic and Anisotropic Mechanical Properties of *in vivo* Muscle Tissue Assessed by Supersonic Shear Imaging. *Ultrasound in Medicine & Biology* 36, 789–801. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.02.013.

# B. ETUDE SUR LE PREMIER MUSCLE INTEROSSEUX DORSAL PAR SSI

---

*Proceeding Paper*

## Factoring muscle activation and anisotropy in modelling hand-transmitted vibrations: a preliminary study <sup>†</sup>

Simon Vauthier <sup>1,2</sup>, Christophe Noël <sup>1,\*</sup>, Ha Hien Phuong Ngo <sup>3</sup>, Jean-Luc Gennisson <sup>3</sup>, Jérôme Chambert<sup>2</sup>, Emmanuel Foltête<sup>4</sup> and Emmanuelle Jacquet <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Electromagnetism, Vibration, Optics Laboratory, Institut national de recherche et de sécurité (INRS), Vandoeuvre-lès-Nancy, France; simon.vauthier@inrs.fr; christophe.noel@inrs.fr

<sup>2</sup> Université de Franche-Comté, CNRS, institut FEMTO-ST, F-25000 Besançon, France; emmanuelle.jacquet@univ-fcomte.fr

<sup>3</sup> BioMaps, Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, INSERM, Orsay, France;

<sup>4</sup> SUPMICROTECH, CNRS, institut FEMTO-ST, F-25000 Besançon, France; emmanuel.foltete@ens2m.fr

\* Correspondence: christophe.noel@inrs.fr ; Tel.: +33 3 83 50 21 12

<sup>†</sup> Presented at the 15th International Conference on Hand-Arm Vibration, Nancy, France, 6-9 June 2023.

Citation: Vauthier, S.; Noël, C.; Settembre, N.; Ngo, H.H.P.; Gennisson, J.-L.; Chambert, J.; Foltête, E.; Jacquet, E. Factoring Muscle Activation and Anisotropy in Modelling Hand-Transmitted Vibrations: A Preliminary Study. *Proceedings 2023*, *86*, 12. <https://doi.org/10.3390/proceedings2023086012> Academic

Editor: Jacques Chatillon

Published: 10 April 2023



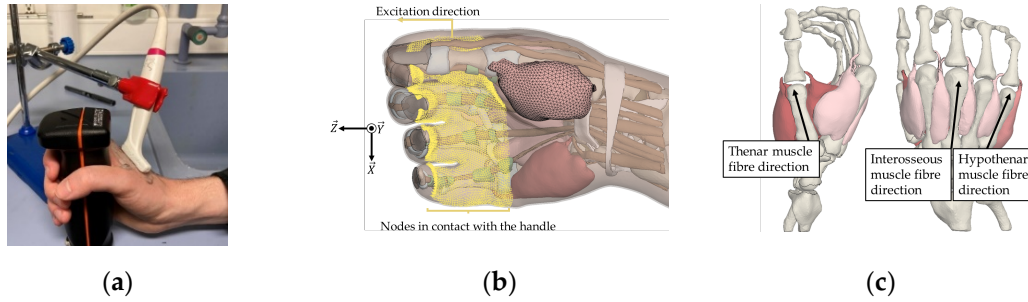
**Copyright:** © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Pushing and gripping forces may contribute to Hand-Arm Vibration Syndrome but are not taken into account so far in vibratory dose assessment by current standards. To get a better understanding of symptom onset, we developed a finite element model of the hand to replicate its vibratory behaviour for gripping and pushing actions. Supersonic Shear Imaging measurements in a case study revealed an important dependence of muscle stiffness and anisotropy with gripping. Using these measurements in our model showed that muscle activation influences the hand driving-point mechanical impedance and local vibration propagation.

**Keywords:** Vibration hazard; elastography; muscle activation; transversely isotropic; modelling

### 1. Introduction

In France, nearly 2.2m workers are exposed to hand-transmitted vibration. Prolonged exposure to high-level vibration can lead to various disorders, known as Hand-Arm Vibration Syndrome [1]. For attempting to lower health effects, the daily vibration dose received by workers is limited by law in Europe. However, the dose assessment [2] displays certain shortcomings. Especially, pushing and gripping forces exerted by the operator are not taken into account although they significantly influence the hand driving-point mechanical impedance (DPMI), which has been figured out as a potential marker of vibration hazard [3]. To better understand symptom onset, we aim at investigating coupling-force effects on vibration propagation inside hand specific regions. Hence, we developed a finite element (FE) model for mimicking pushing and gripping actions



**Figure 1.** (a) Set-up for measuring the shear modulus with an ultrasonic probe while gripping an instrumented handle; (b) FE model of the hand (c) Fibre direction for the orthotropic constitutive law.

to simulate their effects on the vibratory behaviour of the hand. A first step was to include muscular stiffening increase stemming from muscle activation related to gripping. Supersonic Shear Imaging (SSI) was operated for local measurement of shear elastic modulus inside hand muscles [4]. Thus, our approach consists of measuring the stiffness of the first dorsal interosseous muscle (FDIM) of the hand as a function of gripping force. In addition, this technic allows measuring mechanical properties of muscles in directions parallel and perpendicular to their fibres. These measurements are then used to feed our FE model with muscles constitutive laws depending on both muscles activation and anisotropy. This paper aims to demonstrate the feasibility of this approach on a case study and to quantify the influence of gripping-induced muscle upsets on both DPMI and local vibratory transmissibility.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Measurement of muscle elasticity with Supersonic Shear Imaging

The shear elastic modulus was measured with an Aixplorer® ultrasonic scanner in SSI mode [4]. An experimental apparatus was set up to measure the shear elastic modulus of the FDIM of a volunteer gripping a handle instrumented with force sensors (Figure 1-(a)). The probe was oriented beforehand using B-mode imaging either parallel or perpendicular to the orientation of the muscle fibres. The volunteer followed a given instruction by managing the grip level displayed on a screen. The protocol consisted of measuring firstly the maximum grip force solely for working out relative gripping forces. Next, the subject followed randomly-chosen instructions ranging from 0 to 30% gripping force with 5% increments. Both fibre directions were measured. The non-smoker volunteer was a 23-year-old male in good health condition. The shear elasticity modulus resulted in averaging data contained in a  $5 \times 5 \text{ mm}^2$  region-of-interest (ROI) extracted from raw elastography maps (Figure 2-(a) and (b)).

### 2.2. FE modelling of hand-transmitted vibrations

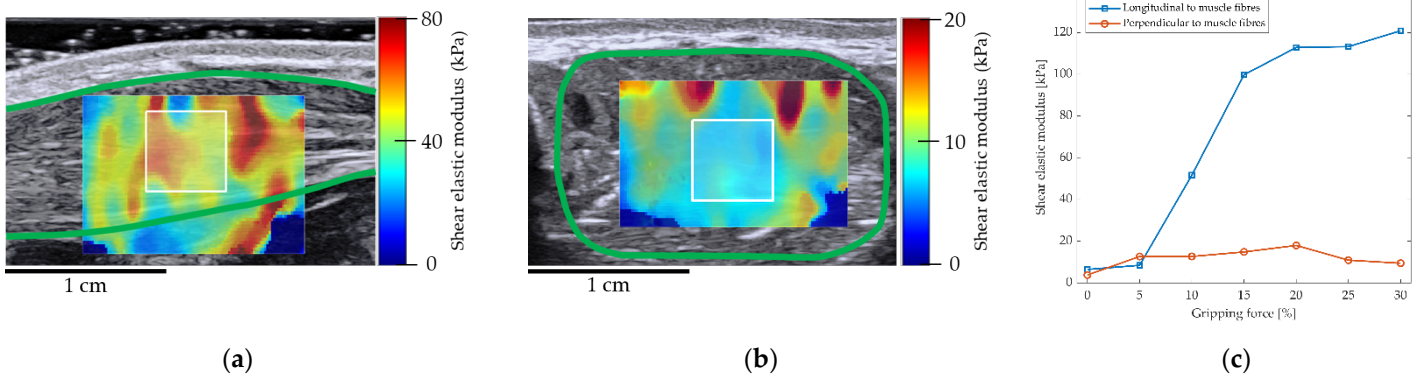
Our FE hand model was built by segmenting MRI images of the hand of a 28-year-old male volunteer [5]. Most hand anatomical elements are included and meshed with tetrahedrons of around 1 mm (Figure 1-(b)). Muscles were divided into three groups: interosseous, thenar and hypothenar. For each group, the muscle fibre direction matched the closest metacarpal



bone direction (Figure 1-(c)). The hand position corresponded to the grip of a handle without tightening. The initial stress and deformation fields were therefore taken to be zero. There was no boundary conditions on the wrist. The handle was excluded from the model and the skin nodes in contact with it were fastened in all directions except for the direction of excitation (Figure 1-(b)). DPMI was calculated and compared to standard ISO 10068 [6]. Additionally, the vibratory transmissibility was computed in two areas: in the tissue under the median phalanx of the index (where an artery is likely to pass, not included in the model), and in the FIDM. Harmonic analyses were carried out by modal superposition over the range of 10–400Hz. Modal damping was added to the system (from 17% to 2% decreasing with frequency up to 200 Hz, remaining constant beyond). The calculations were performed using the FE software LS-Dyna® (Ansys) by assuming linear elastic constitutive laws. Their parameters came from [5], except for the muscles where they derived from elastography measurements. Three cases were computed: (i) isotropic elastic with no activation: Young modulus ( $E_L$ ) was derived from longitudinal elastic shear modulus ( $\mu_L$ ) measured at 0-5% of gripping force (contact without tightening condition) and longitudinal Poisson's ratio ( $\nu_L$ ) from [7]; (ii) isotropic elastic with maximum activation: identical as previous case but at 30 % of gripping force; and (iii) transversally isotropic elastic with maximum activation: the muscle behaviour was considered to be anisotropic with rotational symmetry around the fibre axis. A shear modulus, Young's modulus, and Poisson's ratio were required for the longitudinal ( $\mu_L$ ,  $E_L$ ,  $\nu_L$ ) and transverse ( $\mu_T$ ,  $E_T$ ,  $\nu_T$ ) directions [7]. All previous parameters stemmed from the shear elastic moduli measured at 30% of gripping force and the other parameters were deduced from [7].

### 3. Results

#### 3.1. Effects of gripping force on muscle elasticity and fibre anisotropy



**Figure 2.** Examples of shear elastic modulus measurements obtained by SSI in the FIDM: (a) parallel and (b) perpendicular to fibres. The background represents the B-mode image with the muscle enclosed in green. The 5-mm length white square refers to the ROI; (c) Average of longitudinal and perpendicular shear elastic moduli inside the ROI as a function of gripping force.

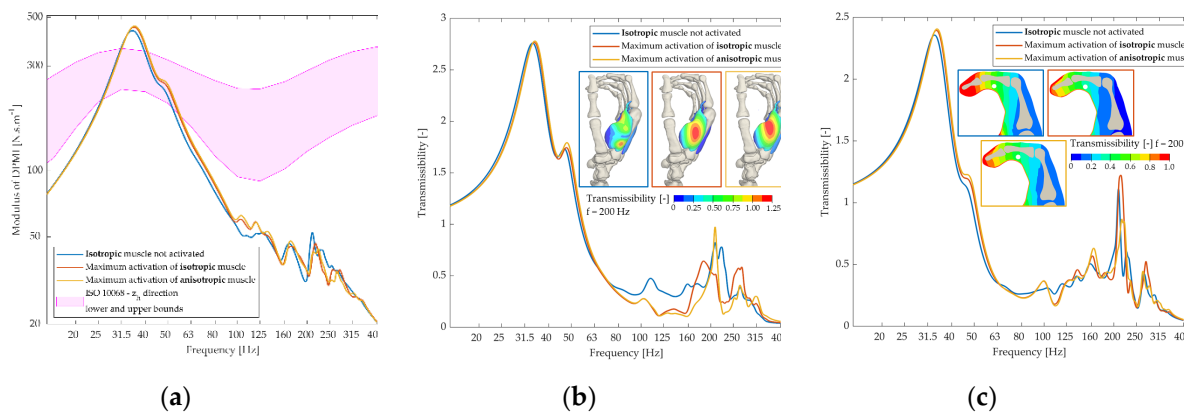
Elastography measurements highlighted a different evolution of the shear elastic modulus of the FDIM depending on fibre orientation (Figure 2-(a) and (b)). Parallel to the fibres, the shear modulus increased by more than 12 times between 0 and 30% strength, with a strong increase between

5 and 15% (Figure 2-(c)). Perpendicular to the fibres, the modulus remained almost constant with gripping force (Figure 2-(c)). These measurements allowed identifying the parameters of the FE model described in table 1.

**Table 1.** Muscle properties used in the FE simulations

	<i>Isotropic muscle</i>		<i>Anisotropic muscle with maximum activation</i>	
	<b>No activation</b>	<b>Maximum activation</b>	<b>Longitudinal</b>	<b>Transversal</b>
<b>Shear elastic modulus</b>	Not used	Not used	$\mu_L = 121.0 \text{ kPa}$	$\mu_T = 9.0 \text{ kPa}$
<b>Young modulus</b>	$E_L = 22.4 \text{ kPa}$	$E_L = 338.8 \text{ kPa}$	$E_L = 338.8 \text{ kPa}$	$E_T = 25.2 \text{ kPa}$
<b>Poisson's ratio</b>	$\nu_L = 0.499$	$\nu_L = 0.499$	$\nu_L = 0.499$	$\nu_T = 0.963$

### 3.2. Effects of muscle activation on DPMI and local transmissibility



**Figure 3.** (a) DMPI of FE-model compared to standard ISO 10068; (b) Averaged vibration transmissibility between the handle and the first dorsal interosseus muscle; (c) Vibration transmissibility between the handle and the tissue under the median phalanx of the index (white dot).

The resonance of the wrist around 35 Hz is observable on both model and standard ISO 10068 DPMI. At higher frequencies, the model differs from the standard (Figure 3-(a)). Muscle activation has a marked effect beyond 100 Hz on global DPMI and local transmissibility changing the amplitude and frequency of peaks but also the spatial nature of the harmonic response inside the muscle (e.g. Figure 3-(b) maps).

## 4. Discussion and conclusions

The SSI technique demonstrated its capability to measure mechanical elasticity of the FDIM. It revealed that stiffness evolution strongly depending on muscle activation and fibre orientation. Many sources of uncertainty arise during measurements. For example, muscle heterogeneity (Figure 2-(a)) and probe orientation with regards to fibre direction, may be responsible for measurement discrepancies. Special attention should be paid to make the apparatus more robust before extending the measures to a cohort of subjects.

The model exhibits that muscle activation significantly affects the transmission of vibrations beyond 100 Hz. The gap between DPMI computed by our model and that of ISO 10068 could be explained by the many simplifications made. More realistic boundary conditions should be added at the wrist. In addition, modal superposition may only take into

account basic viscoelastic effects. Hence, more complex rheological models will have to be used with direct resolution methods or by using our model in the time domain.

In conclusion, we succeeded in operating SSI technique to link active hand-muscle elasticity with gripping force for feeding a complex FE hand model. Our model affords to compute dynamic responses to vibrations and to quantify the effects of local muscle activation on vibration propagation within the hand.

**Author Contributions:** Conceptualisation, S.V. and C.N. and E.J.; methodology, S.V. and C.N. and H.N. and J-L.G. and J.C. and E.F. and E.J.; software, S.V.; validation, S.V. and C.N. and H.N. and E.J.; formal analysis, S.V. and C.N. and E.J.; investigation, S.V. and C.N. and E.J.; writing—original draft preparation, S.V.; writing—review and editing, C.N. and E.J. and H.N. and J-L.G. and J.C. and E.F.; visualisation, S.V.; supervision, C.N. and E.J. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Institutional Review Board of the FRENCH NATIONAL AGENCY FOR MEDICINES AND HEALTH PRODUCTS (No. ID-RCB 2022-A01616-37, 07/11/22) and by the FRENCH NATIONAL ETHICAL RESEARCH COMMITTEE (CPP 22.03423.000122, 07/11/22).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. FD CR 12349:1996. *Mechanical Vibration-Guide to the Health Effects of Vibration on the Human Body*. AFNOR: Paris, France, 1996.
2. NF EN ISO 5349-1:2001. *Mechanical Vibration-Measurement and Evaluation of Human Exposure to Hand-Transmitted Vibration-Part 1: General Requirements*. AFNOR: Paris, France, 2002.
3. Aldien, Y., Marcotte, P., Rakheja, S., & Boileau, P. E. (2006). Influence of hand-arm posture on biodynamic response of the human hand-arm exposed to zh-axis vibration. *International Journal of Industrial Ergonomics*, 36(1), 45–59. <https://doi.org/10.1016/j.ergon.2005.07.001>
4. Bouillard, K., Nordez, A., & Hug, F. (2011). Estimation of individual muscle force using elastography. *PLoS ONE*, 6(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029261>
5. Noël, C., Settembre, N., Reda, M., & Jacquet, E. (2022). A Multiscale Approach for Predicting Certain Effects of Hand-Transmitted Vibration on Finger Arteries. *Vibration*, 5(2), 213–237. <https://doi.org/10.3390/vibration5020014>
6. ISO 10068. *Mechanical Vibration and Shock-Mechanical Impedance of the Human Hand-Arm System at the Driving Point*. AFNOR: Paris, France, 2012.
7. Rouze, N. C., Wang, M. H., Palmeri, M. L., & Nightingale, K. R. (2013). Finite element modeling of impulsive excitation and shear wave propagation in an incompressible, transversely isotropic medium. *Journal of Biomechanics*, 46(16), 2761–2768. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2013.09.008>

## *Chapitre 4*

# ***Une nouvelle méthode d'élastographie pour quantifier l'anisotropie musculaire***

## A. PREAMBULE

---

Comme indiqué dans le chapitre précédent, la technique d'élastographie SSI est une méthode d'imagerie 2D sophistiquée qui permet de quantifier l'anisotropie des muscles. Cependant, cette technique nécessite la réalisation de deux mesures dans deux directions orthogonales pour calculer le facteur d'anisotropie musculaire.

De plus, il est important de souligner que la méthode SSI ne permet pas de quantifier l'anisotropie musculaire dans le cas des muscles pennés. En effet, contrairement aux muscles fusiformes qui s'alignent parallèlement à l'axe osseux, les muscles pennés présentent un angle d'inclinaison par rapport à cet axe. La méthode SSI ne permet pas l'accès direct à cette direction et ne permet donc pas de quantifier l'anisotropie dans de tels cas.

Ces considérations soulignent les défis spécifiques liés à l'utilisation de la technique d'élastographie SSI pour étudier l'anisotropie musculaire, en particulier dans le cas des muscles pennés avec des orientations complexes. Des approches alternatives ou complémentaires sont nécessaires pour étudier plus précisément l'anisotropie dans ces cas particuliers.

Dans ce chapitre, nous présentons une nouvelle méthode d'élastographie basée sur la technique SSI qui permet de quantifier directement l'anisotropie musculaire avec une seule mesure à une position précise. Une particularité importante de cette méthode est qu'elle est également applicable aux muscles pennés, contrairement à la méthode SSI classique.

## B. QUANTIFICATION D'ANISOTROPIE ELASTIQUE MUSCULAIRE PAR LA METHODE DES "PUSHS EN BIAIS"

---

### In plane quantification of *in vivo* muscle elastic anisotropy factor by steered ultrasound pushing beams

(Article soumis pour publication dans *Physics in Medicine and Biology* - IPEM, 2023)

Ha-Hien-Phuong Ngo<sup>1</sup>, Ricardo Andrade<sup>2</sup>, Javier Brum<sup>3</sup>, Nicolas Benech<sup>3</sup>, Simon Chatelin<sup>4</sup>, Aude Loumeaud<sup>4</sup>, Thomas Frappart<sup>5</sup>, Christophe Fraschini<sup>5</sup>, Antoine Nordez<sup>2,6</sup>, Jean-Luc Gennisson<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'imagerie médicale multimodale, BioMaps, Université Paris Saclay, CEA, CNRS, Inserm, Orsay, France,

<sup>2</sup>Nantes Université, Mouvement - Interactions - Performance, MIP, UR 4334, F-44000 Nantes,

France <sup>3</sup>Laboratorio de Acústica Ultrasonora, Instituto de Física, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay,

<sup>4</sup>ICube, CNRS UMR 7357, University of Strasbourg, Strasbourg, France

<sup>5</sup>Hologic - Supersonic Imagine, Aix-en-Provence, France,

<sup>6</sup>Institut Universitaire de France (IUF), Paris, France

Keywords: elastography, anisotropy, steered pushing beam, shear waves, muscles

#### Abstract (300 words)

Skeletal muscles are organized into distinct layers and exhibit anisotropic characteristics across various scales. Assessing the arrangement of skeletal muscles may provide valuable biomarkers for diagnosing muscle-related pathologies and evaluating the efficacy of clinical interventions. In this study, we propose a novel ultrafast ultrasound sequence constituted of steered pushing beams was proposed for ultrasound elastography applications in transverse isotropic muscle. Based on the propagation of the shear wave vertical mode, it is possible to fit the experimental results to retrieve in the same imaging plane, the shear modulus parallel to fibers as well as the elastic anisotropy factor (ratio of Young's moduli times the shear modulus perpendicular to fibers). The technique was demonstrated *in vitro* in phantoms and *ex vivo* in fusiform beef muscles. At last, the technique was applied *in vivo* on fusiform muscles (*biceps brachii*) and

mono-pennate muscles (*gastrocnemius medialis*) during stretching and contraction. This novel sequence provides access to new structural and mechanical biomarkers of muscle tissue, including the elastic anisotropy factor, within the same imaging plane. Additionally, it enables the investigation of multiples parameters during muscle active and passive length changes.

## Introduction

Shear wave elastography is an ultrasound technique that enables the quantification of shear wave speed in soft tissues, which is directly linked to the tissue stiffness (Royer and Dieulesaint, 1999). Many techniques have been developed to generate shear waves in tissues with different devices (Catheline et al. 1999, Muthupillai *et al.*, 1995, Parker *et al.*, 1990, Grasland-Mongrain *et al.*, 2013) and to image their propagation with ultrasound (Fatemi and Greenleaf, 1998, Sandrin *et al.*, 2002, Urban *et al.*, 2011, Song *et al.*, 2012). In 1995, Sarvazyan *et al.* proposed to use the acoustic radiation force, also called pushing beam, as a shear wave source (Sarvazyan et al., 1995) allowing to control the shear wave source directly within tissues. Subsequently, several methods were developed based on this principle (Nigthingale *et al.*, 2003, Bercoff *et al.*, 2004). However, they primarily assume, as a first approximation, that tissues are purely elastic, locally homogeneous, and isotropic. While this assumption proves advantageous for various organs such as the liver or breast (Sandrin *et al.*, 2003, Berg *et al.*, 2012), it is important to note that most human organs, including skeletal muscles, exhibit inherent anisotropic characteristics.

Actually, muscles consist of multiple aligned fibers primarily oriented in one direction, known as the main direction, with random distribution in the transverse plane. This corresponds to the definition of a transverse isotropic (TI) medium where two elastic shear moduli can be defined:  $\mu_{\perp}$  and  $\mu_{//}$ , shear modulus perpendicular and shear modulus parallel to fibers respectively (Royer and Dieulesaint, 1999). To quantify both coefficients, two potential solutions can be considered. The first solution involves moving the transducer array to acquire shear wave speed in different directions (Gennisson *et al.*, 2010, Royer *et al.*, 2011). While this approach is relatively straightforward in parallel muscles (fusiform muscles), it requires multiple data acquisitions (at least two acquisition, parallel and perpendicular to fibers), which can be challenging in practical scenarios involving clinical examinations and biomechanical investigations of muscle behavior during active or passive muscle length changes. In addition,

it can be used only in fusiform muscles (i.e., fibers oriented in the muscle shortening direction), while the large majority of muscles are pennated.

More generally, all elastography measurements performed in a pennated muscle provide a shear modulus along the probe direction that does not fit to the fiber direction, making the interpretation quite complex when the fiber direction is changed due to muscle lengthening, contraction, or even due to an intervention and in a pathologic muscle.

Alternatively, a second approach involves utilizing a three-dimensional (3D) acquisition device (Wang et al., 2013, Gennisson *et al.*, 2015, Correia *et al.*, 2018, Knight *et al.*, 2022) to obtain elastography data in volume, enabling the exploration of multiple directions from a single dataset. However, the corresponding ultrasound devices are expensive and primarily developed for research purposes, making them currently unavailable in clinical settings.

In this study, we propose a novel two-dimensional (2D) ultrasound sequence, implemented in a clinical device, to investigate and quantify two elastic coefficients, in the imaging plane: the shear modulus parallel to the fibers ( $\mu_{//}$ ) and an elastic anisotropy factor of muscles (the ratio of both Young' moduli times the shear modulus perpendicular to fibers). A steered ultrasound pushing beam (SPB) method was developed to generate shear waves with a certain propagation angle. The resulting shear wave propagation was captured using an ultrafast ultrasound acquisition sequence, which was beamformed along the same angle as the SPB. This paper is organized as follow: In the first part of our study presents the novel sequence proposed and the theoretical framework defining the propagation of shear wave with different propagation modes within a transverse isotropic medium. In the second part, we present the experimental setups and the novel ultrasound sequence. The validation of the proposed SPB technique was demonstrated *in vitro* in phantoms before being used to quantify the elastic anisotropy factor *ex vivo* and *in vivo* skeletal muscles. Finally, the elastic anisotropy factor was assessed in three healthy volunteers for two muscle types (fusiform and pennated) during active and passive muscle length changes.

## Theory

### *Shear wave propagation in transverse isotropic medium*

Before explaining and presenting the proposed SPB technique, a reminder of the theory of shear wave propagation in transverse isotropic media must be made. A TI elastic material is characterized by 5 independent elasticity constants in the elasticity tensor involved in the



generalized Hooke's law relating the stress  $\sigma$  and the strain  $\varepsilon$  tensors, which can be expressed using Voigt's notation as:

$$\begin{bmatrix} \sigma_1 \\ \sigma_2 \\ \sigma_3 \\ \sigma_4 \\ \sigma_5 \\ \sigma_6 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & C_{13} & 0 & 0 & 0 \\ C_{12} & C_{11} & C_{13} & 0 & 0 & 0 \\ C_{13} & C_{13} & C_{33} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & C_{44} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & C_{44} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & C_{66} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \varepsilon_3 \\ \varepsilon_4 \\ \varepsilon_5 \\ \varepsilon_6 \end{bmatrix} \quad (1)$$

with  $C_{66} = (C_{11} - C_{12})/2$ .

In a TI material elastic wave propagation is governed by a set of linear equations known as "Christoffel equations" which relate wave speed, propagation direction, polarization, and mechanical properties (Royer and Dieulesaint, 1999). Under plane wave decomposition of the form:

$$u_i(\vec{r}, t) = u_o \exp[i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)] \quad (2)$$

where  $u_o$  is the wave amplitude,  $\vec{k}$  stands for the wave vector,  $\omega$  is the frequency and  $u_i$  ( $i=1, 2, 3$ ) denotes the spatial components of the displacement field (Figure 1a), one can obtain an eigenvalue equation for the matrix  $\Gamma_{ik} = C_{ijkl}n_jn_l$ ,

$$|\Gamma_{ik} - \rho v^2 \delta_{ik}| = 0 \quad (3)$$

With  $\rho$  being the material density assumed to be constant ( $\sim 1100 \text{ kg.m}^{-3}$ ) and phase velocity  $v = \frac{\omega}{k}$ . The tensor  $\Gamma$ , also known as Christoffel tensor, can be written for a TI material as

$$\Gamma = \begin{pmatrix} C_{11}n_1^2 + C_{66}n_2^2 + C_{44}n_3^2 & (C_{11} + C_{66})n_2n_1 & (C_{44} + C_{13})n_1n_3 \\ (C_{11} + C_{66})n_2n_1 & C_{66}n_1^2 + C_{11}n_2^2 + C_{44}n_3^2 & (C_{44} + C_{13})n_2n_3 \\ (C_{44} + C_{13})n_1n_3 & (C_{44} + C_{13})n_2n_3 & C_{44}n_1^2 + C_{44}n_2^2 + C_{33}n_3^2 \end{pmatrix} \quad (4)$$

where  $\vec{n}(n_1, n_2, n_3)$  is the propagation vector, *i.e.*  $\vec{k} = k\vec{n}$ . From this expression of the Christoffel tensor, 3 cases can be expressed (Royer and Dieulesaint, 1999, Ngo *et al.*, 2022): i)  $\vec{n} \equiv (1,0,0)$ ; ii)  $\vec{n} \equiv (0, \sin(\varphi), \cos(\varphi))$ ; iii)  $\vec{n} = (\sin(\theta), 0, \cos(\theta))$ .

### Shear vertical and shear horizontal modes

In the present paper we focused on the particular case where the shear wave propagation vector lies within the  $(x_1, x_3)$ -plane (axis defined in figure 1), which can be written as  $\vec{n} = (\sin(\theta), 0, \cos(\theta))$ ,  $\theta$  being the angle between the propagation vector and the fiber orientation. In this example the eigenvalues are given by:

$$\rho v_{1,3}^2 = \frac{1}{2} \left[ \Gamma_{11} + \Gamma_{33} \mp \sqrt{(\Gamma_{33} - \Gamma_{11})^2 + 4\Gamma_{13}^2} \right] \quad (5)$$

(where the minus sign corresponds to the first eigenvalue) and:

$$\rho v_2^2 = \Gamma_{22} = C_{66} \sin^2(\theta) + C_{44} \cos^2(\theta) = \mu_{\perp} \sin^2(\theta) + \mu_{\parallel} \cos^2(\theta) \quad (6)$$

The second eigenvalue corresponds to a pure shear wave, *i.e.* with eigenvector parallel to  $(x_2)$ , also known as a shear horizontal (SH) mode (Rouze *et al.*, 2020, Caenen *et al.*, 2020). Because for this mode the displacement is perpendicular to the imaging plane (*i.e.*  $(x_1, x_3)$ -plane), it will have only a negligible impact on the displacement field measured by the SPB configuration. The first and third eigenvalues correspond to a quasi-shear and a quasi-longitudinal wave polarized in the  $(x_1, x_3)$ -plane. This quasi-shear wave mainly dominates the displacement field generated by the steered push configuration. In the incompressibility limit, the phase velocity for this quasi-shear mode reduces to (Rouze *et al.*, 2013):

$$\rho v_1^2 = C_{44} + \left( \frac{C_{33}C_{11} - C_{13}^2}{4(C_{11} - C_{66})} - C_{44} \right) \sin^2(2\varphi) = \mu_L + \left( \frac{E_{\parallel}}{E_{\perp}} \mu_{\perp} - \mu_{\parallel} \right) \sin^2(2\varphi) \quad (7)$$

and its polarization is purely transverse, therefore, this type of mode is also known as shear vertical (SV) mode (Rouze *et al.*, 2020, Caenen *et al.*, 2020). Equations (6) and (7) can also be expressed in terms of  $\mu_{//,\perp}$  and  $E_{//,\perp}$  which refer to the longitudinal (*//*) and transverse ( $\perp$ ) shear and Young's moduli, respectively. Hence, in the incompressibility limit, shear wave propagation in TI media only depends on three independent parameters:  $\mu_{//}$ ,  $\mu_{\perp}$  and the anisotropy ratio of the Young's moduli  $\chi_E = E_{//}/E_{\perp}$ . These three parameters are required to fully characterize the mechanical behavior of incompressible TI tissue and can be extracted from the SH and SV wave propagation (Thomsen, 1986).

*Phase velocity vs. Group velocity in steered push beam configuration*

Equations (6) relates the phase velocity of the SH mode with the mechanical parameters of the TI medium. In the following manuscript only, the angles  $\theta=0^\circ$  and  $\theta=90^\circ$  were measured, corresponding to the position of the transducer array parallel to fibers  $(x_1, x_3)$ -plane, Fig. 1a) and the perpendicular to fibers  $(x_1, x_2)$ -plane respectively. In that specific two cases the phase velocity is equal to the group velocity (Royer and Dieulesaint, 1999).

Equation (7) relates the phase velocity of the SV mode with the mechanical parameters of the TI medium. At this point it is important to mention the distinction between phase ( $v$ ) and group ( $V_g$ ) velocities in TI tissues. While in a non-dispersive isotropic tissue phase and group velocity are equal, in a TI tissue phase and group velocities magnitudes and directions in the same point are generally not (Thomsen, 1986, Royer and Dieulesaint, 1999). The phase velocity  $v(\alpha)$  is also called the wavefront velocity since it measures the velocity of advance of the wavefront along  $\vec{k}(\alpha)$ . In general, for non-spherical wavefronts, the angle  $\alpha$  is different from the ray angle  $\varphi$  from the source point to the wavefront. Thus, the relation between ray angle and ray velocity, also called group angle and group velocity, respectively, is expressed as (Thomsen 1986):

$$\tan(\varphi(\alpha)) = \frac{\tan(\alpha) + dv/d\alpha}{1 - \frac{\tan(\alpha)}{v} dv/d\alpha} \quad (8)$$

$$\text{and } \rho V_g^2(\varphi(\alpha)) = \rho(v^2(\alpha) + \left(\frac{dv}{d\alpha}\right)^2) \quad (9)$$

Thus, by combining equations (7) and (9) the following expression was found for the group velocity of the SV modes:

$$V_g^2(\varphi(\alpha)) = v^2(\alpha) + \mu_{//} \frac{d^2 + \sin^2(4\alpha)}{1 + d \cdot \sin^2(2\alpha)} = \frac{1}{\rho} [\mu_L + (\chi_E \mu_\perp - \mu_\parallel) \sin^2(2\alpha)] + \mu_{//} \frac{d^2 + \sin^2(4\alpha)}{1 + d \cdot \sin^2(2\alpha)} \quad (10)$$

$$\text{with } d = \frac{\chi_E \mu_\perp}{\mu_\parallel} - 1.$$

## Materials and methods

### *Ultrasound acquisitions*

An ultrafast ultrasound device (Mach30, Hologic - Supersonic Imagine, Aix-en-Provence, France) was used to drive a linear array transducer (SL18-5, 7.5 MHz, 256 elements). Two different ultrasound sequences were used to investigate horizontal-polarized (SH) and vertical-polarized (SV) modes of propagating shear waves, a commercial and a research sequence respectively. In both sequences shear waves were generated by focusing ultrasound onto tissues, which creates an acoustic radiation force (Sarvazyan *et al.*, 1995), commonly known as a pushing beam. This pushing beam acts as a shear wave source. Shear wave propagation was captured using an ultrafast ultrasound imaging sequence consisting of multiple compounded ultrasound plane waves (Montaldo *et al.*, 2009). The shear wave speed was computed by applying a time-of-flight algorithm (Loupas *et al.*, 1995, Deffieux *et al.*, 2012) to the recorded shear wave propagation movie (Bercoff *et al.*, 2004). For the commercial sequence the whole process is implemented in the ultrafast ultrasound device and the final shear modulus is obtained directly on screen. For the research sequence, the shear modulus map was obtained offline after downloading the raw data and processing under Matlab® (2022a, Mathworks, Natick, MA, USA) with a custom-made algorithm developed as for the commercial sequence from Loupas and Deffieux (Loupas *et al.*, 1995, Deffieux *et al.*, 2012).

The commercial sequence, implemented in the Mach30 device, was used to capture the propagation of the SH mode and the final shear modulus was obtained directly. In that configuration, the pushing beam was always perpendicular to the fibers and the propagation of the shear wave was measured parallel and perpendicular to the fibers (Genisson *et al.*, 2011) (Figure 1a). In other words, in that case, the polarization of shear wave is always perpendicular to the fiber's axis (Royer *et al.*, 2011). The shear moduli  $\mu_{//}$  parallel and  $\mu_{\perp}$  perpendicular to the fibers' orientation, directly calculated by the commercial device from the shear wave velocity  $V_S(\theta)$ , were retrieved by using equation 5, where  $\theta$  is the angle of rotation of the probe regarding the fiber's axis and  $\rho$  the tissue density. The research sequence, referred to as the steered ultrasound pushing beam (SPB) sequence in this manuscript, was implemented in the ultrafast ultrasound device to capture the propagation of the SV mode. In this configuration, the ultrasound probe was positioned parallel to the axis of the fibers and remained fixed throughout the scans without any rotation (Figure 1b). The pushing beam as well as the beamforming that

allows to reconstruct images were oriented with an angle  $\varphi$  ranging from  $-20^\circ$  to  $20^\circ$  by  $5^\circ$  steps. The shear wave source was constituted of 3 pushing beams of  $150 \mu\text{s}$  spaced each other by 3 mm from 9 mm deep to deeper with a f-number of 1.75 for each. Briefly, for an angle  $\varphi$ , the pushing beam was created by small apertures with an oriented delay law of angle  $\varphi$  (Figure 2a). Then, the ultrafast ultrasound sequence made of 5 tilted plane waves was oriented with the same angle  $\varphi$  (from  $\varphi-4^\circ$  to  $\varphi+4^\circ$  by  $2^\circ$  step) with a framerate of 4300 Hz to catch the propagation of the shear waves. Mechanical parameters parallel and perpendicular shear moduli as well as the elastic anisotropy factor were retrieved by fitting the experimental data with equation 9. In the case of pinnate muscle, the transducer array is aligned with the main axis of fibers ( $x_3$  axis) and the ultrasound sequence used is the SPB sequence (Figure 1c).

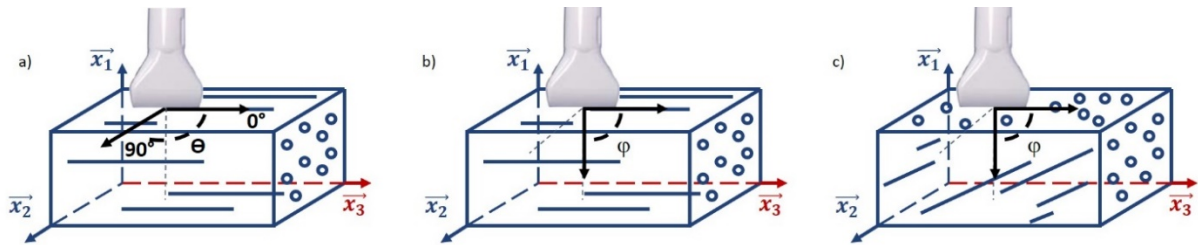
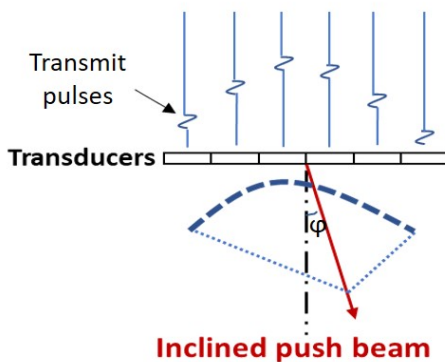


Figure 1: a) Positioning of the ultrasound transducer array regarding the main axis of fibers to quantify the SH mode. The transducer can be rotated around  $x_1$  axis by  $90^\circ$  to be aligned with axis  $x_2$  or  $x_3$  to quantify the shear modulus perpendicular or parallel to fibers respectively. b) Positioning of the transducer array parallel to the main fiber axis to quantify SV mode. In that configuration, the imaging plane is steered electronically of an angle  $\varphi$  (from  $-20^\circ$  to  $20^\circ$ ) and the transducer remains stationary without any movement. c) SPB sequence used in the case of pinnate muscle when the main axis of muscle fiber is aligned with the transducer array along  $x_3$  axis.

a) Ultrasound steered push beam



b) Ultrafast ultrasound imaging with compounding

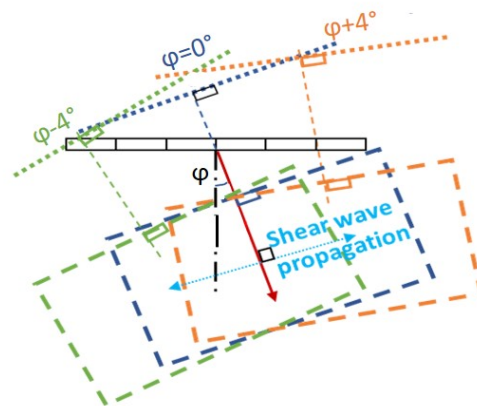


Figure 2: Chronogram of the SPB sequence. a) A steered pushing beam is electronically programmed in the ultrafast ultrasound device to generate a steered acoustic radiation force that act as a shear wave source. b) ultrafast acquisition of the propagating shear wave with different tilted ultrafast ultrasound plane wave tilted around the axis of the pushing beam. In comparison, the ultrasound sequence implemented in the ultrafast ultrasound device in commercial mode is the same than SPB

sequence with an angle  $\varphi = 0^\circ$ .

Experimental results of shear wave group velocity were fit by using equation 10 and the fit function from Matlab with 95% confidence bounds. This fit has two variables which are  $a = \mu_{//SPB}$  and  $d$ . The error of  $d(\Delta d)$  was also given by the fitting process.

To calculate  $b = (d+1).a = \chi_{EUS} \cdot \mu_{\perp SPB}$  in order to deduce  $\chi_{EUS} = \frac{b}{\mu_{\perp SSI}}$ , the error of  $b$  was calculated as :

$$\Delta b = \Delta((d + 1).a) = \Delta d.a + \Delta a.d \quad (11)$$

Then the error of  $\chi_{EUS}$  was calculated as follow:

$$\Delta \chi_{EUS} = \frac{|\Delta b \cdot \mu_{\perp SSI} - b \cdot \Delta \mu_{\perp SSI}|}{\mu_{\perp SSI}^2} \quad (12)$$

#### *In vitro and ex vivo experiments with the SPB sequence*

The SPB sequence was tested *in vitro* in an isotropic Polyvinyl Alcohol (PVA) phantom, that followed 4 freezing-thawing cycles and made of 10% PVA (molecular weight 89 000–98 000, 99+% hydrolyzed, Sigma-Aldrich, Saint-Louis, MO, USA) mixed with 2% cellulose particles that act as scatterers (20  $\mu\text{m}$  in diameter, S3504 Sigmacell, Sigma-Aldrich, Saint-Louis, MO, U.S.A.) (Fromageau *et al.*, 2007; Chatelin *et al.*, 2014) (Figure 3(a)). First *ex vivo* experiments were performed on beef muscle bought at the butcher shop to test the SPB sequence. This muscle sample was specifically chosen due to its fibrous structure, which exhibits a high degree of anisotropy with clearly visible uniaxial alignment of fibers (Figure 3(b)).

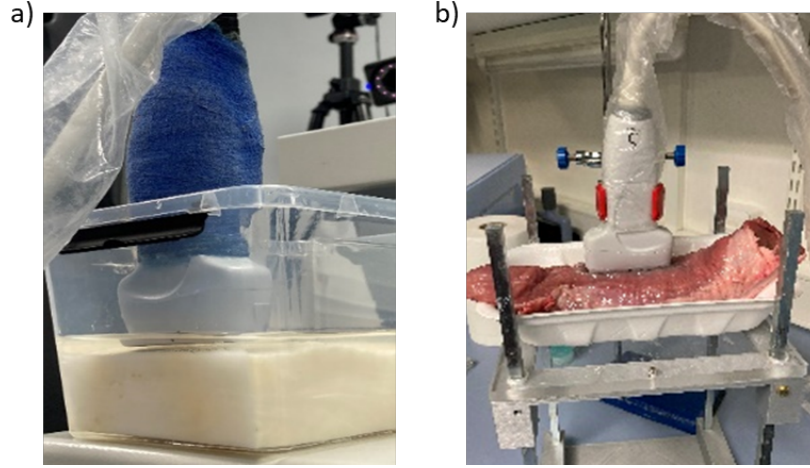


Figure 3: a) SPB sequence tested on an isotropic PVA phantom. b) SPB sequence tested on *ex vivo* beef muscle. The transducer array was aligned parallel to the main axis of muscle fibers.

### Mechanical testing

To validate the quantification of the tensile anisotropy factor  $\chi_E$  by using the novel SPB sequence, we conducted *ex vivo* experiments on 6 freshly excised porcine muscles (*iliopsoas*). These porcine muscles were excised from 3 healthy domestic pigs with an age of 3 to 4 months and a weight of 23 to 42 kg. In accordance with the national and European laws on animal protection, no approval for the study was needed, since the muscles were harvested after sacrifice in a pig involved for scientific purposes in another protocol approved by the local Ethical Committee and authorized by French authorities (APAFIS #22589-20190726115576) at the IHU-Strasbourg. Each *iliopsoas* muscle from the same pig was sampled into different pieces: 2 longitudinal (parallel) and 2 to 4 perpendicular (transverse) to the fibers. Each sample had a similar rectangular form (5x1 cm<sup>2</sup>) (figure 4a). The fiber orientation was previously determined by classical B-mode ultrasound. Before stretching, both ultrasound sequences were applied to quantify mechanical parameters. The commercial sequence was used on both samples to quantify both shear moduli  $\mu_{//SSI}$  and  $\mu_{\perp SSI}$ . The SPB sequence was used on the longitudinal sample to quantify shear modulus parallel  $\mu_{//SPB}$  and the anisotropy factor  $b = \mu_{\perp SPB} \cdot \chi_E$ . The standard deviation of the ultrasound anisotropy factor was calculated as follows:

$$\Delta\chi_E = \frac{|\Delta b \cdot \mu_{\perp SSI} - b \cdot \Delta\mu_{\perp SSI}|}{\mu_{\perp SSI}^2} \quad (13)$$

Then samples muscles were fixed to the mechanical testing device (Instron 5944,

Norwood, MA, USA) on the two ends by the system of jaws (figure 4b). Longitudinal samples were used to have muscle fibers aligned with the main axis of the traction device. The parallel Young's modulus ( $E_{//}$ ) was calculated by using the Hooke's law from the slope of the experimental stress-strain curve obtained. Stepwise stretches from 0 to 12% nominal strain at 1% step were induced. At each 1% strain step, the tensile test was carried out. Complementary, transverse samples were used to quantify with the same protocol the Young' modulus perpendicular ( $E_{\perp}$ ) to fibers. Then the elastic anisotropy factor  $\chi_{EMECH}$  was calculated by the ratio of both Young's moduli.

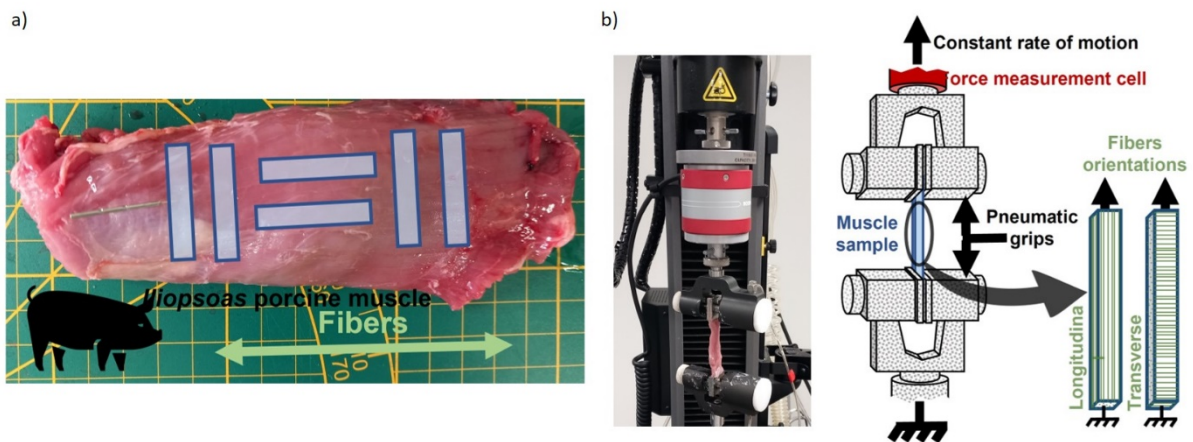


Figure 4: a) 6 numerated samples extracted from one iliopsoas porcine muscle. b) Mechanical testing for one longitudinal muscle sample.

### *In vivo experiments*

Experiments were performed on 3 healthy volunteers (2 women, 1 man; age  $28 \pm 7$  years; height  $161 \pm 12$  cm; weight  $56 \pm 16$  kg) with no self-reported history of upper limb neuromuscular and musculoskeletal disorders by following a protocol approved by the Ethics Committee of the University of Nantes (CERNI n°IRB: IORG0011023). Two muscle types were tested: a fusiform muscle, the *biceps brachii* (long head), and a pennated muscle, the *gastrocnemius medialis*. By using the B-mode image of the investigated muscle, the pinnation angle of each muscle was quantified between the main axis of fibers and the axis of the surface of the transducer array. This pinnation angle was used to fit with equation 9 the shear wave speed as a function of the angle of the steered pushing beam.

On the *biceps brachii*, scans were performed at a resting muscle length (approximately



at slack angle), at 5% of the maximal isometric voluntary contraction level, and at a stretched muscle length. The SPB sequence allowed to quantify  $\mu_{\perp SPBVIVO}$ ,  $\chi_{EVIVO}$  and  $\mu_{// SPBVIVO}$  with the transducer array probe aligned along the muscle fibers, while the commercial sequence allowed the quantification of  $\mu_{\perp SSIVIVO}$  with the probe aligned perpendicularly to the direction of muscle fibers and  $\mu_{// SSIVIVO}$  with the probe aligned parallel to the fibers. These last measurements were only done in order to be used as a gold standard for the SPB sequence, to retrieve  $\chi_{EVIVO}$  and to compare it with *ex vivo* results. Briefly, volunteers were seated in an isokinetic dynamometer (CMV AG, Dubendorf, Switzerland) chair and the participants were secured at the trunk with the shoulder abducted at 90° (Figure 5a). The forearm and wrist were positioned in pronation and neutral flexion-extension positions respectively. The medial epicondyle of the humerus was aligned with the axis of rotation of the dynamometer and used to estimate the elbow angle. The dynamometer was used to passively set the targeted elbow angle for measurements. The elbow joint was initially positioned at 90°, corresponding to a neutral flexion-extension position. Following an appropriate warm-up, participants were asked to perform two maximal voluntary isometric elbow flexions and extensions with the elbow in a neutral position (90°) with 1-min rest intervals between two trials. The maximal force registered across the elbow flexions was calculated and used to quantify submaximal isometric contraction force levels (percentages) of the maximal voluntary contraction (MVC). Both ultrasound sequences scans were performed on the mid-portion of the fusiform *biceps brachii* muscle (*i.e.*, long head) of three participants at three different muscle activation states: relaxed, stretching, and submaximal muscle contractions (5% and 10 % of MVC). For each state, the quantification of the mechanical parameters was performed with the probe aligned with the longitudinal direction of the muscle fibers and then rotated by 90° to be perpendicular to the muscle fibers. Custom-made probe holders were designed to minimize the compression during acquisitions and to facilitate the 90° rotation while avoiding motion in other space planes. For the submaximal contractions, participants were given visual feedback of the target force level and were asked to maintain it for approximately 10 s, corresponding to the required acquisition time for the elastography data. Force data was acquired by using a Biopac system (Biopac Systems Inc, Goleta, CA, USA). A visual feedback of the submaximal force levels was displayed in real-time on a screen to help the volunteer.

Because the *gastrocnemius medialis* is a pinnate muscle, only the SPB sequence was performed. Briefly, the participant seated in an isokinetic dynamometer (CMV AG, Dubendorf,

Switzerland) chair with the hips flexed at  $150^\circ$  and the right knee fully extended. The chest and the waist were strapped to minimize trunk motion during acquisitions. The neutral position of the ankle was defined as an angle of  $90^\circ$  between the footplate and the shank. The lateral malleolus was used to estimate the center of rotation of the ankle and was aligned with the axis of the dynamometer. The foot was firmly strapped such that the potential heel displacement (Figure 5b). The probe was placed aligned with the direction of the muscle fibers of the *gastrocnemius medialis* and passively secured with a custom-made probe holder to minimize the pressure. As for the *biceps brachii*, measurements were then performed using the SPB method at a neutral plantar-dorsiflexion angle (rest) and during submaximal contractions at 5% and 10 % of MVC. Prior to measurements, contractions at MVC were performed to quantify the submaximal force levels used for visual feedback.

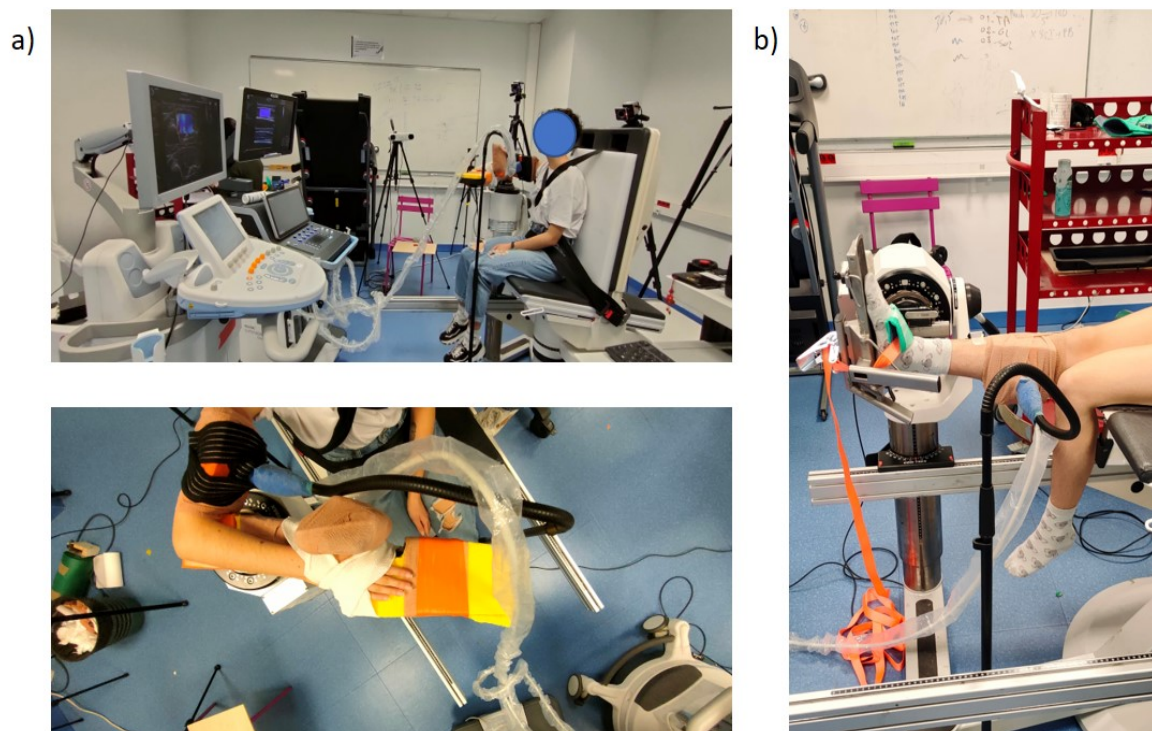


Figure 5: a) A volunteer seated in an isokinetic dynamometer to investigate the anisotropy factor in a fusiform muscle, the *biceps brachii*. b) Another volunteer with the same device used for a pennated muscle the *gastrocnemius medialis*.

## Results

### *Ex vivo and in vitro quantification of the anisotropy factor*

We firstly quantified the shear moduli parallel  $\mu_{//SI}$  and perpendicular  $\mu_{\perp SI}$  to fibers in

*ex vivo* beef fusiform muscles using the commercial sequence of the Mach 30 device. The figure 6 shows these two acquisitions in one muscle. The mean shear modulus and associated standard deviation values were measured within the region of interest. The same measurements were performed similarly *in vivo* in the *biceps brachii*.

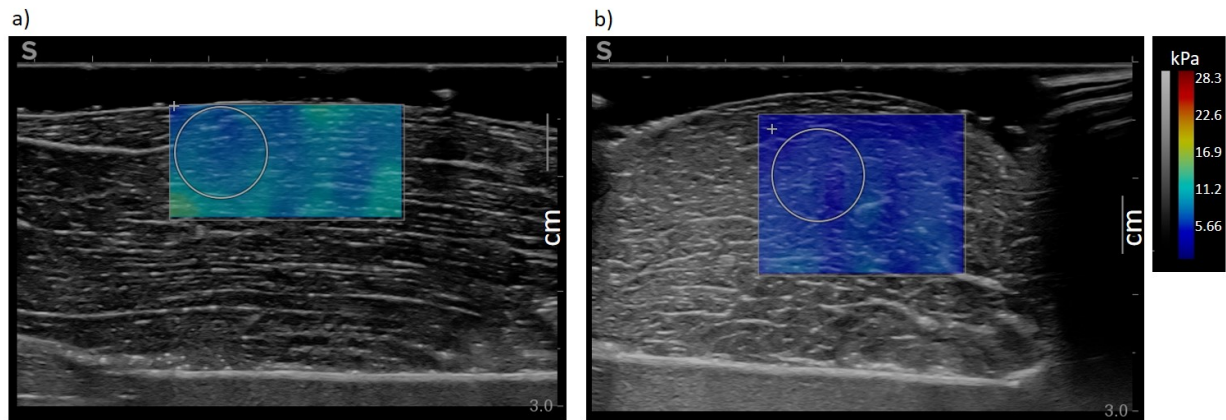


Figure 6: Shear wave speed map in *ex vivo* fusiform beef muscle parallel a) and perpendicular b) to the fibers. The ROI were used to quantify the means values and their standard deviation. a)  $2.76 \pm 0.26$  m/s and b)  $2.09 \pm 0.19$  m/s leading to shear moduli of a)  $7.61 \pm 0.71$  kPa and b)  $4.36 \pm 0.39$  kPa. To acquire both images the transducer array was turned by  $90^\circ$  as described figure 1 (a).

Second, the SPB sequence was applied in both the PVA gel phantom and a fusiform *ex vivo* beef muscle. As an example, the shear wave propagation is presented on figure 7 for 3 different steering angles ( $-20^\circ$ ,  $0^\circ$ ,  $20^\circ$ ) in a PVA phantom and at  $-10^\circ$  in a fusiform *ex vivo* muscle as a function of time.

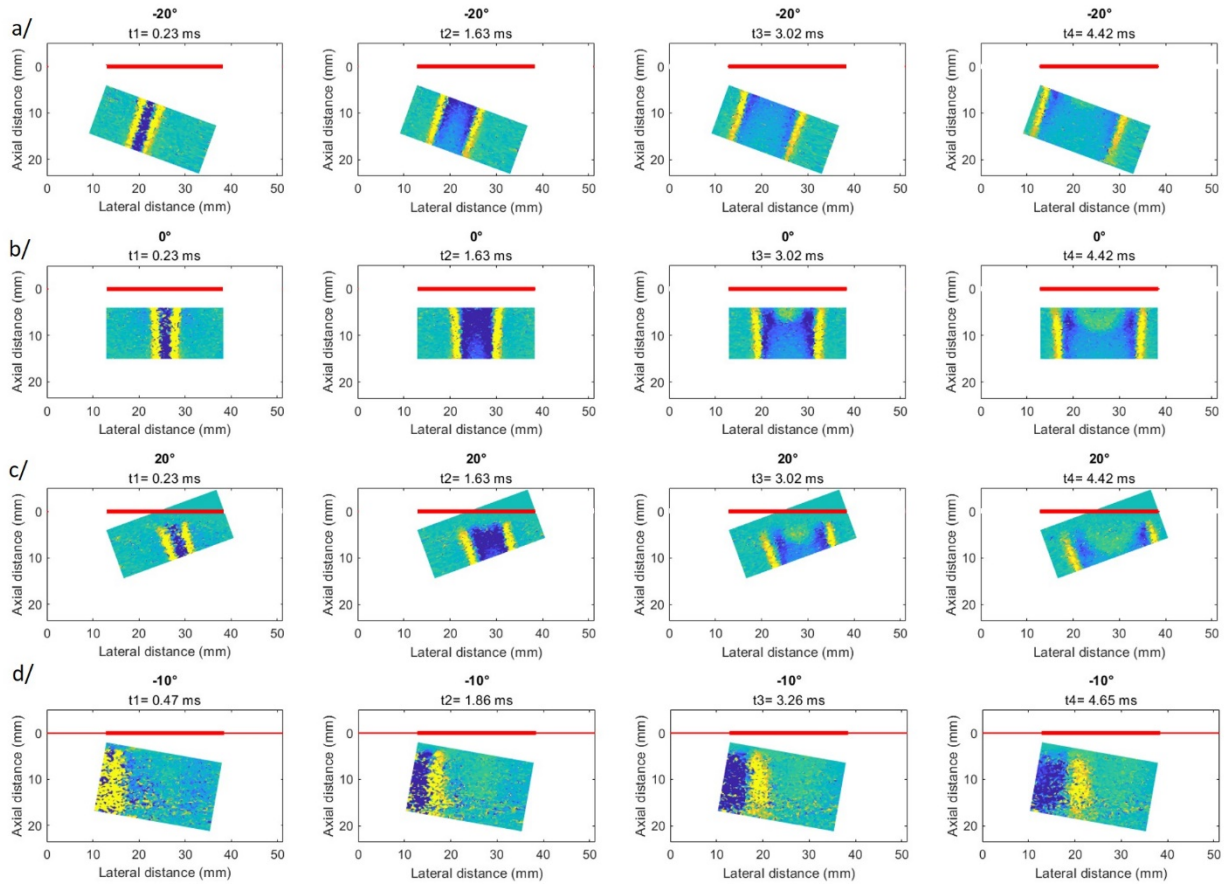


Figure 7: Displacements field of the shear wave during propagation as a function of time for three different insonification angles of the steered pushing beams in a PVA phantom: a)  $-20^\circ$ , b)  $0^\circ$ , c)  $20^\circ$  and at  $-10^\circ$  in *in vivo* biceps brachii. The solid red line corresponds to the front head of the ultrasonic array.

Then, the shear wave speed was quantified from the shear wave propagation movies as a function of the steering angle of the pushing beam, as presented in Figure 8 for both PVA phantom and *ex vivo* muscle. The results showed that, regardless of the steered push angle, the shear velocity is almost constant in the phantom (values of  $8.09 \pm 0.17$  m/s) because of the isotropy of the medium (figure 8a). In the *ex vivo* muscle, a variation of the shear wave speed was observed as a function of the steering push beam angle (figure 8b), with values ranging from  $3.48 \pm 0.20$  m/s to  $6.22 \pm 0.54$  m/s. Consequently, these results showed that the SPB sequence is highly sensitive to the elastic anisotropy of the medium.

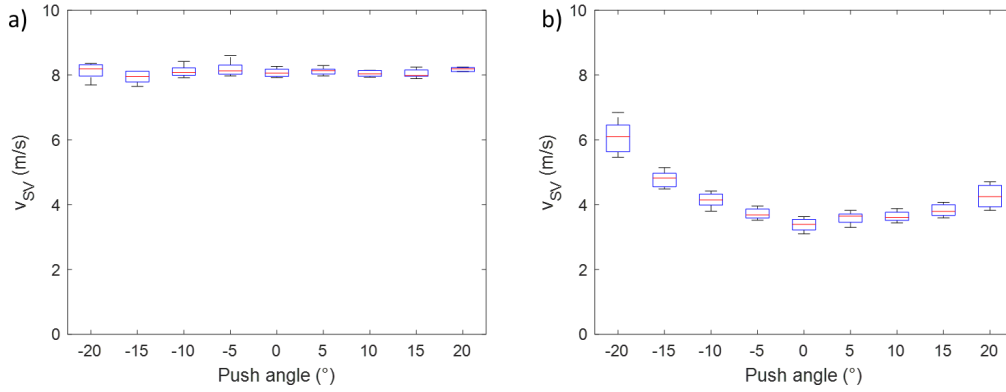


Figure 8: Shear wave speed as a function of the angle of the steering push beam in isotropic PVA phantom a) and in ex vivo fusiform beef muscle b).

### Ex vivo acquisitions coupled with tensile testing

After being scanned with both previously-described ultrasound sequences, 6 *iliopsoas* fusiform muscles were cut and tested in a mechanical tensile device. At the exact locations where the samples are to be cut either parallel (longitudinal sample) and or perpendicular (transverse sample) to the fibers, B-mode images are extracted from the same muscle, as illustrated in figure 9a in a longitudinal and a transverse. Before cutting, the commercial sequence was used to quantify directly the shear modulus perpendicular to fibers  $\mu_{\perp SSI}$ . In the transverse samples. Similarly, before cutting, the SPB sequence was used to quantify the shear wave velocity as a function of the steering pushing beam angle in the longitudinal samples (figure 9b) as well as the modulus parallel to fibers  $\mu_{\parallel SSI}$  by using the commercial sequence. The red plots represent experimental data that are fit with equation 10 allowing to retrieve  $\mu_{\parallel SPB}$  and  $\mu_{\perp SPB} \cdot \chi_E$ . The blue solid curve represents the fit equation 10 assuming that the angle of fibers (*i.e.* the fiber main axis is parallel to the surface of the transducer array) is set to  $0^\circ$ . Results over the 6 muscles are summarized in table 1.

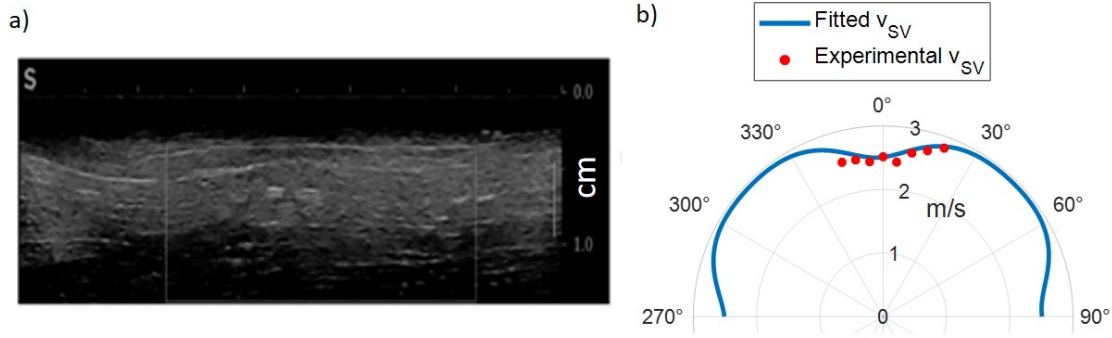


Figure 9: a) B-mode image extracted sample from one iliopsoas muscle along the fibers. b) Shear wave velocity data (red plot) fit by equation of the shear vertical mode (eq. 9, solid blue curve) as a function of the angle of the steered pushing beam.

In a second step, after cutting, all the samples were stretched using the mechanical device to quantify the Young's moduli either perpendicular or parallel to the fibers. The figure 10 illustrates the typical stress-strain curve obtained from two longitudinal and transverse samples from the same muscle. The mean Young's moduli and standard deviations were extracted from the linear fitting of these relationships at small strains, i.e. in the strain range where the material's mechanical behavior in tensile is linear and its elasticity is therefore independent of strain level (after fibers initial alignment but before nonlinear stiffening with strain, for tensile nominal strains between 2 and 8%). Results over the 6 muscles are summarized in table 1.

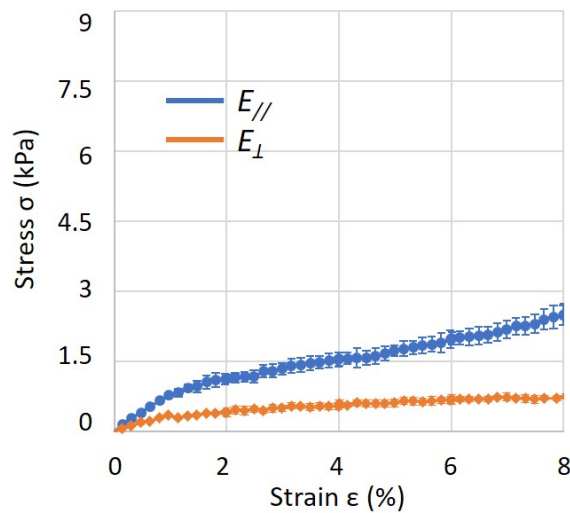


Figure 10: Stress-strain relationships obtained for two sample extracted from the same muscle perpendicular and parallel to the main fiber axis. The Young's moduli were calculated by fitting the stress/strain curve from 2 to 8%.

Table 1: Mechanical parameters in 6 ex vivo muscles determined with both ultrasound sequence and

*mechanical testing.*

Mechanical parameters (kPa)		<i>Ex vivo</i> muscle 1	<i>Ex vivo</i> muscle 2	<i>Ex vivo</i> muscle 3	<i>Ex vivo</i> muscle 4	<i>Ex vivo</i> muscle 5	<i>Ex vivo</i> muscle 6
Ultrasound commercial sequence SSI	$\mu_{\perp SSI}$	9.33 ± 0.36	7.59 ± 0.29	3.61 ± 0.60	3.56 ± 0.46	4.26 ± 0.45	3.49 ± 0.66
	$\mu_{//SSI}$	21.65 ± 0.08	8.00 ± 0.05	5.99 ± 0.82	6.72 ± 1.19	7.66 ± 0.64	6.88 ± 0.35
Ultrasound research sequence SPB	$\mu_{\perp SPB}$	20.16 ± 0.74	9.11 ± 4.7	6.26 ± 0.27	7.15 ± 0.54	8.72 ± 0.55	6.65 ± 0.44
	$\chi_E \cdot \mu_{\perp SPB}$	28.48 ± 2.64	23.18 ± 1.97	8.62 ± 0.63	10.61 ± 1.17	11.79 ± 0.99	9.11 ± 0.78
Tensile tests	$\chi_{EMECH}$	2.90 ± 0.43	2.93 ± 0.27	3.54 ± 1.08	3.44 ± 0.25	2.95 ± 0.34	2.55 ± 0.05
Ultrasound anisotropy factor	$\frac{\chi_E \cdot \mu_{\perp SPB}}{\mu_{\perp SSI}}$	3.05 ± 0.17	3.05 ± 0.14	2.38 ± 0.22	3.00 ± 0.05	2.77 ± 0.06	2.61 ± 0.27

Table 1 shows a comparison between shear moduli measured with the commercial sequence (SSI) and with the SPB sequence. A Mann-Whitney test was performed (p=0.818) showing no significant difference between SSI and SPB measurements. Table 1 illustrates the elastic anisotropic ratio  $\chi_E$  measured from mechanical testing and the elastic anisotropic ratio calculated from the parameters extracted from the SPB sequence ( $\chi_E \cdot \mu_{\perp SPB}$ ) and divided by the shear modulus perpendicular to fiber measured with the commercial sequence ( $\mu_{\perp SSI}$ ). Once again, a Mann-Whitney test was performed (p=0.558) showing no significant difference between both results.

*In vivo experiments*

*In vivo* scans were performed on both *biceps brachii* (fusiform muscle) and the *gastrocnemius medialis* (pennated muscle). The figure 11 shows results for 1 volunteer at 2 levels of contraction, at rest and at 10% MVC, and during stretching. On the B-mode image (figure 11(a, b, c)), the main axis of fibers was determined in order to fit the shear wave speed data with equation 10. On figure 11(d, e, f) the experimental shear wave velocity data are plotted in red and the corresponding fitting with equation 9 drawn in solid blue line. The whole results on *biceps brachii* are presented in table 2. A Mann-Whitney test was performed (p=0.977) revealed no significant differences between both SSI and SPB measurements.

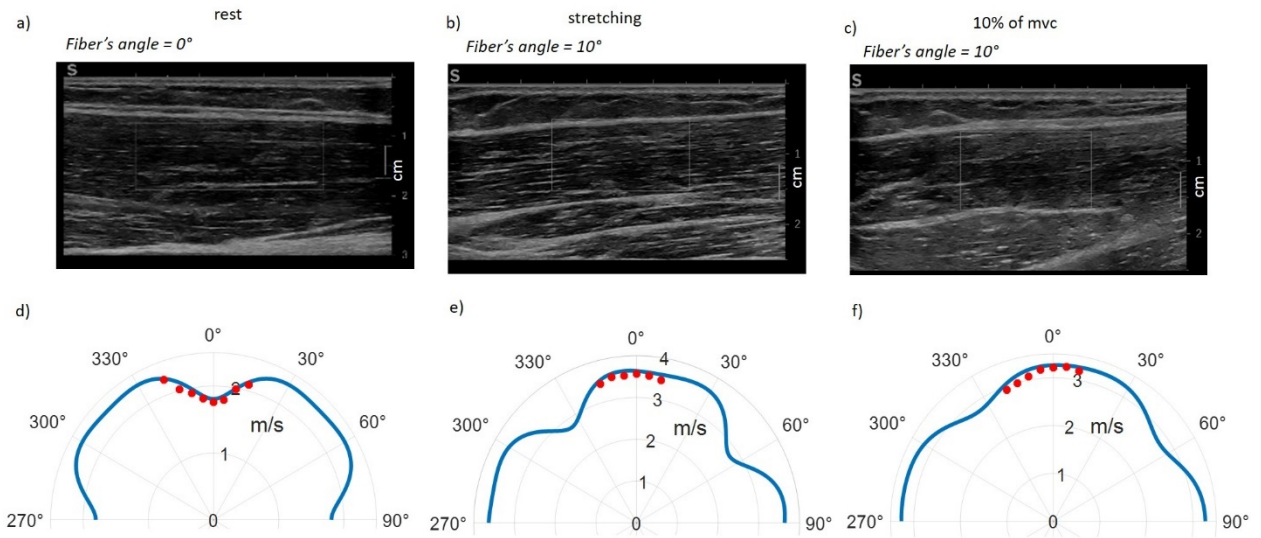


Figure 11: a, b, c) B-mode image of the biceps brachii for one volunteer at rest, during stretching and at 10% of MVC. d, e, f) Shear wave velocity data in red are fit by equation 9 in blue.

Table 2: Mechanical parameters determined with both ultrasound sequences in 3 healthy volunteers for different level of biceps brachii contraction.

Volunteer #	% MVC	$\mu_{LSSIVIVO}$ (kPa)	$\mu_{SSIVIVO}$ (kPa)	$\mu_{SPBVIVO}$ (kPa)	$\chi_{EVIVO} \cdot \mu_{LSPBVIVO}$	$\frac{\chi_{EVIVO} \cdot \mu_{LSPBVIVO}}{\mu_{LSSIVIVO}}$
#1	Stretching	$1.94 \pm 0.23$	$11.6 \pm 1.06$	$10.19 \pm 0.38$	$6.07 \pm 0.89$	$3.13 \pm 0.08$
	0	$1.75 \pm 0.20$	$3.24 \pm 0.28$	$2.80 \pm 0.21$	$4.54 \pm 0.51$	$2.56 \pm 0.24$
	5	$2.01 \pm 0.14$	$8.47 \pm 0.73$	$10.18 \pm 0.36$	$7.01 \pm 1.62$	$2.90 \pm 0.17$
	10	$4.88 \pm 1.20$	$21.36 \pm 2.65$	$21.86 \pm 1.04$	$15.21 \pm 4.25$	$3.12 \pm 0.10$
#2	Stretching	$2.70 \pm 0.61$	$13.88 \pm 1.59$	$12.95 \pm 0.21$	$7.74 \pm 0.43$	$2.86 \pm 0.49$
	0	$2.38 \pm 0.72$	$3.62 \pm 0.42$	$3.27 \pm 0.14$	$5.31 \pm 0.32$	$2.23 \pm 0.54$
	5	$1.60 \pm 0.27$	$4.16 \pm 0.36$	$3.03 \pm 0.08$	$4.04 \pm 0.19$	$2.92 \pm 0.23$
	10	$2.92 \pm 0.97$	$7.63 \pm 1.52$	$10.69 \pm 0.23$	$7.82 \pm 1.53$	$2.67 \pm 0.36$
#3	Stretching	$2.02 \pm 0.44$	$9.87 \pm 1.31$	$9.06 \pm 0.23$	$6.21 \pm 1.04$	$3.08 \pm 0.16$



	0	$1.85 \pm 0.24$	$3.82 \pm 0.60$	$3.02 \pm 0.12$	$4.94 \pm 0.38$	$2.67 \pm 0.14$
	5	$2.41 \pm 0.43$	$4.41 \pm 0.63$	$4.48 \pm 0.12$	$5.65 \pm 0.28$	$2.34 \pm 0.30$
	10	$2.83 \pm 0.37$	$6.2 \pm 0.63$	$9.33 \pm 0.61$	$6.22 \pm 2.30$	$2.19 \pm 0.52$

The figure 12 illustrates a typical example for a pennated muscle, the *gastrocnemius medialis* at rest and at 2 contraction levels (5 and at 10% of MVC). On the B-mode image (figure 12(a, b, c)), the main axis of the fibers was determined in order to fit the shear wave speed data with equation 10. On figure 12(d, e, f) the experimental shear wave velocity data are plotted in red and the corresponding fitting with equation 10 drawn in solid blue line. One can notice that the angle of fibers changes significantly with contraction, with values ranging from  $22^\circ$  to  $33^\circ$ . The whole results on *gastrocnemius medialis* are presented in table 3.

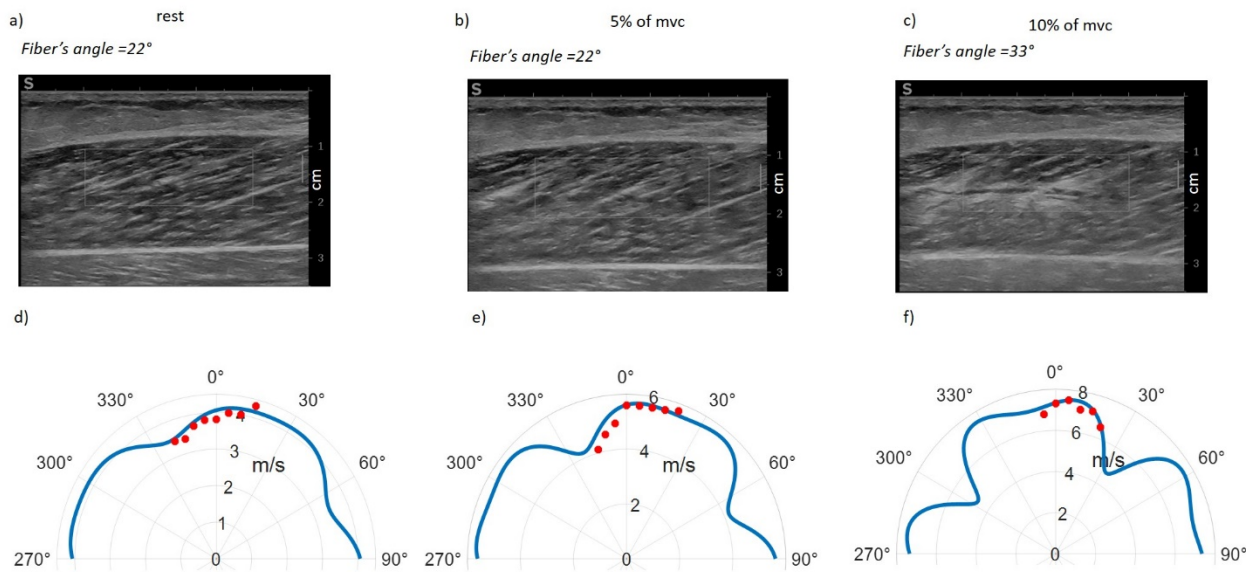


Figure 12: a, b, c) B-mode image of the *gastrocnemius medialis* for one volunteer at rest and at 5% and 10% of MVC showing  $22^\circ$ ,  $22^\circ$  and  $33^\circ$  of pinnation angle regarding the surface of the transducer array. d, e, f) Shear wave velocity data in red and fit by equation 12 in blue. The fitting was adjusted by the pinnation angle determined on the B-mode image.

Table 3: Mechanical parameters determined with both ultrasound sequences for one healthy volunteer for different level of *gastrocnemius medialis* contraction.

Volunteer #	% MVC	$\mu_{//SPBVIVO}$	$\chi_{EVIVO, \mu_{//SPBVIVO}}$
-------------	-------	-------------------	---------------------------------

		(kPa)	
# 1	0	17.28 ± 0.68	12.01 ± 1.17
	5	31.01 ± 2.27	17.54 ± 3.66
	10	21.78 ± 5.96	49.54 ± 17.39
# 2	0	16.71 ± 0.36	7.02 ± 0.21
	5	18.28 ± 5.00	33.87 ± 11.55
	10	21.11 ± 3.94	33.75 ± 7.82
# 3	0	16.26 ± 0.66	9.77 ± 0.99
	5	28.35 ± 1.27	17.51 ± 2.03
	10	34.10 ± 1.74	20.07 ± 2.89

## Discussion

The validity of the novel SPB sequence was firstly demonstrated on phantoms. On an isotropic phantom, the angle of the steered push beam was changed from  $-20^\circ$  to  $20^\circ$ , with a  $5^\circ$  increment. Results showed that the shear wave velocity was not impacted with the angle of the pushing beam. Then, the SPB sequence was tested in an *ex vivo* fusiform beef muscle with the ultrasound transducer array parallel to the main axis of the fibers muscle. Results presented a change in the shear wave velocity value, showing a clear influence of the transverse isotropy of the medium in shear elastic parameters as predicted by the theoretical framework (eq. 12). By using eq. 10, the shear modulus parallel to fibers  $\mu_{//SPB}$  as well as the anisotropy factor  $\mu_{\perp SPB} \cdot \chi_E$  was estimated. By comparison of  $\mu_{//SPB}$  with the shear modulus  $\mu_{//SSI}$  measured with the commercial sequence, no significant difference was observed ( $p=0.818$ ). To confirm these results in terms of anisotropy factor, mechanical testing was performed on 6 *ex vivo* beef muscle samples to quantify the young's moduli ratio  $\chi_{EMECH}$ . By dividing the anisotropy factor by the shear modulus perpendicular to fibers  $\mu_{\perp SSI}$  obtained with the commercial sequence, a good accordance was observed between  $\chi_{EMECH}$  and  $\chi_E$  from the tensile tests and SPB method

respectively. These results showed that it is possible to use the new SPB sequence with the transducer array parallel to the main fiber axis to quantify not only the shear modulus parallel to fibers, but also the elastic anisotropy factor. This last innovative parameter can then be used as a new potential biomarker of muscle structural properties and has the potential to serve as a biomarker of muscle pathology. This is a strong advantage compared to other existing techniques, which involve either rotation of the transducer array and multiple acquisitions (Gennisson *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2012) or need to have access to complex devices for a volumetric acquisition (Wang *et al.*, 2013; Gennisson *et al.*, 2015) to quantify an anisotropy factor with a standard ultrasound elastography device. More importantly, these results open the possibility to quantify  $\mu_{//SPB}$  and  $\mu_{\perp SPB} \cdot \chi_E$  in pennated muscles (i.e., the vast majority of muscles).

In a second step, *in vivo* experiments were performed on volunteers on 2 types of muscle: a fusiform muscle (*biceps braachi*) and a pennated muscle (*gastrocnemius medialis*). The results show that it was possible to quantify the anisotropy factor in both muscles during different states of contraction and stretching. For the fusiform muscle, it was possible to use the commercial sequence to evaluate the shear moduli both parallel and perpendicular to fibers. Similarly, to the *ex vivo* mechanical tests, it was then possible to quantify the Young's moduli ratio with the SPB sequence. *In vivo* results show a good accordance between the *ex vivo* ( $\chi_E$  from  $2.55 \pm 0.05$  to  $3.54 \pm 1.08$ ) and the *in vivo* ( $\chi_{EVIVO}$  from  $2.23 \pm 0.54$  to  $3.13 \pm 0.08$ ) Young's moduli ratio. The results are fully coherent with those related by others studies on the same muscles. With magnetic resonance elastography, Guo *et al.* reported a Young's moduli ratio of 2.53 on 10 volunteers at rest in the *gastrocnemius medialis* (Guo *et al.*, 2016). On another muscle *in vivo* at rest, *vastus lateralis*, Knight *et al.* by using a volumetric acquisition ultrasound device, estimated the ratio  $(E_{//} - E_{\perp})/E_{\perp} = \chi_E - 1$ . They found a value of 4.57 which is higher than the values reported here (Knight *et al.*, 2022). It can be explained by the physical architecture of each muscle. Indeed, the *biceps braachi* is a fusiform and *vastus lateralis* a pennated muscle, likely to have different mechanical properties and anisotropy coefficients. This emphasize the fact that the SPB technique is applicable only in fusiform or mono-pennated muscle. The quantification of the shear modulus parallel to fibers and of the anisotropy factor can only be done when the probe is aligned with the main axis of the muscle. This is a true drawback compared to 3D acquisition, nevertheless it allows to do the real-time acquisition with an ultrafast ultrasound device and to acquire these two biomarkers live during contraction

or during controlled movements. However, it shows that the SPB technique is reliable to quantify anisotropy factor *in vivo*.

Moreover, results during different states of contraction (at rest, 5% and 10% of MVC) in both muscle types have been observed (tables 2 and 3). The first thing to notice from the SPB *in vivo* results is that not only the shear modulus but also the anisotropy factor increases with contraction. This is in line with previous works that used different approaches to assess this ratio (Shinohara et al., 2010; Gennisson et al., 2010).  $\mu_{//SPB}$ , and  $\chi_{E,\mu_{\perp SPB}}$  change for each depends on the contraction state as well as on the orientation of the muscle fibers. By using the fitting curve from eq. 10, it is then possible to retrieve the angle of the fibers directly by the quantification of the shear wave speed. It was already proposed by Lee et al., in cardiac muscle (Lee et al., 2012). But this is possible only when the transducer array is aligned with the main axis of the muscle, i.e. fusiform muscles or pennated muscle with a pinnation of the fiber within the imaging plane. However, this application has the great advantage to allow for a direct access to the fiber orientation with an unique acquisition technique without other dedicated algorithm or set of data.

Even if the SPB sequence presents some great advantage to investigate non-invasively and in real time and using a classical probe the anisotropic elastic parameters of the muscle, this approach has some limitations. The depth of investigation is limited with this linear transducer array (around 20 mm) due to the insonification angle that are restricted to a range from  $-20^{\circ}$  to  $20^{\circ}$ . Implementation on other types of transducer arrays such as curved or phased arrays could make it possible to measure deeper in the organs and this option has to be investigated in the future. Then, it is also assumed that the shear modulus measured *in vivo* is homogeneous in space, which is a strong hypothesis assumed as a first approach. Last but not least, the use of this technique is not applicable to all sort of muscles, as previously mentioned, since the placement of the probe regarding the main fiber axis is quite important. As an example, in a bipinnate muscle such as *tibialis posterior*, for now only volumetric devices could acquire these parameters.

At last *in vivo* acquisitions on pennated muscle show an increase of the shear modulus parallel to fibers with the MVC as well as an increase of the anisotropic factor for all volunteers. These results are in good accordance with other studies (Gennisson *et al.*, 2010; Hug *et al.*, 2015) and show the potential of the technique to study these two parameters in real time during

movements.

## Conclusion

A new elastography ultrasound sequence was proposed to better characterize mechanical and structural properties of transverse isotropic skeletal muscles. The technique shows that it is possible in fusiform muscles or pennated muscles, when the transducer array is aligned with the main axis of fibers, to quantify the shear modulus parallel to fibers as well as an anisotropy factor (ratio of Young's moduli times shear modulus perpendicular to fibers) using a single and fast acquisition. In future works this approach will allow to investigate a new biomarker of the anisotropy during movement without the constraint of moving the transducer between acquisitions.

## Acknowledgement

This work was funded by: ANR INNOVAN (ANR-19-CE19-0017), PEPS CNRS MUSCLOR 2022, PEDECIBA and ANII (FMV\_1\_2019\_1\_155527), France Life Imaging (ANR-11-INBS-0006 grant from the French "Investissements d'Avenir" program, and supported by IdEx Unistra (ANR-10-IDEX-0002) with the IRIS technology platform and by SFRI (STRAT'US project, ANR-20-SFRI-0012) under the framework of the French Investments for the Future Program. The authors also thank the team of the preclinical department of the IHU Strasbourg for their logistic support.

## References

- Bercoff J, Tanter M and Fink M 2004 Supersonic shear imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **51** 396-409
- Berg W, Cosgrove D, Doré C, Schäfer F, Svensson W, Hooley R, Ohlinger R, Mendelson E, Balu-Maestro C, Locatelli M, Tourasse C, Cavanaugh B, Juhan V, Stavros A, Tardivon A, Gay J, Henry J-P and Cohen-Bacrie C 2012 Shear-wave elastography improves the specificity of breast US: The BE1 Multinational Study of 939 Masses *Radiology* **262** 435-449
- Caenen, A., Knight, A. E., Rouze, N. C., Bottenus, N. B., Segers, P., and Nightingale, K.R. 2020 Analysis of multiple shear wave modes in a nonlinear soft solid: Experiments and finite element simulations with a tilted acoustic radiation force. *J. Mech. Behav. Biomed. Mat.* **107**, 103754.

- Catheline S, Wu F and Fink M 1999 A solution to diffraction biases in sonoelasticity: The acoustic impulse technique *J. Acoust. Soc. Am.* **105** 2941-2950
- Chatelin S, Bernal M, Deffieux T, Papadacci C, Flaud P, Nahas A, Boccara C, Gennisson J-L, Tanter M and Pernot M 2014 Anisotropic polyvinyl alcohol hydrogel phantom for shear wave elastography in fibrous biological soft tissue: a multimodality characterization *Phys. Med. Bio.* **59** 6923–6940
- Correia M, Deffieux T, Chatelin S, Provost J, Tanter M, and Pernot, M 2018 3D elastic tensor imaging in weakly transversely isotropic soft tissues *Phys. Med. Biol.* **63** 155005
- Deffieux T, Montaldo G, Tanter M, and Fink M 2009 Shear wave spectroscopy for in vivo quantification of human soft tissues visco-elasticity *IEEE Trans Med Imaging* **28** 313-322
- Deffieux T, Gennisson J-L, Larrat B, Fink M and Tanter M 2012 The variance of quantitative estimates in shear wave imaging: Theory and experiments *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **59** 2390-2410
- Fatemi M and Greenleaf J 1998 Ultrasound-stimulated vibro-acoustic spectrography *Science* **280(5360)** 82-85
- Fromageau J, Gennisson J-L, Schmitt C, Maurice RL, Mongrain R and Cloutier G 2007 Estimation of polyvinyl alcohol cryogel mechanical properties with four ultrasound elastography methods and comparison with gold standard testings *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **54** 498-509
- Gennisson J-L, Deffieux T, Macé E, Montaldo G, Fink M and Tanter M 2010 Viscoelastic and anisotropic mechanical properties of in vivo muscle tissue assessed by supersonic shear imaging *Ultrasound Med. Biol.* **36** 789-801
- Gennisson J-L, Provost J, Deffieux T, Papadacci C, Imbault M, Pernot M and Tanter M 2015 4-D ultrafast shear-wave imaging *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **62** 1059-1065
- Grasland-Mongrain P, Mari J-M, Chapelon J-Y and Lafon C 2013 Lorentz force electrical impedance tomography *Innovation and Research in Biomedical Engineering* **34** 357-360

Guo J, Hirsch S, Scheel M, Braun J and Sack I 2016 Three-Parameter Shear Wave Inversion in MR Elastography of Incompressible Transverse Isotropic Media: Application to In Vivo Lower Leg Muscles *Magnetic Resonance in Medicine* **75** 1537–1545

Hug F, Tucker K, Gennisson J-L, Tanter M and Nordez A 2015 Elastography for Muscle Biomechanics: Toward the Estimation of Individual Muscle Force *Exercise and Sport Sciences Review* **43** 125-133

Knight A, Trutna C, Rouze N, Hobson-Webb L, Caenen A, Jin F, Palmeri M and Nightingale K 2022 Full Characterization of in vivo Muscle as an Elastic, Incompressible, Transversely Isotropic Material using Ultrasonic Rotational 3D Shear Wave Elasticity Imaging *IEEE Trans. Med. Imaging* **41** 133–144.

Lee W-N, Larrat B, Pernot M and Tanter M 2012 Ultrasound elastic tensor imaging: Comparison with MR diffusion tensor imaging in the myocardium *Phys. Med. Biol.* **57** 5075–5095

Loupas T, Powers JT and Gill RW 1995 An axial velocity estimator for ultrasound blood flow imaging, based on a full evaluation of the Doppler equation by means of a two-dimensional autocorrelation approach *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **42** 672-688

Montaldo G, Tanter M, Bercoff J, Benech N and Fink M 2009 Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **56** 489–506

Muthupillai R, Lomas DJ, Rossman PJ, Greenleaf JF, Manduca A and Ehman RL 1995 Magnetic resonance elastography by direct visualization of propagating acoustic strain waves *Science* **269**(5232) 1854–1857.

Ngo H.-H.-P., Poulard T., Brum J. and Gennisson J.L. 2022 Anisotropy in ultrasound shear wave elastography: An add-on to muscles characterization *Frontiers in Physics* **13** 1000612

Nightingale K, McAleavey S and Trahey G 2003 Shear-wave generation using acoustic radiation force: in vivo and ex vivo results *Ultrasound Med. Biol.* **29** 1715-23

Parker K, Huang S, Musulin R and Lerner R 1990 Tissue response to mechanical vibrations for “sonoelasticity imaging” *Ultrasound Med. Biol.* **16** 241-246

Rouze, N. C., Wang, M. H., Palmeri, M. L., and Nightingale, K. R. 2013 Finite element modeling of impulsive excitation and shear wave propagation in an incompressible, transversely isotropic medium. *J. Biomech.* **46**, 2761–2768.

Rouze, N. C., Palmeri, M. L., and Nightingale, K. R. 2020 Tractable calculation of the Green's tensor for shear wave propagation in an incompressible, transversely isotropic material. *Phys. Med. Biol.* **65**, 015014

Royer D and Dieulesaint E 1999 *Elastic Waves in Solids. I. Free and Guided Propagation* (Berlin: Springer) Chap. 4

Royer D, Gennisson J-L, Deffieux T and Tanter M 2011 On the elasticity of transverse isotropic soft tissues (L) *J. Acoust. Soc. Am.* **129** 2757-2760

Sandrin L, Tanter M, Gennisso J-L, Catheline S and Fink M 2002 Shear elasticity probe for soft tissue with 1D transient elastography *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **49** 436-446

Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph J-M, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M and Palau R 2003 Transient elastography: A new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis *Ultrasound Med. Biol.* **29** 1705-1713

Sarvazyan A, Skovoroda A, Emelianov S, Fowlkes J, Pipe J, Adler R, Buxton R and Carson P 1995 Biophysical bases of elasticity imaging *Acoustical imaging* (Boston, MA: Springer) 223-240

Shinohara M, Sabra K, Gennisson J-L, Fink M and Tanter M 2010 Real-time visualization of muscle stiffness distribution with ultrasound shear wave imaging during muscle contraction *Muscle Nerve* **42** 438-441

Song P, Zhao H, Manduca A, Urban M, Greenleaf J and Chen S 2012 Comb-push ultrasound shear elastography (CUSE): a novel method for two-dimensional shear elasticity imaging of soft tissues *IEEE Trans. Med. Imaging* **31** 1821-1832

Thomsen L 1986 Weak elastic anisotropy *Geophysics* **51** 1954-1966

Urban M, Chalek C, Kinnick R, Kinter T, Haider B, Greenleaf J, Thomenius K and Fatemi M



2011 Implementation of vibro-acoustography on a clinical ultrasound system *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **58** 1169-1181

Wang M, Byram B, Palmeri M, Rouze N and Nightingale K 2013 Imaging transverse isotropic properties of muscle by monitoring acoustic radiation force induced shear waves using a 2-D matrix ultrasound array. *IEEE Trans. Med. Imaging* **32** 1671-1684

## C. DISCUSSIONS COMPLÉMENTAIRES DE L'ARTICLE

---

### I. Base théorique

#### 1. Vitesse de phase et vitesse de groupe

La vitesse de phase correspond à la vitesse requise pour qu'un observateur puisse observer une oscillation dans le même état de phase à tout moment (Royer, Daniel; Dieulesaint Eugène, 1996). Elle est aussi appelée vitesse en fonction de la fréquence. En élastographie, la phase de l'onde de cisaillement a été démontrée linéaire avec sa distance parcourue (Thomas Deffieux, 2008). Pour calculer la phase, nous effectuons une transformée de Fourier à partir des déplacements axiaux du milieu causés par l'onde de cisaillement. Ensuite, la pente de la courbe des phases en fonction de la distance est calculée par une régression linéaire. Au final, la vitesse de phase est déduite par :

$$v_{\text{phase}}(\omega) = \omega / \frac{\Delta \phi(x, \omega)}{\Delta x}$$

où  $\phi(x, \omega)$  est la phase en fonction de la distance  $x$  et de la pulsation  $\omega = 2\pi f$ .

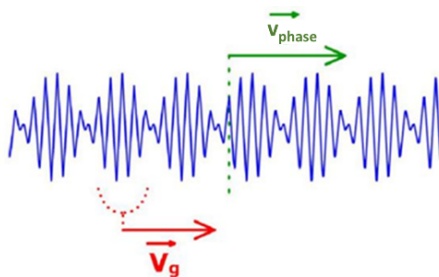


Figure 7 Vitesse de phase ( $v_{\text{phase}}$ ) et vitesse de groupe ( $v_{\text{groupe}}$ ) (Vitesse de groupe d'un paquet d'ondes, n.d.)

L'estimation de la vitesse de phase est assez complexe en raison de la faible énergie présente dans chaque composante fréquentielle du signal, ce qui entraîne un rapport signal sur bruit relativement faible. De plus, le calcul de vitesse de phase nécessite de définir une zone d'intérêt assez large ( $\sim 10 \times 10 \text{ mm}^2$ ) pour effectuer une régression linéaire (Thomas Deffieux, 2008). Enfin, comme le milieu musculaire présente de fortes hétérogénéités et de hautes dispersions, le calcul de la pente  $\frac{\Delta \phi(x, \omega)}{\Delta x}$  est sujet à de

nombreuses erreurs.

La vitesse de groupe, contrairement à la vitesse de phase, est estimée à partir d'une onde de cisaillement à large bande. Elle prend en compte donc tout le paquet de signal. Ceci sera expliqué plus en détail dans l'annexe 1. En élastographie, en particulier la méthode SSI, la vitesse de groupe est calculée par la méthode de temps de vol. Cette méthode calcule l'intercorrélation entre deux signaux temporels des déplacements axiaux dans deux régions séparées d'une distance définie pour trouver le temps de propagation d'onde et en déduire sa vitesse (*Thomas Deffieux, 2008*). L'avantage de cette méthode est qu'elle est moins sensible aux mouvements parasites du milieu, ce qui permet d'obtenir des mesures plus précises. Contrairement à la vitesse de phase, qui correspond à la vitesse instantanée d'une onde, la vitesse de groupe représente la vitesse à laquelle un paquet d'ondes de cisaillement se propage à travers le tissu. Son rapport signal sur bruit est donc beaucoup plus élevé.

L'équation de la relation entre le module de cisaillement et la direction de propagation de l'onde de cisaillement par rapport à l'axe des fibres est écrite avec la vitesse phase (eq. 7).

$$\rho v_{phaseSV}^2 = \mu_{//} + (\chi_E \cdot \mu_{\perp} - \mu_{//}) \sin^2(2\varphi)$$

En revanche, comme précisé précédemment, l'estimation de la vitesse de phase est très complexe, notamment lorsqu'il s'agit des pushes en biais. L'estimation de la vitesse de phase varie beaucoup selon la fréquence en raison d'une forte dispersion du milieu. En outre, les pushes en biais requièrent une zone de traitement (ROI) uniforme pour toutes les pushes dont les dimensions sont limitées par le champ proche de push de différents angles. Cela compromet la taille de la ROI utilisée pour le calcul de la vitesse de phase. Pour ces raisons, nous avons décidé d'écrire une autre équation qui permet d'ajuster les vitesses de groupes calculées. Cette équation est établie en calculant la dérivée de l'expression de vitesse de phase. Nous supposons que l'onde de cisaillement générée est quasi-plane, l'angle d'inclinaison de cette onde est le même pour la vitesse de phase et de groupe, c'est-à-dire :  $\varphi(\alpha) = \alpha$  (eq. 9). Cette hypothèse a été vérifiée par le calcul du gradient des déplacements dans le milieu [Annexe 2]. L'équation de module de cisaillement avec vitesse de groupe est la suivante :

$$\rho V_{groupesSV}^2(\varphi(\alpha)) = \rho(v_{phaseSV}^2(\alpha) + (\frac{dv_{phaseSV}}{d\alpha})^2)$$

$$\Rightarrow \rho V_{groupesSV}^2(\alpha) = \rho(v_{phaseSV}^2(\alpha) + \mu_{//} \frac{d^2 + \sin^2(4\alpha)}{1 + d \cdot \sin^2(2\alpha)})$$

Où  $d = \frac{\chi_E \mu_{\perp}}{\mu_{//}} - 1$  et  $\chi_E = \frac{E_{//}}{E_{\perp}}$  avec  $E_{//}$  et  $E_{\perp}$  sont respectivement les modules de Young parallèle et perpendiculaire aux fibres.

## 2. Facteur d'anisotropie

Revenons à l'équation 7 de l'article, qui exprime le module de cisaillement en fonction de  $\varphi$ , l'angle entre la propagation de cisaillement ( $\vec{k}$ ) et l'axe des fibres :

$$\rho v_{SV}^2 = \mu_{//} + (\chi_E \cdot \mu_{\perp} - \mu_{//}) \sin^2(2\varphi) \quad (1)$$

Cette équation nous permet de trouver deux inconnus :  $\mu_{//}$  et  $\chi_E \cdot \mu_{\perp}$ . Cependant, il n'est pas possible d'estimer le ratio d'anisotropie de cisaillement  $AF = \mu_{//} / \mu_{\perp}$  à partir de cette équation, car la valeur  $\chi_E$ , le ratio des modules de Young  $E_{//} / E_{\perp}$ , représente l'anisotropie en traction, reste toujours inconnue. Nous avons pu déterminer  $\chi_E$  à l'aide des tests de traction *ex vivo* sur les muscles ilio-psoas de porc. Sur six ilio-psoas prélevés de trois spécimens différents, nous avons obtenu des  $\chi_E$  répétées ( $3.05 \pm 0.37$ ). Ces résultats sont cohérents avec les valeurs trouvées par la méthode SPB combiné avec la méthode SSI sur les mêmes échantillons ( $2.81 \pm 0.27$ ).

Nous avons comparé ces valeurs de  $\chi_E$  *ex vivo* chez les cochons avec les valeurs *in vivo* chez l'homme. En utilisant la méthode SSI classique combinée à notre nouvelle méthode SPB, nous avons calculé  $\chi_E$  *in vivo*. Nous avons constaté une grande ressemblance entre les valeurs de  $\chi_E$  mesurées *in vivo* ( $2.72 \pm 0.34$  pour tous les états d'activation) et *ex vivo* ( $2.81 \pm 0.27$ ). De plus, en effectuant différents états d'activation des muscles (étirement, contraction et relaxation), nous avons observé que l'écart-type de valeurs de  $\chi_E$  est relativement petit (0.34). Cela indique que le rapport  $AF' = \mu_{//} / \chi_E \cdot \mu_{\perp} = AF / \chi_E$  obtenu à partir d'une seule acquisition de SPB, est aussi

représentatif de l'anisotropie. En effet, dans (1), si  $\varphi = 45^\circ$ , nous arrivons à :  $\rho v_{SV45^\circ}^2 = \mu_{//} + \chi_E \cdot \mu_{\perp} - \mu_{//} = \chi_E \cdot \mu_{\perp}$ . Par déduction, nous avons donc  $\chi_E \cdot \mu_{\perp} = \mu_{SV45}$  et ainsi  $AF' = \mu_{//} / \mu_{SV45}$ , avec la valeur de  $\mu_{SV45}$  donnée directement par la séquence SPB.

Les études biomécaniques en cours évaluent l'évolution de l'anisotropie à travers différents états sur différents muscles. L'anisotropie réfère à des propriétés dépendantes de la direction. Dans cette optique, le rapport AF' mesuré avec la méthode de SPB peut être un bon indicateur d'anisotropie des muscles. De plus, la mesure de AF' ne dure que moins d'une minute, s'applique aux muscles pennés et ne nécessite pas de rotation de la sonde contrairement à la méthode SSI.

Il convient de noter que ces études biomécaniques sont encore en cours et que les résultats définitifs et les implications cliniques de cette méthode nécessitent davantage de recherche et de validation.

## **II. Limites de la méthode des pushes en biais**

La séquence d'ultrasons qui permet de réaliser les pushes en biais (SPB) a été développée en collaboration avec la société Supersonic Imagine, qui détient les droits de la méthode SSI. Cette séquence spécifique présente certaines limites qui pourraient être améliorées afin d'obtenir des mesures plus précises et fiables.

La première limite de la méthode concerne l'angle d'inclinaison des pushes. La valeur maximale de cet angle dans nos mesures est  $20^\circ$ . Pour ajuster la vitesse mesurée avec l'équation d'onde, nous devons extrapoler sur les angles supérieurs à  $20^\circ$ . En effet, plus l'angle de push augmente plus le signal est bruité. Ceci est lié en partie à la directivité du faisceau d'un élément limitée par sa largeur relative à la longueur d'onde émise par la sonde (*Ultrasonic Sensing Basics, n.d.*). Ce problème peut être résolu en implémentant la séquence sur une sonde à réseau phasé ou une sonde courbée qui offre une meilleure directivité avec les éléments plus petits ou une inclinaison naturelle de la sonde. Une sonde à réseau phasé est constituée d'éléments de taille inférieure

à une demie longueur d'onde, cependant son ouverture est plus petite qu'une sonde linéaire pour une fréquence d'émission et un nombre d'éléments donnés. Elle est souvent utilisée pour l'imagerie sectorielle divergente notamment cardiaque afin d'imager le cœur entre les côtes. Par contre, à cause de son ouverture plus petite, le champ de vue est moins large et la résolution est moins bonne pour l'imagerie divergente. Une sonde courbée est une sonde avec un réseau courbé d'éléments. Elle permet d'obtenir un large champ de vue circulaire et divergent, utile pour l'imagerie obstétrique et abdominale. Grâce à sa forme, les faisceaux ont un angle d'inclinaison naturel. Cependant, il est compliqué d'établir un bon contact avec la surface musculaire en imagerie *in vivo* car la position des pushes serait conditionnée par la courbure de la sonde.

La deuxième limite concerne des lobes secondaires liés au pas inter-élément de la sonde, qui dépend aussi de la taille des éléments. Nous avons utilisé une sonde linéaire avec un pas inter-élément de 0,2 mm, supérieure à une demie longueur d'onde émise par la sonde ( $\lambda/2 \approx 0,12$  mm). Cette configuration a conduit à l'apparition des lobes secondaires. Ces derniers se réfèrent à une partie indésirable du faisceau ultrasonore émis hors de l'axe, ce qui entraîne des artefacts d'imagerie en raison d'une erreur de positionnement de l'écho de retour. Les lobes secondaires sont significatifs lorsque le pas inter-élément du réseau est supérieur à une demie longueur d'onde. Ces lobes s'accroissent avec l'angle d'inclinaison du faisceau (*Grating Lobes and Side Lobes, n.d.*).

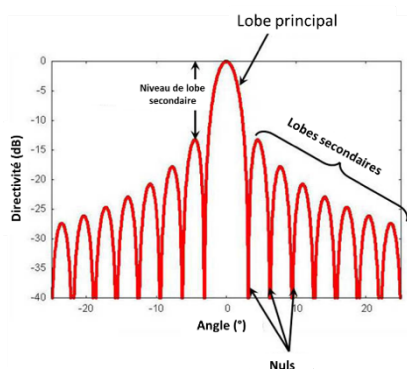


Figure 8 Lobe principal et les lobes secondaires d'un faisceau ultrasonore

Lors des pushes, les lobes secondaires peuvent générer des pushes secondaires et

déformer le front d'onde de cisaillement. La qualité de l'image se dégrade également avec l'apparition d'artefacts dus aux lobes secondaires en émission et en réception. Pour atténuer ces lobes, une apodisation peut être appliquée aux éléments lors de l'émission en limitant l'ouverture en transmission mais la tâche focale est élargie et moins d'énergie est transmise. En ce qui concerne l'imagerie, les effets des lobes secondaires sont compensés par une apodisation à la réception. Cela permet d'améliorer la qualité de l'image en réduisant les artefacts associés aux lobes secondaires. Toutefois, il convient de noter que l'utilisation d'une sonde à réseau phasé avec un pas inter-élément inférieur à une demie longueur d'onde diminue significativement les lobes secondaires mais offre un champ de vue moins large.

La troisième limite concerne la propagation d'une onde de cisaillement inclinée par rapport aux fibres musculaires. Lorsque les pushes sont effectués à différents angles par rapport aux fibres, la propagation de l'onde est limitée en raison d'une forte dispersion à travers les fibres. De plus, différents signaux parasites apparaissent en raison des interactions variées entre l'onde de cisaillement et les différents éléments du milieu, telles que la diffraction et la réflexion. Afin de résoudre ce problème, nous avons effectué plusieurs acquisitions pour chaque inclinaison des pushes. Cependant, cette approche compromet la durée de l'acquisition, qui doit être courte pendant la contraction musculaire.

La quatrième limite concerne le positionnement des pushes. Étant donné l'inhomogénéité significative du milieu musculaire, il est primordial de mesurer le module de cisaillement local. Par conséquent, la zone d'intérêt (ROI) doit rester au même emplacement par rapport au milieu pour toutes les inclinaisons de push. De plus, la ROI doit être suffisamment grande pour les calculs de vitesse de cisaillement. Sachant que le champ proche du push n'est pas accessible pour les calculs de vitesse car le signal est trop intense (*Thomas Deffieux, 2008*), les pushes sont réalisés d'un côté de la sonde pour maximiser la ROI. Cela implique aussi un décalage de position en fonction de leurs directions, cela sera détaillé dans les annexes. Cependant, cette stratégie présente un inconvénient : les pushes d'un côté de la sonde ne sont pas émis avec une grande ouverture en raison du nombre limité d'éléments. Cette ouverture limitée diminue la profondeur maximale atteignable. En effet, la profondeur des tâches

focales est dictée par le nombre d'éléments disponible autour de la position d'élément central du push et le F# (rapport d'ouverture sur profondeur) [Annexe 3].

### III. Obstacles à l'application *in vivo*

Actuellement, plusieurs études *in vivo* sont en cours au laboratoire biomécanique MIP, université de Nantes. Lors des expériences sur différents muscles *in vivo*, nous avons repéré certaines difficultés. En premier lieu, afin de bien appliquer la séquence SPB, le plan d'imagerie doit être placé dans le plan de symétrie vertical ( $e_2e_3$ ) du milieu (figure 9). Cela signifie que l'orientation verticale des fibres est visualisée par une image 2D (B-mode). Quand le muscle est penné, le plan de symétrie horizontal ( $e_1e_3$ ) n'est plus parallèle à la surface de la sonde, contrairement à un muscle fusiforme. Le positionnement devient donc plus complexe. En effet, au sein d'un faisceau d'un muscle penné, les fibres ont tendance à être moins alignés autour de son axe de symétrie. De plus, le muscle ne se compose pas uniquement de fibres musculaires, il contient également les tendons, les aponévroses, la graisse, les veines, les nerfs, et bien d'autres. Ces éléments divers sont sources d'artefacts qui peuvent interférer avec les mesures. La sonde doit donc être soigneusement positionnée en prenant en compte ces éléments divers du milieu musculaire et éviter ces interférences.

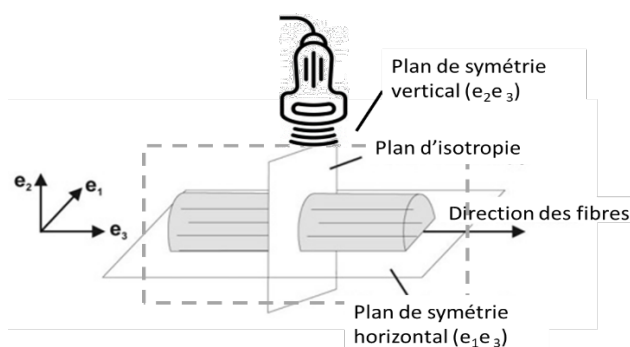


Figure 9 Plans principaux d'un milieu transverse isotrope dans l'imagerie par ultrasons

En deuxième lieu, étant donné la faible différence d'angle entre deux push successifs ( $5^\circ$ ), il est important de bien fixer la sonde pendant toute la durée de l'acquisition



(environ 30 secondes). Les mouvements de la sonde peuvent entraîner des variations indésirables de l'angle de push, ce qui compromet ainsi les résultats. De plus, il est crucial d'appliquer le moins de pression sur le muscle ciblé, car cela pourrait fausser la mesure de la rigidité. Dans la première phase d'expériences *in vivo*, un système de fixation adéquat de la sonde est nécessaire pour minimiser les artefacts. Des améliorations techniques seront essentielles pour les prochaines étapes du projet, notamment les applications cliniques qui exigent une meilleure portabilité de la mesure.

En troisième lieu, nous avons rencontré des difficultés lors de l'application de la mesure SPB aux muscles de petite taille. Comme mentionné précédemment, il est essentiel d'avoir une zone d'intérêt (ROI) similaire pour toutes les inclinaisons de push. Actuellement, la ROI est déterminée en prenant l'intersection des ROIs sélectionnées à partir des films de propagation de chaque push [Annexe 4]. En partant d'une faible épaisseur du muscle et en tenant compte de la présence d'artefacts, la ROI finale peut s'avérer trop petite pour des calculs fiables de la vitesse d'onde de cisaillement.

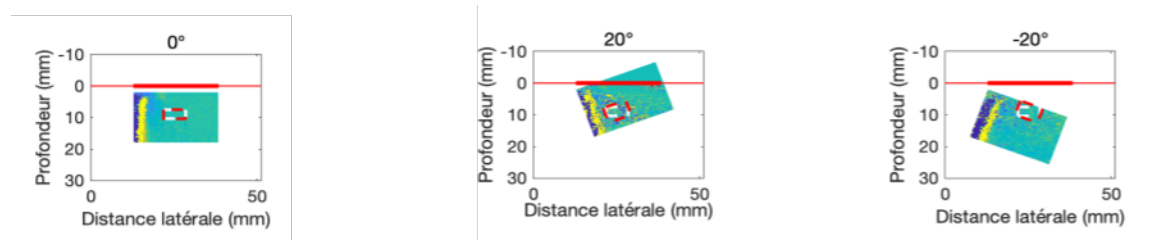


Figure 10 La ROI prise par l'intersection des ROIs sélectionnées à partir des pushes à 0°, 20°, -20°

Une solution envisageable pour résoudre ce problème consiste à optimiser la sélection de la ROI en utilisant des formes non rectangulaires. Cela permettrait de minimiser la différence de taille de ROI lors d'un changement de repère par rotation.

En quatrième lieu, la méthode SPB présente des limites pour l'étude de l'anisotropie musculaire lors de la contraction. Pendant la contraction musculaire, les fibres perdent leur alignement, ce qui complique la détermination de l'angle des fibres, un paramètre d'entrée important pour les calculs. De plus, la contraction musculaire entraîne une augmentation de l'hétérogénéité dans la zone d'acquisition en raison de la sollicitation

de divers éléments (tendons, aponévroses, nerfs, vaisseaux sanguins, ...) par le raccourcissement des fibres. La figure 11b montre un exemple d'un muscle gastrocnémien contracté avec l'apparition d'une veine.

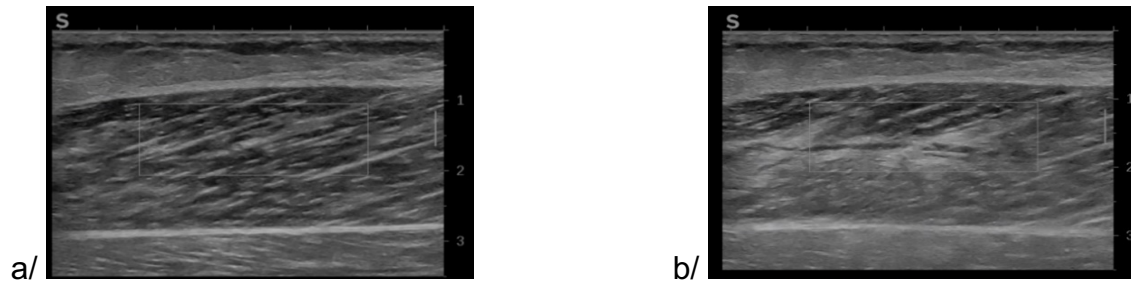


Figure 11 Image B-mode d'un muscle gastrocnémien (penné) in vivo chez l'homme : a/ au repos b/ en contraction à 10% MVC avec une veine au milieu. La sonde d'échographe est fixée sur le muscle

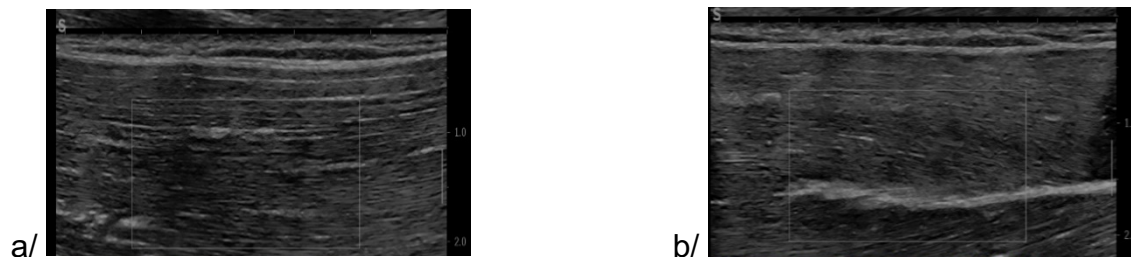


Figure 12 Image B-mode d'un biceps brachial (fusiforme) in vivo chez l'homme : a/ au repos b/ en contraction à 10% MVC avec un tendon. La sonde d'échographe est fixée sur le muscle

Dans la figure 12, deux images B-mode d'un muscle fusiforme, le biceps brachial, sont présentées. La première image représente le muscle au repos, tandis que la seconde image montre le muscle pendant la contraction, lors de la même expérience, avec une sonde fixée (même champ de vue). Pendant la contraction, nous pouvons observer

l'apparition du tendon, qui marque l'intersection des deux branches du muscle biceps.

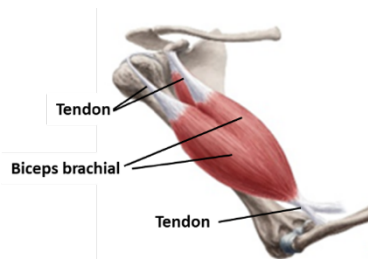


Figure 13 Un biceps brachial

Grâce à une carte d'élasticité SSI, nous avons pu constater que la rigidité du tendon est supérieure à celle du muscle. Compte tenu de la position intermédiaire du tendon dans le plan image, à une profondeur de 15 mm, il était difficile de l'exclure de la ROI. Cela introduit un biais significatif dans le calcul du facteur d'anisotropie avec notre méthode SPB. De plus, lors de la propagation d'onde de cisaillement à travers le tendon, celui-ci agit comme un matériau plus rigide. Le front d'onde est étiré en passant plus rapidement à travers le tendon, ce qui génère des artefacts importants dans nos mesures. En outre, nous avons observé que les fibres musculaires présentent une petite inclinaison vers le tendon, ce qui signifie que leur orientation n'est pas de  $0^\circ$  et varie entre les deux branches du muscle. En conséquence, si la ROI englobe le tendon, un seul angle d'inclinaison des fibres ne serait pas valide pour appliquer la méthode SPB.

Enfin, chez certains sujets, la contraction musculaire, notamment chez les muscles pennés, entraîne une augmentation significative de rigidité. La cadence d'imagerie de la méthode SPB n'est pas suffisamment rapide pour capturer l'onde de cisaillement à des vitesses élevées (supérieures à 8 m/s). Cette limitation est due à la fréquence d'imagerie dictée par la profondeur d'imagerie et la résolution d'image. Des améliorations techniques sont prévues afin d'optimiser la cadence d'imagerie tout en maintenant une profondeur et une qualité d'image suffisantes.

## BIBLIOGRAPHIE

---

Grating Lobes and Side Lobes (n.d.). Available at: <https://www.olympus-ims.com/en/ndt-tutorials/transducers/lobes/>.

Royer, Daniel; Dieulesaint Eugène (1996). *Ondes élastiques dans les solides*.

Thomas Deffieux (2008). Palpation par force de radiation ultrasonore et échographie ultrarapide : Applications à la caractérisation tissulaire in vivo. Available at: <https://theses.hal.science/pastel-00005573/>.

Ultrasonic Sensing Basics (n.d.). Available at: [https://www.ti.com/lit/an/slaa907d/slaa907d.pdf?ts=1689347392439&ref\\_url=https%253A%252F%252Fwww.google.com%252F](https://www.ti.com/lit/an/slaa907d/slaa907d.pdf?ts=1689347392439&ref_url=https%253A%252F%252Fwww.google.com%252F).

Vitesse de groupe d'un paquet d'ondes (n.d.). Available at: [http://olivier.granier.free.fr/MOOC/co/rappels-de-cours-ondes\\_EM\\_vitesse\\_groupe\\_1.html](http://olivier.granier.free.fr/MOOC/co/rappels-de-cours-ondes_EM_vitesse_groupe_1.html).

## *Chapitre 5*

# ***Quantification de la non linéarité anisotrope musculaire***

## A. PREAMBULE

---

L'élastographie en imagerie biomédicale vise à mesurer les propriétés mécaniques des tissus. En utilisant l'imagerie ultrasonore, l'élastographie par ondes de cisaillement détermine ces propriétés en analysant la propagation des ondes de cisaillement, principalement leur vitesse. En supposant que les tissus sont linéaires, élastiques, isotropes et homogène, la vitesse des ondes de cisaillement est utilisée pour estimer le module de cisaillement linéaire du second ordre des tissus.

Cependant, les tissus musculaires possèdent un comportement non linéaire lié à leur hyper-élasticité. Pour quantifier ce comportement, la théorie d'acoustoélasticité (AE) a été développée pour mesurer le module de cisaillement du troisième ordre par le tenseur de déformation de Green-Cauchy ((*Brillouin, 1925*), (*Hughes and Kelly, 1953*), (*Hayes and Rivlin, 1961*), (*Landau et al., 1985*)). Cette théorie implique la mesure de la vitesse des ondes de cisaillement dans des milieux soumis à une contrainte uniaxiale. Elle permet ensuite de déduire le module de cisaillement non-linéaire à partir des variations de vitesse des ondes de cisaillement en fonction de la contrainte uniaxiale appliquée.

L'anisotropie a un impact important sur la non linéarité du milieu musculaire. Récemment, la théorie AE a évolué pour prendre en compte l'incompressibilité et l'anisotropie, ce qui permet d'évaluer de manière plus précise la non linéarité des tissus musculaires (*Gennisson et al., 2007*, *Bied M, Gennisson JL, 2021*). Bied et Gennisson (2021) ont adapté cette théorie pour l'appliquer à un milieu transverse isotrope (TI) incompressible. Ils ont établi une expression de la vitesse de cisaillement en fonction des contraintes uniaxiales, en prenant en compte la direction de l'axe de symétrie du milieu TI. Grâce à ces équations, une méthode de quantification d'un des modules de cisaillement du troisième ordre a été développée. Cette méthode a été testée sur un fantôme TI en PVA ainsi que sur des muscles de porc et de bœuf *ex vivo*.

Le deuxième axe de cette thèse porte sur l'application *ex vivo* et *in vivo* de la nouvelle

méthode de quantification de la non-linéarité d'un milieu TI. En *ex vivo*, à l'aide d'un système mécanique et SSI, nous avons pu compléter nos mesures d'élastographie avec les trois modules de cisaillement du troisième ordre, aussi appelés coefficients non-linéaires. En *in vivo*, nous avons utilisé la séquence SPB comme alternative aux tests mécaniques *ex vivo* en vue de calculer les coefficients non-linéaires des muscles fusiformes sur des sujets humains.

## **B. QUANTIFICATION DE L'ÉLASTICITE DE CISAILLEMENT NON LINEAIRE ANISOTROPE DANS LES MUSCLES EX VIVO ET IN VIVO**

---

*Article soumis pour publication dans*

Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials (JMBBM), 2023





# Unravelling anisotropic nonlinear shear elasticity in muscles: towards a non-invasive assessment of stress in living organisms

Ha Hien Phuong Ngo<sup>1</sup>, Ricardo J. Andrade<sup>2</sup>, Juliette Lancelot<sup>2</sup>, Aude Loumeaud<sup>3</sup>, Corentin Cornu<sup>1</sup>, Antoine Nordez<sup>2,4</sup>, Simon Chatelin<sup>3</sup>, Jean-Luc Gennisson<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire d'imagerie biomédicale multimodale (BioMaps), University Paris-Saclay, CEA, CNRS UMR 9011, Inserm UMR 1281, Orsay, F-91401, France.

<sup>2</sup> Mouvement Interactions Performance (MIP), University of Nantes, UR 4334, F-44000 Nantes, France

<sup>3</sup> Engineering science, computer science and imaging laboratory (ICube), University of Strasbourg, CNRS UMR 7357, Strasbourg, F-67000, France.

<sup>4</sup> Institut Universitaire de France (IUF)

**Author Contributions:** AN, HHPN, JLG, RJA, CC, JL and SC designed research; AL, HHPN, RJA and SC performed the ex vivo research; AN, HHPN, JL, CC and RJA performed the in vivo research; AN, HHPN, JLG, RJA and SC wrote the paper.

\*Corresponding author: Jean-Luc Gennisson

**Email:** [jean-luc.gennisson@universite-paris-saclay.fr](mailto:jean-luc.gennisson@universite-paris-saclay.fr)

## ABSTRACTING AND INDEXING

---

Acoustoelasticity theory describes propagation of shear wave in uniaxially stressed medium and allows to retrieve nonlinear elastic coefficients of tissues. In transverse isotropic medium such as muscles the theory leads to 9 different configurations of propagating shear waves (stress axis vs. fibers axis vs. shear wave polarization axis vs. shear wave propagation axis). In this work we propose to use 4 configurations to quantify these nonlinear parameters *ex vivo* and *in vivo*. *Ex vivo* experiments combining ultrasound shear wave elastography and mechanical testing were conducted on *iliopsoas* pig muscles to quantify three third-order nonlinear coefficients  $A$ ,  $H$  and  $K$  that are possibly linked to the architectural structure of muscles. *In vivo* experiments were performed with human volunteers on *biceps brachii* during a stretching exercise on an ergometer. A combination of the third order nonlinear elastic parameters was assessed. The knowledge of this nonlinear elastic parameters paves the way to quantify *in vivo* the local forces produced by muscle during exercise, contraction or movements.

### Significance Statement

The present work presents for the first time the assessment of the third order nonlinear elastic coefficient of muscles *in vitro* and *in vivo* through an acoustoelasticity theory implementation in ultrasound elastography. This groundbreaking methodology holds the potential to revolutionize diagnostic and monitoring applications not only in pathological or post-traumatic skeletal muscles but also in other biological soft organs characterized by fiber reinforcement along a clearly identified main direction. This work paves the way to quantify *in vivo* individual muscles forces during contractions, movement or exercise.

**Competing Interest Statement:** The authors declare no competing interest.

**Classification:** Biological Sciences/Medical Sciences and Physical Sciences/Biophysics and Computational Biology

**Keywords:** shear wave elastography, shear nonlinearity, muscle force, stress, acoustoelasticity

## MAIN TEXT

---

### 1. INTRODUCTION

Tissue mechanical properties play a key role in governing cellular processes associated with morphogenesis, tissue homeostasis, and disease progression (1-3). The ability to measure the localized tissue mechanical properties using noninvasive imaging techniques within living tissues is very important for gaining comprehensive insights into tissue growth, maturation, pathological processes, and identifying reliable biophysical biomarkers of disease. However, the noninvasive quantification of mechanical forces or stress within individual living tissues remains one of the biggest challenges in biomechanics, while the accurate quantification of forces would significantly enhance our understanding of *in vivo* mechanobiology (4-6).

Among the non-invasive medical imaging techniques ultrasound elastography has shown great promise in quantifying *in vivo* tissue stiffness including skeletal muscle (7,8). Ultrasound elastography emerged in the 1990's and has been extensively used to assess soft tissue stiffness, which is significantly altered during several disease processes including cancer and fibrosis (9, 10). Ophir *et al.* introduced the concept of mapping tissue strain by applying a stress using an ultrasound transducer array on the body's surface (11). This technique, also known as static elastography, was primarily developed for breast cancer diagnosis (12). Thanks to the Hooke's law, strain ( $\epsilon$ ) is related to the Young's modulus ( $E$ ), the most relevant stiffness measurement of a given material. However, because the stress ( $\sigma$ ) applied to the medium cannot be quantified since its operator-dependency, objectively quantifying tissue stiffness ( $E$ ) through static elastography is challenging.

In 1995, Sarvazyan *et al.* (13) proposed to use shear wave propagation to quantify the Young's modulus (13). Specifically, in soft tissues modelled as linear, purely elastic, homogeneous, quasi-incompressible, the shear wave speed is directly linked to the Young' modulus through the equation  $E = 3\mu = 3\rho V_s^2$ , where  $\rho$  is the density of tissues ( $\sim 1000 \text{ kg/m}^3$ ) and  $\mu$  the shear modulus. Over the years, numerous techniques have been developed to capture shear waves propagation (14–20). These advancements enabled ultrasound shear wave elastography technique to become a gold standard for various pathological processes associated with breast cancer and liver tissues (21, 22). However, the addition of stiffness quantification to classical ultrasound imaging is insufficient to comprehensively characterize tissue mechanics in living tissues. For instance, breast cancers, such as carcinomas, can exhibit comparable stiffness to benign lesions like fibroadenoma (23). Furthermore, there is a critical need to quantify novel and non-invasive mechanical parameters that can aid in establishing an accurate and reliable clinical diagnosis of anisotropic soft tissues and to better understand mechanobiology processes *in vivo*. In the same time, magnetic resonance elastography (MRE) approaches have also made it possible in recent years to propose methods for characterizing

the anisotropic properties of tissues (24-29), with applications to breast (30), muscle (31) or brain tissue (32-34).

Interestingly in 2007, Gennisson *et al.* developed the acoustoelasticity theory to quantify nonlinear shear elasticity in linear, homogeneous, quasi-incompressible and isotropic soft tissues (35). The experimental application of this theory combined static elastography (11) and dynamic elastography (36) to quantify strain and the Young' modulus (Supersonic shear imaging technique), respectively. The validation of the technique to estimate nonlinear shear modulus was demonstrated in various phantoms (37-39) and finally applied *in vivo* in breast cancer assessment (40). However, the acoustoelasticity theory, originally developed *in vivo* for breast tissue (40), and all elastography techniques rely on a theoretical assumption that human tissues are fully isotropic. While this assumption holds true for liver and breast tissues, it cannot be the case for skeletal muscles due to their anisotropic nature.

Skeletal muscle has a hierarchical multiscale structure with a large number of muscle fibers, resulting in a global mechanical behavior that can be modeled as transverse isotropy, along a main fiber orientation direction. This consideration entails the existence of a symmetry axis along the fibers and this type of symmetry corresponds to a hexagonal system also named transverse isotropic (TI) medium (41). The acoustoelasticity theory has recently been revisited in TI media and refinements were proposed to include the specificities of the TI symmetry that implies 9 different configurations where the principal direction of the TI medium, stress, polarization  $u^{\rightarrow}$  and propagation  $k^{\rightarrow}$  directions of the shear wave are either parallel ( $\mu_{//}$ ) or perpendicular ( $\mu_{\perp}$ ) to one another (42, 43). The resulting configurations are dependent on 3 elastic parameters of the second order ( $\mu_{//}$ ,  $\mu_{\perp}$ , and the Young's modulus  $E_{//}$  parallel to the main axis, respectively) and on 3 third order nonlinear elastic parameters ( $A$ ,  $H$ ,  $K$ ) that are possibly linked to the architectural structure of muscles.

In this study we aimed to use the acoustoelasticity theory developed by Bied and Gennisson (42) to quantify the third order elastic parameters that are linked to local stress to better characterize skeletal muscle mechanics *in vivo*. We initially demonstrated the feasibility of quantifying these parameters *in vitro* using a unique approach that combines specific ultrasound sequences to measure shear wave speed as a function of mechanical stress, assessed via a traditional mechanical testing method. This step provided an estimation of the magnitude of the third order nonlinear parameters expressed in units of kPa. *In vitro* only 3 configurations (out of nine) were required to calculate the nonlinear parameters. *In vivo* only two configurations were used to assess the nonlinear parameters. An experimental protocol was then developed with a specific ultrasound sequence to quantify, for the first time in humans, the

nonlinear parameters coupled with an ergometer in a fusiform muscle (i.e., biceps brachii).

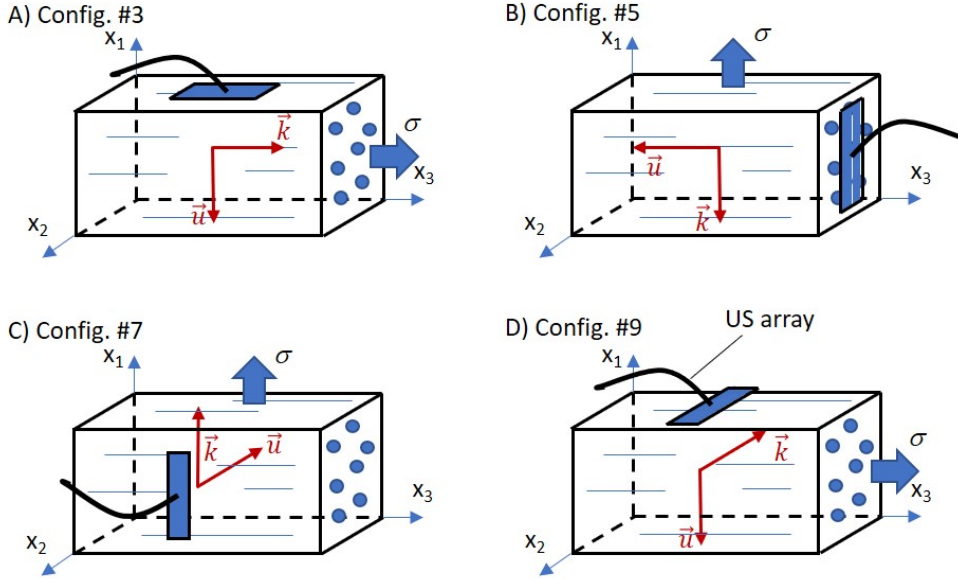


Figure 1: The 4 elastodynamic configurations used for ex vivo and in vivo measurements. The principal axis of the TI medium is chosen to be along  $(x_3)$ . For each configuration, the directions  $\vec{u}$  (polarization axis),  $\vec{k}$  (propagation axis) of the shear wave are specified in red, as well as the orientation of the stress  $\sigma$  in blue.

## 2. ACOUSTOELASTICITY THEORY

The acoustoelasticity theory is developed up to the 3<sup>rd</sup> order from the expression of the strain energy  $e$  of a compressible TI medium in terms of the Green-Lagrange strain tensor  $\varepsilon$  with a principal direction along  $\vec{x}_p$  (44, 45). In the case of quasi-incompressible TI medium which a principal direction along  $\vec{x}_3$ , this theory allows to show not only three linear elastic coefficients ( $E_{//}$ ,  $\mu_{//}$  and  $\mu_{\perp}$ ), but also five third order elastic parameters of a TI medium ( $A$ ,  $G$ ,  $H$ ,  $K$ ) as follow (42):

$$e = \mu_{\perp} I_2 + \frac{E_{//} - 3\mu_{\perp}}{2} \varepsilon_{33}^2 + 2(\mu_{//} - \mu_{\perp})(\varepsilon_{13}^2 + \varepsilon_{23}^2) + \frac{A}{3} I_3 + (G + H + K) \varepsilon_{33}^3 \quad (1)$$

$$+ (H + 2K) \varepsilon_{33}(\varepsilon_{13}^2 + \varepsilon_{23}^2) + K \varepsilon_{33}(\varepsilon_{11}^2 + \varepsilon_{22}^2 + 2\varepsilon_{12}^2)$$

where  $\varepsilon_{ij} = \frac{1}{2} \left( \frac{\partial u_i}{\partial a_j} + \frac{\partial u_j}{\partial a_i} + \frac{\partial u_i}{\partial a_i} \frac{\partial u_j}{\partial a_j} \right)$ .  $u_i$  is the displacement of particles in the  $i$  direction,  $I_2 = \text{Tr}(\varepsilon^2)$  and  $I_3 = \text{Tr}(\varepsilon^3)$  are the second and third invariants of  $\varepsilon$  (46),  $E_{//}$  is the Young's modulus along the principal direction. The whole theory leading to equation 1 is fully described in (42).

Then, by assuming elastic waves that propagates in a stressed medium and linearly polarized plane shear waves, acoustic wave equations are derived from the equation of motion of the medium's particles:

$$\rho_0 \frac{\partial^2 u_i^D}{\partial t^2} = \mu_{\perp} \frac{\partial^2 u_i^D}{\partial a_p^2} + 2 \left( \mu_{\perp} + \frac{A}{4} \right) \left( \frac{\partial u_i^S}{\partial a_i} \frac{\partial^2 u_i^D}{\partial a_p^2} + \frac{\partial u_p^S}{\partial a_p} \frac{\partial^2 u_i^D}{\partial a_p^2} \right) + (E_{\parallel} - 3\mu_{\perp}) \frac{\partial u_3^S}{\partial a_3} \frac{\partial^2 u_i^D}{\partial a_3^2} + (\mu_{\parallel} - \mu_{\perp}) \left\{ \delta_{i,3} \left[ \frac{\partial^2 u_3^D}{\partial a_1^2} + \frac{\partial^2 u_3^D}{\partial a_2^2} + 2 \frac{\partial u_3^S}{\partial a_3} \left( \frac{\partial^2 u_3^D}{\partial a_1^2} + \frac{\partial^2 u_3^D}{\partial a_2^2} \right) \right] + \delta_{i,1} \left( \frac{\partial^2 u_1^D}{\partial a_3^2} + 2 \frac{\partial u_1^S}{\partial a_1} \frac{\partial^2 u_1^D}{\partial a_3^2} \right) + \delta_{i,2} \left( \frac{\partial^2 u_2^D}{\partial a_3^2} + 2 \frac{\partial u_2^S}{\partial a_2} \frac{\partial^2 u_2^D}{\partial a_3^2} \right) \right\} + \frac{H+2K}{2} \left[ \delta_{i,3} \frac{\partial u_3^S}{\partial a_3} \left( \frac{\partial^2 u_3^D}{\partial a_1^2} + \frac{\partial^2 u_3^D}{\partial a_2^2} \right) + \delta_{i,1} \frac{\partial u_3^S}{\partial a_3} \frac{\partial^2 u_1^D}{\partial a_3^2} + \delta_{i,2} \frac{\partial u_3^S}{\partial a_3} \frac{\partial^2 u_2^D}{\partial a_3^2} \right] + K \left( \delta_{i,1} \frac{\partial u_3^S}{\partial a_3} \frac{\partial^2 u_1^D}{\partial a_2^2} + \delta_{i,2} \frac{\partial u_3^S}{\partial a_3} \frac{\partial^2 u_2^D}{\partial a_1^2} \right) \quad (2)$$

with  $\vec{u} = \vec{u}^S + \vec{u}^D$ , the displacement of any particle in the medium with 2 components: a static term  $\vec{u}^S$  due to the uniaxial stress and a dynamic term  $\vec{u}^D$  induced by the propagation of the elastic wave, and  $\delta_{m,n}$  the Kronecker delta. At last it results in 9 elastodynamic configurations (Config) and associated equations (42) of which the four presented in equations 3, 4, 5 and 6 are used in our present study to identify the nonlinear parameters (Table 1).

Shear wave	Stress axis	Config. #	Nonlinear elastodynamic equations	Eq.
$\vec{u} \parallel \vec{x}_2$ $\vec{k} \parallel \vec{x}_3$	$\sigma_{33}$	3	$\rho_0 v_s^2 = \mu_{\parallel} - \frac{\sigma}{E_{\parallel}} \left( E_{\parallel} - \mu_{\perp} + \mu_{\parallel} + \frac{A}{4} + \frac{H+2K}{2} \right)$	(3)
$\vec{u} \parallel \vec{x}_3$ $\vec{k} \parallel \vec{x}_2$	$\sigma_{22}$	5	$\rho_0 v_s^2 = \mu_{\parallel} + \frac{\sigma}{2E_{\parallel}} \left[ -E_{\parallel} - \mu_{\perp} + \mu_{\parallel} - \frac{\mu_{\parallel} E_{\parallel}}{\mu_{\perp}} + \frac{A}{4} \left( 1 - \frac{E_{\parallel}}{\mu_{\perp}} \right) + \frac{H+2K}{2} \right]$	(4)
$\vec{u} \parallel \vec{x}_2$ $\vec{k} \parallel \vec{x}_1$	$\sigma_{11}$	7	$\rho_0 v_s^2 = \mu_{\perp} - \frac{\sigma}{2E_{\parallel}} \left( E_{\parallel} + 3\mu_{\perp} + \frac{A}{2} - K \right)$	(5)
$\vec{u} \parallel \vec{x}_2$ $\vec{k} \parallel \vec{x}_1$	$\sigma_{33}$	9	$\rho_0 v_s^2 = \mu_{\perp} + \frac{\sigma}{E_{\parallel}} \left( 3\mu_{\perp} + \frac{A}{2} - K \right)$	(6)

Table 1: Nonlinear elastodynamic equations for 4 of the 9 acoustoelastic configurations of a TI quasi-incompressible medium used in this present work. Refer to figure 1 and its legend for the definition of the configurations and variables  $\vec{u}$  (polarization axis),  $\vec{k}$  (propagation axis) and  $\sigma$  (stress axis) (42).

For the ex vivo part, from measurements and equations (3, 4 and 5), each equation can be rewrite in the form of a linear relationship expressing the shear wave speed as a function of the uniaxial stress:

$$\rho_0 v_s^2 = \mu_{(\perp, \parallel)} \pm k_{(3,5,7)} \sigma \quad (7)$$

Then the 3 nonlinear parameters ( $A$ ,  $K$  and  $H$ ) can be deduced from each configuration #(3, 5 and 7). By fitting the experimental results of the shear wave speed as a function of the stress, the slopes  $k_{(3,5,7)}$  can be measured and the nonlinear parameters founded from the following equations:

$$A = -4(\mu_{\square}(2 + k_3 + 2k_5) + \mu_{//}), \quad (8)$$

$$K = -(E_{//} + 3\mu_{\square} + \frac{A}{2} + 2E_{//}k_7), \quad (9)$$

$$H = 2(-k_3E_{//} - E_{//} + \mu_{\square} - \mu_{//} + \frac{A}{4} - K), \quad (10)$$

For the *in vivo* part, a combination of the nonlinear parameters was deduced by using equations 3 and 6 from config #3 and config #9 respectively, and the parallel Young's modulus was deduced from the expression of the vertical shear wave mode in a quasi-incompressible transverse anisotropic medium at rest ( $\sigma = 0$ ). In config #3 the propagation of shear wave as a function of the angle of the polarization axis with can be expressed as (47-49):

$$\rho_0 v_{SV}^2(\theta) = \mu_{\perp} + 4\left(\frac{E_{//}}{E_{\perp}}\mu_{\perp} - \mu_{//}\right)\sin^2\theta\cos^2\theta \quad (11)$$

where  $\theta$  is the angle between the shear wave polarization axis (on Fig. 1A, the  $\vec{u}$  axis) and the vertical axis  $x_1$ , in the plane  $x_1x_3$ , and  $E_{\perp}$  the Young' modulus perpendicular to the main axis ( $x_3$  fiber axis). By assuming the medium as quasi-incompressible, equation 10 can be approximated to (50):

$$\rho_0 v_{SV}^2(\theta) = \mu_{\perp} + (E_{//} + \mu_{\perp} - 4\mu_{//})\sin^2\theta\cos^2\theta \quad (12)$$

Then by measuring the shear wave speed as a function of angle  $\theta$  it is then possible to recover the Young's modulus parallel to fibers (49). Regarding the nonlinear parameters, as *in vivo* only two configurations are accessible (configs #3 and #9), two parameters  $X$  and  $Y$  which are a combination of  $A$ ,  $H$  and  $K$ , were defined from equation 3 and 6 respectively to describe the nonlinear behavior *in vivo*:

$$X = \frac{A}{4} + \frac{H+2K}{2} \quad (13)$$

$$Y = \frac{A}{2} - K \quad (14)$$

### 3. Materials and Methods

#### 3.1 Ultrasound acquisitions

Ultrasound and elastography acquisitions were performed for both *ex vivo* and *in vivo* experiments, with a linear transducer array (SL18-5, 7.5 MHz central frequency, 256 elements, *Hologic-Supersonic Imagine, Aix en Provence, France*) driven by an ultrafast ultrasound device (Mach30, *Hologic-Supersonic Imagine, Aix en Provence, France*). Two distinct ultrasound sequences were used to get the shear modulus parallel ( $\mu_{//}$ ) or perpendicular ( $\mu_{\perp}$ ) to the fiber muscle main axis, and the Young' modulus parallel ( $E_{//}$ ) to the fiber muscle main axis.

For the shear moduli, the commercial sequence included in the device was used to get the shear wave speed ( $v_s$ ). It briefly consists in two steps: 1/ generation of a radiation force by a focused ultrasonic beam that creates shear waves propagating perpendicularly to the ultrasound axis with a polarization parallel to the ultrasound axis, 2/ detection of the propagation of the shear wave with an ultrafast imaging sequence (3500 frames.s<sup>-1</sup>) (36). Then, by using a time-of-flight algorithm (51), the shear velocity is retrieved for each pixel of the image, allowing the computation of a complete two-dimensional (2D) shear modulus map ( $\mu$ ) by using the relationship:

$$\mu = \rho_0 v_s^2 \quad (15)$$

Regarding the position of the transducer as a function of the main fiber muscle axis the shear modulus parallel (config. #3) and perpendicular (config. #9) was quantified.

For the Young's modulus a dedicated ultrasound sequence proposed and described by Ngo *et al.* (49). This sequence was only used for the *in vivo* part in config #3. As for the commercial mode it consists also on two steps: I) generation of the shear wave with a steered acoustic radiation force beam with an angle  $\theta$  (from -20° to 20° by 5° step) regarding the vertical axis  $x_1$ . II) an ultrafast ultrasound acquisition steered with the same angle to detect the propagation of shear waves. In this particular sequence shear horizontal waves and shear vertical waves are generated, but in the imaging plane -  $x_1x_3$  - plane) only shear vertical wave are measured. At rest, by knowing  $\mu_{//}$  and  $\mu_{\perp}$  from the previous acquisition with the commercial ultrasound sequence, the Young's modulus parallel  $E_{//}$  to fibers can be retrieved from the change in the shear wave velocity as a function of  $\theta$ .

To quantify the strain  $\varepsilon$  during stretching an ultrasound image was acquired at each step of the muscle lengthening. Then the displacement of the muscle in the axis of the fibers was calculated for each step by using a cross correlation algorithm (37). The original reference frame was partitioned into several sub-elements, each sized at 30x30 pixels (equivalent to 6x3.6 mm). For every sub-element in the reference frame, the algorithm performed a cross-correlation with an enlarged window (90x40 pixels,



approximately 8x10.8 mm) from frames captured at various elbow extensions, centered at the same location. This iterative process was applied to each sub-element, generating a displacement matrix.

### 3.2 Ex vivo experiments

Six *iliopsoas* porcine muscles were excised from three healthy domestic pigs (*Sus scrofa*) with an age of 3-4 months and a weight of 23 to 42 kg. In accordance with the national and European laws on animal protection, no approval for the study was needed, since the muscles were harvested after sacrifice in a pig involved for scientific purposes in another protocol approved by the local Ethical Committee and authorized by French authorities (APAFIS #22589-20190726115576) at the IHU Strasbourg. Each *iliopsoas* muscle from the same pig was sampled into different pieces: two longitudinal (parallel) and two to four perpendicular (transverse) to the fibers. Each sample has a similar rectangular shape (5x1 cm<sup>2</sup>) (Fig. 2). *Ex vivo* muscles were fixed to the stretching machine device (*Instron 5944*, Norwood, MA, USA) on the two ends by the system of jaws. The tests were carried out at room temperature, measured between 22°C and 25°C throughout, with regular hydration of samples on the tensile setup with physiological solution using a pipette. Three acoustoelastic configs were set up to perform experiments. Figure 2 shows a schematic illustration of sample extraction in the 3 configurations studied here, as well as the positioning of the samples on the traction machine.

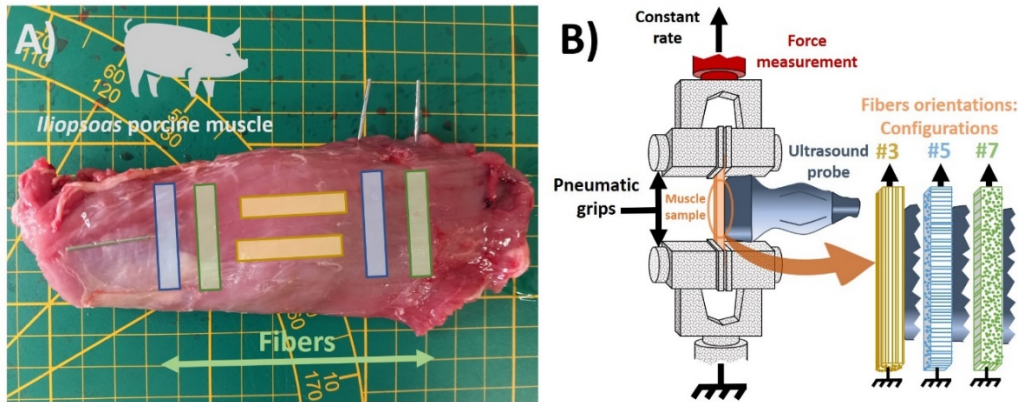


Figure 2: (A) Example of porcine *iliopsoas* muscle with schematic diagram of extracted samples depending on the orientation of the muscular fibers. (B) Illustrative diagram of the three configurations tested, according to sample fiber orientation, on the tensile machine coupled to the ultrasound transducer array

For the config #3, the longitudinal samples were used. In that case the muscle fibers were aligned with the main axis of the traction device. The parallel Young's modulus ( $E_{//}$ ) was calculated by using the Hooke's law from the slope of the experimental stress-strain curve using a traction device. Stepwise stretches from 0 to 12% nominal strain were induced then by 1% steps. At each 1% strain step, the tensile test was carried out. For configs #5 and #7, the transverse samples were used. The stretching stress applied, and the shear modulus measured are thus perpendicular to the fibers and the US measurements parallel or perpendicular to fibers (depending on the configuration) were performed.

From the given stiffness maps in the linear elastic regime at each measurement, an averaged stiffness of a defined ROI was calculated. The shear wave speed curve (given by the mechanical device) was then plotted as a function of the nominal stress  $\sigma$  (kPa) (stretching force  $F$  measured but the force load of the tensile machine divided by the initial cross section of the sample) and the slope of this relationship was calculated.

### **3.3 *In vivo* experiments**

Three healthy participants (1 woman, 2 men; age  $26 \pm 7$  years; height  $174 \pm 17$  cm; weight  $63 \pm 17$  kg), with no self-reported history of upper limb neuromuscular and musculoskeletal disorders, participated in this study. Prior to testing, written informed consent was obtained from all participants. The study was approved by the local Institutional Ethics Review Board (CERNI, University of Nantes, France IRB #IORG0011023).

A single experimental session was performed. Ultrasound scans of the mid-portion of the biceps brachii (*i.e.*, long head) were obtained from the right upper limb of each participant under passive conditions in several elbow postures. Participants were seated in a Con-Trex MJ isokinetic dynamometer (CMV AG, Dubendorf, Switzerland) chair, secured at the trunk with the shoulder approximately in the horizontal plane (*i.e.*, abducted at  $90^\circ$ ). The forearm and wrist were positioned in pronation and neutral flexion-extension positions respectively. The medial epicondyle of the *humerus* was aligned with the axis of rotation of the dynamometer (Fig. 3A). The dynamometer was used to perform passive elbow rotations and to measure the elbow angle and joint passive torque. Surface electromyography (sEMG) electrodes (Zerowire, Cometa, Italy) were placed on the muscle belly of the biceps brachii and triceps brachii muscles. EMG was recorded to ensure that muscles remained passive throughout experimental session (specifically, ultrasound scans). sEMG and mechanical data were sampled at 5 kHz using a Vicon Nexus software (version 1.8.5, Oxford Metrics Ltd., UK). EMG signals were amplified and digitized (6 - 400 Hz bandwidth).

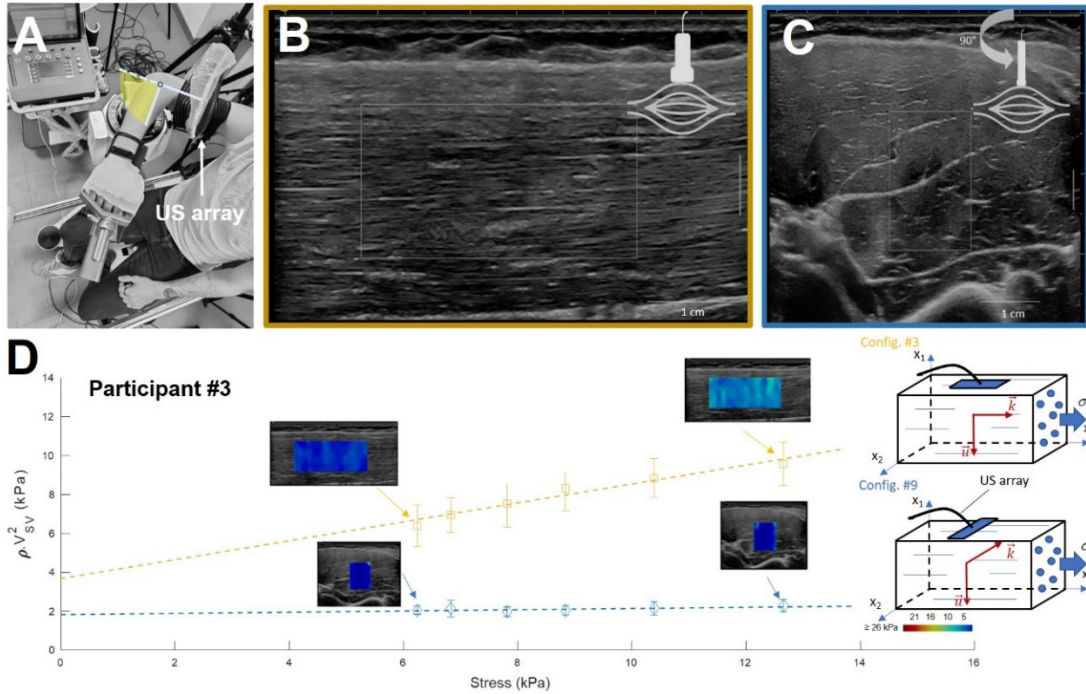


Figure 2: A) In vivo experimental setup for the measurement in human biceps brachii muscle. The yellow part represents the stretching direction from slack angle to 180° extension. B) B-mode image of biceps brachii in which the ultrasound transducer is aligned parallel to the direction of the muscle fibers enabling the shear modulus measurements for the config #3. C) B-mode image of biceps brachii in which the ultrasound transducer is aligned perpendicular to the direction of the muscle fibers enabling the shear modulus measurements for the config #9. D) Apparent shear modulus measured using ultrasound shear wave elastography, as a function of stress for volunteer #3. Outcomes are depicted the tested configurations in vivo. The stress was estimated from the product between the Young's modulus parallel to the muscle fibers (measured using the steered pushing beams method) and the strain (quantified from cross-correlation algorithm performed in B-mode frames captured at various elbow extensions). The slopes were used to calculate in vivo X and Y parameters.

Prior to the ultrasound assessments, five passive elbow rotations were performed at 5°.s<sup>-1</sup> to precondition the neuromusculoskeletal structures acting on the elbow joint (52). Then, the testing session was divided in two steps.

First, we experimentally measured the slack angle of the biceps brachii as a surrogate measure of its slack length (53). The slack angle was defined as the joint angle under zero load (54) which corresponds to the onset of muscle passive tension during a passive stretching. The *biceps brachii* passive tension was estimated by ultrasound shear wave elastography during a passive elbow extension performed at 2°.s<sup>-1</sup>, from 90° flexion to maximal extension (~180°). Elbow extension axially loads (i.e., stretches) the biceps brachii muscle. The ultrasound transducer was carefully aligned parallel to the muscle fibres with minimal tissue compression using a custom-made probe holder. The muscle shear modulus was recorded at 1 Hz using an Aixplorer ultrasound scanner (version 6.1, *Hologic-Supersonic Imagine, Aix-en-Provence, France*) coupled with a linear transducer (SL15-4, 7.5 MHz central frequency, 256 elements, *Hologic-Supersonic Imagine, Aix en Provence, France*). Following this muscle

loading cycle, the recorded shear wave elastography clip was exported in a DICOM file format. Using custom-made MATLAB scripts, a region of interest (ROI) was first defined on the first map as the largest muscle area. Then, this ROI was manually tracked frame-by-frame. Each frame was inspected for artefacts (i.e., saturation) and signal void areas, and the ROI was manually adjusted to be sure that artefacts were not included in the averaged shear modulus. The shear modulus data extracted from the ROI were then averaged, and this value was used for analysis. An analogic trigger signal originating from the Aixplorer ultrasound scanner at each elastography measurement allowed to synchronize the biceps brachii shear modulus data with elbow angle data. Then, the slack angle was visually determined from the raw shear modulus-elbow angle relationship (55) and this value was used for the following step.

Second, SWE data were acquired using a Mach30 ultrasound scanner (*Hologic-Supersonic Imagine, Aix-en-Provence, France*) and a linear transducer (SL18-5, 7.5 MHz central frequency, 256 elements, *Hologic-Supersonic Imagine, Aix en Provence, France*) driven by a custom sequences of steered pushing beams (49). Both ultrasound scanners, Aixplorer and Mach30, are commercialized by the same manufacturer, utilize the same elastography technology and operational sequences. However, scanner the Aixplorer possesses the essential elastography trigger-out capability required for estimating the slack angle. The transducer was placed in the same location as in the previous step, using a custom-made holder to ensure a proper alignment with the main axis muscle fibres throughout all scans. Then, ultrasound data were acquired at various elbow angles. Assessments were conducted every 5° increments, starting at the slack angle (previously established in step 1), and continuing until 45° of elbow extension. After each ultrasound acquisition, the elbow angle was passively moved to the following increment elbow angle. Ultrasound transducer was then rotated 90° in respect to the muscle fibres and ultrasound acquisitions were repeated for each elbow angle (56). Real-time transducer rotation angle was measured by using an optical measurement system (*NDI Polaris Vicra, Northern Digital Inc., Waterloo, ON, Canada*) and retroreflective markers attached to the transducer.

Finally, two maximal voluntary isometric elbow flexion and extension were performed with the elbow in a neutral position (90°) to normalize the EMG signals. There was a 1-min rest interval between each maximal effort trial. For both steps 1 and 2, trials in which any increase in EMG activity was visually observed were immediately discarded and repeated to ensure passive conditions were maintained throughout data collection. In addition, trials that exhibited EMG activity greater than 1% of maximal voluntary contraction during post-processing were discarded due to the potential effects of active muscle stiffness on measurements.

## **4. Results**

### **4.1 Ex vivo experiments**

The very first results lie in the *ex vivo* quantification of the non-linear coefficients, a necessary

preliminary part the understanding of the *in vivo* results presented below. To do this, by an original coupling, the mechanical curves in traction are acquired simultaneously with the measurements by ultrasound elastography (Fig. 4A). On Fig. 4B is presented a typical stress-strain relationship for a porcine skeletal muscle (*Iliopsoas*) samples (N = 6) where the fibers were oriented in 3 different configurations: (1) config #3: fibers and ultrasound probe parallel to the main axis of the mechanical device (Fig. 1A); (2) config #5: fibers perpendicular and ultrasound probe parallel to the main axis of the mechanical device (Fig. 1B); (3) config #7: fibers and ultrasound probe perpendicular to the main axis of the mechanical device (Fig. 1C). The change of slope of the stress-strain relationship allowed to define the linear elastic regime and hyperelastic regime and was defined at 8% (Fig. 4B). For each step, the slope and the nominal stress values were collected as well as the shear wave speed. Shear wave speed was quantified by using an ultrasound elastography sequence (36). This ultrasound technique allows to investigate the change in the stiffness map as a function of the applied stress (Fig. 4D).

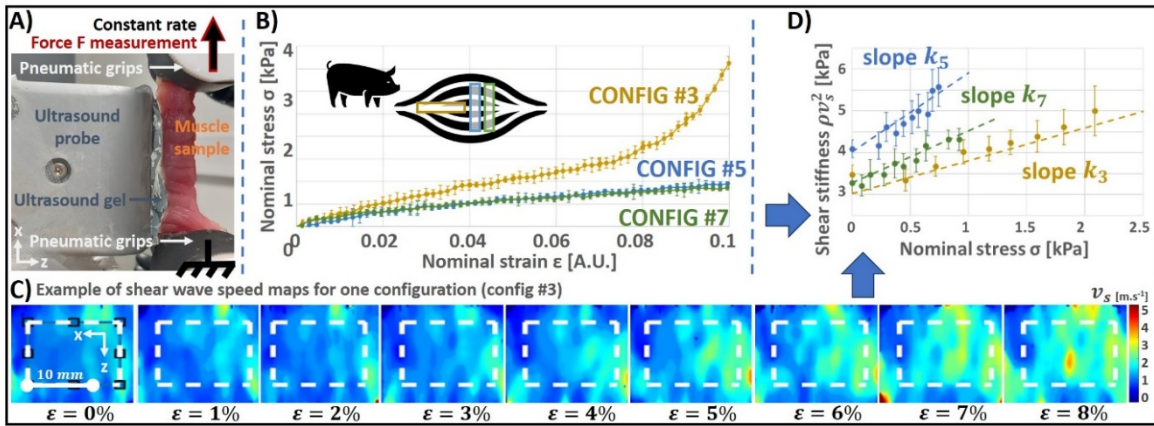


Figure 4: A) Experimental setup of the shear wave speed acquisition during mechanical testing. B) Typical stress-strain relationship on one muscle for the three investigated configurations with the acoustoelasticity theory to quantified elastic nonlinear parameters. C) Shear wave speed maps of the muscle at different strain step (from 0 to 8%). D) Apparent shear modulus as a function of the nominal stress (measured using the force load of the tensile machine) for the three configurations. Each quantified slope was used to recover the nonlinear elastic parameters.

In table 2 are presented results for six fresh *ex vivo* muscles extracted from three pigs. The slopes of the relationship of the apparent shear modulus (shear modulus at each stress step  $\mu_{app}(\sigma) = \rho \cdot V_s^2(\sigma)$ ) as a function of the stress evolved between  $(0.27 \pm 0.06$  and  $3.71 \pm 0.22)$  as well as the corresponding coefficient of determination  $R^2$ . The Young's moduli extracted from the mechanical testing  $E_{//}$  and  $E_{\perp}$  are given in kPa as well as the shear moduli  $\mu_{//}$  and  $\mu_{\perp}$  and quantified by shear wave elastography at 0 stress. By using the acoustoelasticity theory described above and equation 8, 9 and 10 the nonlinear elastic moduli  $A$ ,  $H$ , and  $K$  are quantified in kPa.

	PIG #1		PIG #2		PIG #3	
	Left muscle	Right muscle	Left muscle	Right muscle	Left muscle	Right muscle
$k_3$	$0.27 \pm 0.06$	$0.84 \pm 0.03$	$0.78 \pm 0.03$	$0.79 \pm 0.11$	$1.55 \pm 0.32$	$1.24 \pm 0.14$
$k_5$	$1.98 \pm 0.58$	$2.80 \pm 0.44$	$1.13 \pm 0.36$	$2.08 \pm 0.24$	$0.95 \pm 0.13$	$3.71 \pm 0.22$
$k_7$	$2.42 \pm 0.96$	$2.52 \pm 0.55$	$0.93 \pm 0.06$	$0.70 \pm 0.03$	$1.51 \pm 0.11$	$1.70 \pm 0.07$
$R^2(k_3)$	0.62	0.73	0.62	0.82	0.93	0.77
$R^2(k_5)$	0.82	0.70	0.77	0.84	0.76	0.92
$R^2(k_7)$	0.81	0.78	0.75	0.60	0.89	0.83
$E_{\parallel}$ [kPa]	$27.39 \pm 0.61$	$28.97 \pm 1.68$	$31.58 \pm 1.92$	$32.42 \pm 2.21$	$31.95 \pm 5.91$	$27.62 \pm 5.42$
$E_{\perp}$ [kPa]	$10.02 \pm 1.24$	$9.82 \pm 1.16$	$9.16 \pm 1.23$	$9.15 \pm 3.42$	$10.91 \pm 2.13$	$13.02 \pm 1.67$
$\mu_{\parallel}$ [kPa]	$19.90 \pm 3.35$	$9.98 \pm 1.07$	$7.35 \pm 1.26$	$4.53 \pm 0.46$	$8.16 \pm 0.94$	$8.44 \pm 0.76$
$\mu_{\perp}$ [kPa]	$9.40 \pm 1.60$	$7.37 \pm 1.86$	$4.17 \pm 0.90$	$3.40 \pm 0.43$	$4.37 \pm 0.48$	$3.87 \pm 0.39$
A [kPa]	$-313.85 \pm 99.14$	$-288.73 \pm 93.9$	$-113.47 \pm 35.69$	$-112.64 \pm 21.82$	$-127.91 \pm 24.36$	$-198.78 \pm 28.65$
K [kPa]	$-31.23 \pm 11.38$	$-52.72 \pm 0.64$	$-46.1 \pm 5.87$	$-31.69 \pm 2.37$	$-77.6 \pm 20.04$	$-33.75 \pm 14.56$
H [kPa]	$128.82 \pm 63.99$	$137.98 \pm 41.9$	$30.13 \pm 3.34$	$1.37 \pm 8.9$	$48.62 \pm 0.76$	$34.01 \pm 10.69$

Table 2: Results obtained for 6 muscles extracted from 3 pigs. Slopes  $k_{3,5,7}$  of the shear wave speed as a function of the stress. Young's moduli  $\parallel$  and  $\perp$  quantified by mechanical testing. Shear moduli  $\parallel$  and  $\perp$  quantified by shear wave elastography at 0 stress. Resulting nonlinear elastic parameters, A, H, K.

#### 4.2 In vivo biceps brachii experiments

In vivo the easiest configurations to quantify the nonlinear parameters are config #3 (Fig. 1A) and #9 (Fig. 1D). The shear wave speed was quantified within 3 healthy volunteers on *biceps brachii* (Fig. 3A). To produce the stress the arm of the volunteers was placed in an ergometer to control the angle of the elbow. The arm was extended from  $90^\circ$  to  $\sim 180^\circ$  (from rest to full extension of the arm). At rest the Young's modulus parallel to fibers as well as both shear moduli were measured. For each step the shear wave speed was measured parallel and perpendicular to fibers as well as the strain induced in the muscle due to the extension of the arm (Fig. 3B). Then as already proposed in (37), since the Young's

modulus is known, the stress was retrieved for each step by applying the Hooke's law. Results are presented in table 3, the slopes of the relationship of the apparent shear modulus as a function of the stress evolved between  $(0.02 \pm 0.01$  and  $0.49 \pm 0.11)$  as well as the corresponding coefficient of determination  $R^2$ . The Young's moduli  $E_{//}$  in kPa extracted from the dedicated ultrasound sequence proposed by Ngo *et al.* (49) as well as the shear moduli  $\mu_{//}$  and  $\mu_{\perp}$  and quantified by shear wave elastography at 0 stress. By using the acoustoelasticity theory described above and equation 13 and 14 a combination  $X$  and  $Y$ , of the nonlinear elastic moduli  $A$ ,  $H$ , and  $K$  is quantified in kPa.

Volunteer	#1	#2	#3
$E_{//}$ (kPa)	<b><math>20.53 \pm 1.27</math></b>	<b><math>23.20 \pm 1.35</math></b>	<b><math>24.25 \pm 3.03</math></b>
$\mu_{//}$ (kPa)	<b><math>5.13 \pm 1.21</math></b>	<b><math>5.77 \pm 0.92</math></b>	<b><math>4.27 \pm 0.45</math></b>
$\mu_{\perp}$ (kPa)	<b><math>1.60 \pm 0.27</math></b>	<b><math>2.12 \pm 0.31</math></b>	<b><math>2.41 \pm 0.87</math></b>
$k_3$	<b><math>0.05 \pm 0.03</math></b>	<b><math>0.49 \pm 0.11</math></b>	<b><math>0.17 \pm 0.04</math></b>
$k_9$	<b><math>0.03 \pm 0.01</math></b>	<b><math>0.03 \pm 0.02</math></b>	<b><math>0.02 \pm 0.01</math></b>
$R^2(k_3)$	<b>0.68</b>	<b>0.96</b>	<b>0.95</b>
$R^2(k_9)$	<b>0.77</b>	<b>0.57</b>	<b>0.88</b>
$X$ (kPa)	<b><math>-25.01 \pm 2.06</math></b>	<b><math>-38.19 \pm 4.43</math></b>	<b><math>-30.23 \pm 2.82</math></b>
$Y$ (kPa)	<b><math>-4.22 \pm 1.11</math></b>	<b><math>-5.57 \pm 1.70</math></b>	<b><math>-6.75 \pm 3.07</math></b>

Table 3: Second order elastic parameters and nonlinear elastic parameters of the biceps brachii for 3 volunteers

## Discussion

In this study we demonstrated, for the first time, the feasibility of assessing the nonlinear shear elasticity of (anisotropic) skeletal muscles through a combination of mechanical testing and ultrasound shear wave elastography. Prior to the application of this completely non-invasive approach in humans (in vivo *biceps brachii* muscle), we characterized the third-order nonlinear elastic properties *in vitro* (*iliopsoas* muscle). In addition, this allowed us to validate the acoustoelasticity theoretical framework for skeletal muscles. The successful assessment of these nonlinear properties represents a promising step towards the noninvasive quantification of mechanical forces or stress in living organisms. Furthermore,

our comprehensive approach opens numerous potential applications in both research and clinical use, which can offer insights into better understanding and diagnosing muscle-related pathological processes and mechanobiology.

For all *in vitro* experiments and for all muscle configurations, we obtained the slope of the apparent shear modulus  $\mu_{app}(\sigma) = \rho_0 \cdot v_s^2(\sigma)$  as a function of the wave propagation direction were obtained for each applied stress. As expected by theory, and while operating under small strain levels (linear elastic behavior as investigated by the usual elastography methods), the shear wave speed evolved linearly with stress. Subsequently, by combining different configurations (#3, #5, and #7, corresponding to equations 3, 4, and 5, respectively) with the  $E_{//}$  measurement obtained through mechanical tests, we successfully quantified the nonlinear parameters *in vitro*, validating the theory and enabling the first-ever measurement of these three independent nonlinear elastic parameters:  $A$ ,  $K$ , and  $H$ . The reliability of the approach is also demonstrated by the fact that two muscles (left and right) extracted from the same animal show very similar values. It should be noted that, even in the presence of different elastic parameters between the left and right muscles of the same animal, which are quite likely intra-individual differences, the nonlinear elasticity parameters remain quite similar. Moreover, one can notice that even each parameter changes a lot across muscles they keep the same sign (as an example  $H$  varies from 1.37 kPa to 137.98 kPa but is always positive). One can also notice that each parameter has the same order of magnitude across pigs, minus hundreds of kPa, minus tens of kPa and plus tens of kPa for  $A$ ,  $K$  and  $H$  respectively. While our *in vitro* setting provides valuable insights, it is essential to acknowledge some limitations such as the conservation method after sampling. To improve reproducibility and reduce the margins of error of the results, a thermostatic bath regulated at 37°C could be used. This would not only have enabled the tests to be carried out at 37°C (instead of room temperature between 22°C and 25°C), but also to maintain sample hydration. However, this option was not possible here due to the need to position the ultrasound probe close to the tested sample throughout the tensile test. Even if temperature has a significant effect on viscous properties in small deformations or hyperelastic properties in large deformations (as well as on the active properties of muscle tissue), we can reasonably estimate here that the influence of temperature on passive elastic properties in small deformations and on the results of this study remains limited.

In addition, the process of sampling the longitudinal and transverse specimens for the tensile testing machine was carried manually. Enhancing the cutting technique to achieve a fully homogenous and regular shape could have further enhance the precision of the mechanical testing. Directly acquiring the forces at the traction machine could have further been useful. Although this data might have been redundant, it would have added further validation to our results. Moreover, due to the specified minimum and maximum dimensions required for the tensile machine, any configurations other than the three described here were not considered for *ex vivo* testing. Testing the remaining five elastodynamic configurations (42), which were not explored in our work, would provide further confirmation of the results. However, the *in vitro* experiments were conducted on a limited number of specimen samples to



minimize the number of sacrificed animals and comply with European ethical guidelines (the 3R rules: recycle, reuse, reduce). The validation of this approach could also be considered by other methods, such as numerical simulations or magnetic resonance elastography. Notably, these preliminary results demonstrate the possibility of quantifying nonlinear shear elasticity in anisotropic tissues such as skeletal muscle by coupling mechanical testing and shear wave elastography.

Subsequently, for the very first time, we successfully estimated a combination of the nonlinear elastic parameters *in vivo*, which paves the way for a wide range of biomechanical and clinical applications. Notably, our investigation focused on a fusiform muscle model, the *biceps brachii*, utilizing ultrasound shear wave elastography to assess the shear modulus both parallel and perpendicular to the main direction of the muscle fibers (56). In this specific setting, we were limited to only two elastodynamic configurations (#3 and #9, eq. 3 and 6), during which we evaluated shear modulus and stress during axial stretching. The applied stress on the muscle resulted from a passive extension of the elbow without significant myoelectric activity, which corresponds to the best approach to control the applied stress *in vivo*. The stress was calculated based on the local muscle strain applied during two elbow angles during the passive stretching, which, when combined with Young's modulus measurement, allowed us to retrieve the stress through the Hooke's law (37). This allowed to obtain an estimation of localized – in the plane of the shear modulus measurements – and individual mechanical stress of the targeted muscle, as opposed to the traditional joint torque value provided by dynamometers. Importantly, knowing the nonlinear properties of muscle allows to understand the inherent stress in each muscle independently.

Several limitations and potential areas for improvement warrant discussion, with one critical aspect being the need for estimating  $E_{//}$ . This value can be readily quantified through the previously described *in vitro* tests. One viable *in vivo* approach to quantify  $E_{//}$  involves the utilization of a dedicated ultrasound sequence under conditions of zero stress (49). This approach is useful since it allows also to investigate Young's modulus in pennated muscle but remains complicated to interpret during contraction. Moreover, there are some limitations in the assumed characteristics of muscle tissue mechanics that have to be noted, with the assumption of uniaxial fiber alignment resulting in transverse isotropy, even though this is commonly assumed for this type of muscle, as well as tissue quasi-incompressibility. Added to this is the difficulty of accessing the stress exerted on muscle tissue, unlike *ex vivo* testing, and of overcoming this by reconstructing nonlinear properties from force measurements. The same shear wave elastography sequences were employed in both human and *ex vivo* tests, making it unlikely that they contributed significantly to the observed differences between the two types of tests. These disparities are more likely attributed to variations in the methods used to estimate the mechanical stress. In the *ex vivo* measurements, stress was directly measured from mechanical testing, while in the *in vivo* tests, it was indirectly estimated as the product of  $E_{//}$  (Young's modulus, derived from the steered pushing beams method) and  $\varepsilon_{//}$  (strain). In the latter case, strain was computed using a cross-correlation algorithm applied across multiple elbow angles B-mode images reflecting muscle stretching. These differences in

stress estimation methods could potentially result in alterations to the slopes of the experimental stress-shear modulus curves, consequently affecting the calculated  $X$  and  $Y$  values. Moreover, viscoelastic stress relaxation could have affected shear modulus used in the stress-shear modulus relationships, from where the slopes were quantified. However, all ultrasound measurements were performed at small deformation levels which may have only a minimal effect on the shear modulus (57). At last the large standard deviation of the nonlinear parameters  $A$ ,  $H$  and  $K$  can come from the cumulative errors made on each parameter estimated (i.e. shear wave speed, Young's modulus estimated by ultrasound, stress and strain calculation). This would be improved in future development.

Despite these assumptions, the values and variations obtained *in vivo* are in good agreement with the behavior expected by our theory and already observed *ex vivo*, confirming the reliability of the values obtained despite the absence of other existing *in vivo* methods that could serve as a comparison or validation reference.

## Conclusion

Taken together, our work provides a promising proof of concept for accurate and robust noninvasive nonlinear characterization of skeletal muscles *in vivo*, while introducing a novel innovative approach for quantifying localized mechanical forces in living tissues. This groundbreaking methodology holds the potential to revolutionize diagnostic and monitoring applications not only in pathological or post-traumatic skeletal muscles but also in other biological soft organs characterized by fiber reinforcement along a clearly identified main direction. By unlocking new avenues for noninvasive mechanical stress assessment, our research may pave the way for advancements in biomechanics and facilitate a deeper understanding of tissue mechanics and mechanobiology in living organisms.

## Acknowledgments

This work was funded by the ANR INNOVAN (ANR-19-CE19-0017), by PEPS CNRS fundings (MUSCLOR 2022) and by the France Life Imaging (ANR-11-INBS-0006 grant from the French "Investissements d'Avenir" program). These developments were supported by IdEx Unistra (ANR-10-IDEX-0002) with the IRIS technology platform and by SFRI (STRAT'US project, ANR-20-SFRI-0012) under the framework of the French Investments for the Future Program. The authors also thank the team of the preclinical department of the IHU Strasbourg for their logistic support.

## References

1 L. Martinez-Vidal, V. Murdica, C. Venegoni, F. Pederzoli, M. Bandini, A. Necchi, A. Salonia, M. Alfano. Causal contributors to tissue stiffness and clinical relevance in urology. *Communications Biology*

4, 1011, (2021).

2. J. Lopez, J. Mouw, V. Weaver. Biomechanical regulation of cell orientation and fate. *Oncogene*, 27, 6981–6993, (2008).

3. C. Guimarães, L. Gasperini, A. Marques, R. Reis, The stiffness of living tissues and its 742 implications for tissue engineering. *Nature Reviews Materials*, 5, 351–370 (2020).

4. N. Zuela-Sopilniak, J. Lammerding, Can't handle the stress? Mechanobiology and disease, *Trends Mol. Med.*, 28(9), 710-725, (2022).

5. L. Lacourpaille, F. Hug, A. Guével, Y. Péréon, A. Magot, J.-Y. Hogrel, A. Nordez. Non-invasive assessment of muscle stiffness in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve*, 51(2), 284, (2015).

6. C. Szigarto, P. Spitali, Biomarkers of Duchenne muscular dystrophy: current findings. *Degener. Neurol. Neuromuscul. Dis.*, 8, 1–13 (2018).

7. L. Bilston, B. Bolsterlee, A. Nordez, S. Sinha, Contemporary image-based methods for measuring passive mechanical properties of skeletal muscles in vivo, 126, 1454-1464, (2019).

8. F. Hug, K. Tucker, J.-L. Gennisson, M. Tanter, A. Nordez, Elastography for Muscle Biomechanics: Toward the Estimation of Individual Muscle Force. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 43(3), 125-133, (2015).

9. E. Tapper, N. Parikh, Diagnosis and Management of Cirrhosis and Its Complications: A Review, *JAMA*, 329(18), 1589-1602, (2023).

10. R. Mann, R. Hooley, R. Barr, L. Moy. Novel Approaches to Screening for Breast Cancer, *Radiology*, 297(2), 266-285, (2020).

11. J. Ophir, I. Céspedes, H. Ponnekanti, Y. Yazdi, X. Li, Elastography: A quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues. *Ultrason. Imaging* 13, 111–134 (1991).

12. B. S. Garra, E. Céspedes, J. Ophir, S. Spratt, R. Zurbier, C. Magnant, M. Pennanen, Elastography of breast lesions: initial clinical results. *Radiology* 202, 79–86 (1997).

13. A. P. Sarvazyan, et al., “Biophysical Bases of Elasticity Imaging BT - Acoustical Imaging” in J. P. Jones, Ed. (Springer US, 1995), pp. 223–240.

14. K. Nightingale, M. Soo, R. Nightingale, G. Trahey. Acoustic Radiation Force Impulse Imaging: in Vivo Demonstration of Clinical Feasibility. 28, 227–235 (2002).

15. J.-L. Gennisson, S. Catheline, S. Chaffai, M. Fink. Transient elastography in anisotropic medium: Application to the measurement of slow and fast shear wave speeds in muscles. *J. Acoust. Soc. Am.* 114, 536–541 (2003).

16. L. Sandrin, B. Fourquet, J.-M. Hasquenoph, S. Yon, C. Fournier, F. Mal, C. Christidis, M. Ziol, B. Poulet, F. Kazemi, M. Beaugrand, R. Palau. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med. Biol.* 29, 1705–1713 (2003).

17. M. L. Palmeri, M. H. Wang, J. J. Dahl, K. D. Frinkley, K. R. Nightingale. Quantifying hepatic shear modulus in vivo using acoustic radiation force. *Ultrasound Med. Biol.* 34, 546–558 (2008).

18. J.-L. Gennisson, T. Deffieux, M. Fink, M. Tanter, Ultrasound elastography: Principles and techniques. *Diagn. Interv. Imaging* 94, 487–495 (2013).

19. M. W. Urban, et al., Implementation of vibro-acoustography on a clinical ultrasound system. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 58, 1169–1181 (2011).
20. S. McAleavey, M. Menon, E. Elegebe, Shear Modulus Imaging with Spatially-Modulated Ultrasound Radiation Force. *Ultrason. Imaging* 31, 217–234 (2009).
21. W. A. Berg, et al., Shear-wave Elastography Improves the Specificity of Breast US: The BE1 Multinational Study of 939 Masses. *Radiology* 262, 435–449 (2012).
22. T. Deffieux, J.-L. Gennisson, L. Bousquet, M. Corouge, S. Coscone, D. Amroun, S. Tripon, B. Terris, V. Mallet, P. Sogni, M. Tanter, S. Pol, Investigating liver stiffness and viscosity for fibrosis, steatosis and activity staging using shear wave elastography. *J. Hepatol.* 62, 317–324 (2015).
23. F. Chamming's, C. Hangard, J.-L. Gennisson, C. Reinhold, L. S. Fournier, Diagnostic Accuracy of Four Levels of Manual Compression Applied in Supersonic Shear Wave Elastography of the Breast. *Acad. Radiol.* 28, 481–486 (2021).
24. E. Van Houten, K. Paulsen, M. Miga, F. Kennedy, J. Weaver, An overlapping subzone technique for MR-based elastic property reconstruction. *Magn. Reson. Med.* 42(4), 779-786 (1999).
25. E. Qin, R. Sinkus, G. Geng, S. Cheng, M. Green, C. Rae, L. Bilston, Combining MR elastography and diffusion tensor imaging for the assessment of anisotropic mechanical properties: a phantom study. *J. Magn. Reson. Imaging*, 37(1), 217-226 (2013).
26. B. Babaei, D. Fovargue, R. Lloyd, R. Miller, L. Jugé, M. Kaplan, Magnetic resonance elastography reconstruction for anisotropic tissues. *Med. Image. Anal.* 74, 102212 (2021).
27. R. Miller, A. Kolipaka, M. Nash, A. Young, Estimation of transversely isotropic material properties from magnetic resonance elastography using the optimised virtual fields method. *International journal for numerical methods in biomedical engineering*, 34(6), e2979 (2018).
28. S. Chatelin, I. Charpentier, N. Corbin, L. Meylheuc, J. Vappou, An automatic differentiation-based gradient method for inversion of the shear wave equation in magnetic resonance elastography: specific application in fibrous soft tissues. *Physics in Medicine & Biology*, 61(13), 5000 (2016).
29. D. Tweten, R. Okamoto, J. Schmidt, J. Garbow, P. Bayly, Estimation of material parameters from slow and fast shear waves in an incompressible, transversely isotropic material. *Journal of biomechanics*, 48(15), 4002-4009 (2015).
30. R. Sinkus, M. Tanter, S. Catheline, J. Lorenzen, C. Kuhl, E. Sondermann, M. Fink, Imaging anisotropic and viscous properties of breast tissue by magnetic resonance-elastography. *Magnetic Resonance in Medicine: An Official Journal of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, 53(2), 372-387 (2005).
31. M. Green, G. Geng, E. Qin, R. Sinkus, S. Gandevia, L. Bilston, Measuring anisotropic muscle stiffness properties using elastography. *NMR in Biomedicine*, 26(11), 1387-1394 (2013).
32. A. Romano, M. Scheel, S. Hirsch, J. Braun, I. Sack, In vivo waveguide elastography of white matter tracts in the human brain. *Magnetic resonance in medicine*, 68(5), 1410-1422 (2012).
33. D. Smith, C. Guertler, R. Okamoto, A. Romano, P. Bayly, C. Johnson, Multi-excitation magnetic resonance elastography of the brain: wave propagation in anisotropic white matter. *Journal of biomechanical engineering*, 142(7), 071005 (2020).

34. M. McGarry, E. Van Houten, D. Sowinski, D. Jyoti, D. Smith, D. Caban-Rivera, K. Paulsen, Mapping heterogenous anisotropic tissue mechanical properties with transverse isotropic nonlinear inversion MR elastography. *Medical Image Analysis*, 78, 102432 (2022).
35. J.-L. Gennisson, M. Rénier, S. Catheline, C. Barrière, J. Bercoff, M. Tanter, M. Fink, Acoustoelasticity in soft solids: Assessment of the nonlinear shear modulus with the acoustic radiation force. *J. Acoust. Soc. Am.* 122, 3211–3219 (2007).
36. J. Bercoff, M. Tanter, M. Fink, Supersonic shear imaging: a new technique for soft tissue elasticity mapping. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 51, 396–409 (2004).
37. H. Latorre-Ossa, J.-L. Gennisson, E. De Brosses, M. Tanter, Quantitative imaging of nonlinear shear modulus by combining static elastography and shear wave elastography. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 59, 833–839 (2012).
38. G. Pagé, M. Bied, P. Garteiser, B. Van Beers, N. Etaix, C. Fraschini, A. Bel-Brunon, J.-L. Gennisson, Comparison of ultrasound elastography, magnetic resonance elastography and finite element model to quantify nonlinear shear modulus. *Phys. Med. Biol.* (2023).
39. M.W. Urban, M. Lopera, S. Aristizabal, C. Amador, I. Nenadic, R.R. Kinnick, A.D. Weston, B. Qiang, X. Zhang, J.F. Greenleaf, Characterization of transverse isotropy in compressed tissue-mimicking phantoms. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 62(6), 1036-1046. (2015).
40. M. Bernal, F. Chamming's, M. Couade, J. Bercoff, M. Tanter, J.-L. Gennisson, In Vivo Quantification of the Nonlinear Shear Modulus in Breast Lesions: Feasibility Study. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 63, 101–109 (2016).
41. J. E. Zimmer, J. R. Cost, Determination of the Elastic Constants of a Unidirectional Fiber Composite Using Ultrasonic Velocity Measurements. *J. Acoust. Soc. Am.* 47, 795–803 (1970).
42. M. Bied, J.-L. Gennisson, Acoustoelasticity in transversely isotropic soft tissues: Quantification of muscle nonlinear elasticity. *J. Acoust. Soc. Am.* 150, 4489–4500 (2021).
43. J.-P. Remeniéras, M. Bulot, J.-L. Gennisson, F. Patat, M. Destrade, G. Bacle, Acoustoelasticity of transversely isotropic incompressible soft tissues: characterization of skeletal striated muscle. *Phys. Med. Biol.* 66, 145009 (2021).
44. G. C. Johnson, Acoustoelastic response of polycrystalline aggregates exhibiting transverse isotropy. *J. Nondestruct. Eval.* 3, 1–8 (1982).
45. A. J. M. Spencer, Constitutive theory for strongly anisotropic solids. *Contin. theory Mech. fibre-reinforced Compos.*, 1–32 (1984).
46. L. D. Landau, E. M. Lifšic, E. M. Lifshitz, A. M. Kosevich, L. P. Pitaevskii, *Theory of elasticity: volume 7* (Elsevier, 1986).
47. D. Royer, E. Dieulesaint, *Elastic waves in solids I: Free and guided propagation* (Springer Science & Business Media, 1999).
48. N. C. Rouze, M. L. Palmeri, K. R. Nightingale, Tractable calculation of the Green's tensor for shear wave propagation in an incompressible, transversely isotropic material. *Phys. Med. Biol.* 65 (2020).
49. H.-H.-P. Ngo, R. Andrade, J. Brum, N. Benech, S. Chatelin, A. Loumeaud, T. Frappart, C.

Fraschini, A. Nordez, J.-L. Gennisson, In plane quantification of in vivo muscle elastic anisotropy factor by steered ultrasound pushing beams. *Phys. Med. Biol.* In Press (2023).

50. D. Royer, J.-L. Gennisson, T. Deffieux, M. Tanter, On the elasticity of transverse isotropic soft tissues (L). *J. Acoust. Soc. Am.* 129, 2757–2760 (2011).

51. T. Loupas, J. Powers, R. Gill, An axial velocity estimator for ultrasound blood flow imaging, based on a full evaluation of the doppler equation by means of a two-dimensional autocorrelation approach, *IEEE Trans. Ultrason., Ferroelect., Freq. Control*, 42(4), 672–688 (1995).

52. A. Nordez, J. L. Gennisson, P. Casari, S. Catheline, C. Cornu, Characterization of muscle belly elastic properties during passive stretching using transient elastography. *J. Biomech.* 41, 2305–2311 (2008).

53. L. Lacourpaille, F. Hug, A. Nordez, Influence of Passive Muscle Tension on Electromechanical Delay in Humans. *PLoS One* 8, e53159 (2013).

54. R. L. Lieber, B. I. Binder-Markey, Biochemical and structural basis of the passive mechanical properties of whole skeletal muscle. *J. Physiol.* 599, 3809–3823 (2021).

55. G. Le Sant, A. Nordez, R. Andrade, F. Hug, S. Freitas, R. Gross, Stiffness mapping of lower leg muscles during passive dorsiflexion. *J. Anat.* 230, 639–650 (2017).

56. J.-L. Gennisson, T. Deffieux, E. Macé, G. Montaldo, M. Fink, M. Tanter. Viscoelastic and anisotropic mechanical properties of in vivo muscle tissue assessed by supersonic shear imaging. *Ultr. Med. Bio.* 36, 789-801, (2010).

57. S. Freitas, R. Andrade, L. Larcoupaille, P. Mil-homens, A. Nordez, Muscle and joint responses during and after static stretching performed at different intensities, *Eur. J. Appl. Physiol.*, 115(6), 1263-1272 (2015).

## C. DISCUSSIONS COMPLÉMENTAIRES DE L'ARTICLE

---

### I. Protocole expérimental *ex vivo*

Les coefficients non linéaires calculés *ex vivo* présentent généralement un ordre de grandeur similaire. Cependant, une certaine variabilité dans leurs mesures a été observée, ce qui est probablement attribuable à des limites dans le protocole.

La première limite concerne le découpage des échantillons. Pour réaliser la traction des échantillons sous une forme de tube triangulaire avec une section constante, nous avons découpé manuellement des muscles *iliopsoas* entiers prélevés des cochons à l'aide d'outils chirurgicaux. Cependant, cette méthode manuelle ne garantit pas la section constante des échantillons. En outre, la dimension des muscles varie parmi les trois spécimens selon leurs tailles et poids (43 kg, 23kg et 42 kg). Pour les petits muscles, il est difficile de découper des échantillons de forme et de dimension adéquates et uniformes pour la traction. Enfin, comme le muscle est loin d'être homogène, afin de mesurer de manière fiable ses propriétés mécaniques dans les deux directions par rapport aux fibres, il est essentiel d'extraire des échantillons les plus proches possibles les uns des autres pour chaque muscle. Cela rend le découpage complexe et chronophage.

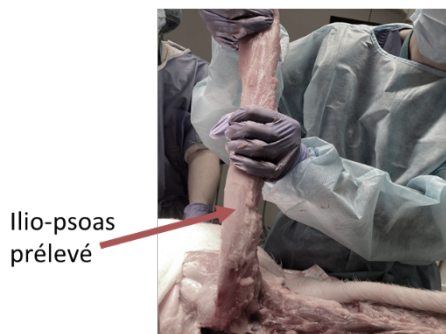


Figure 1 Prélèvement d'un *ilio-psoas* à partir d'un cochon

La deuxième limite concerne l'état des échantillons perpendiculaires aux fibres. Les fibres ne sont pas solidement attachées les unes aux autres, sans liens aux tendons ou aux aponévroses. Comme ces structures sont retirées lors de la découpe, les échantillons perpendiculaires sont très fragiles, et la cohésion entre les fibres n'est pas

uniforme sur toute la longueur de l'échantillon. En conséquence, en raison de la petite taille des échantillons, la contrainte appliquée lors des tractions n'est pas uniformément répartie sur l'échantillon. Nous avons donc remarqué que dans les configurations où les échantillons sont coupés perpendiculairement aux fibres, la carte de rigidité présente des erreurs plus significatives.

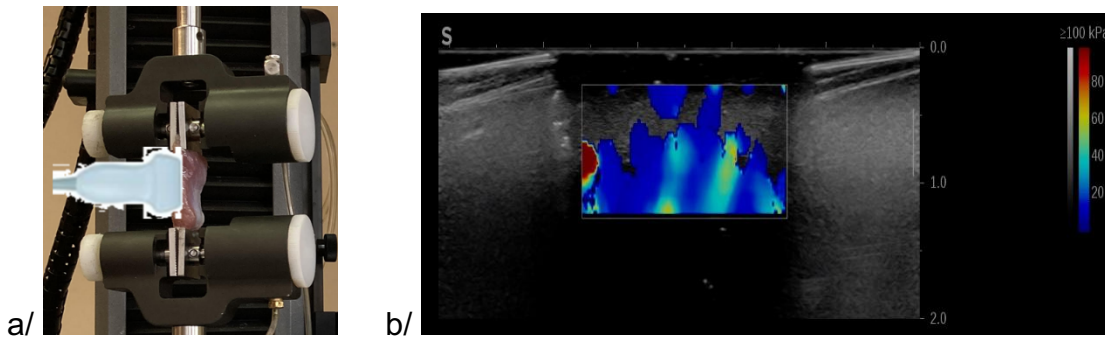


Figure 2 a/ Le système de serrage avec les mors rectangulaires b/ La carte de rigidité SSI d'un échantillon mesurée lors d'un test de traction (configuration 7)

La troisième limite concerne le système de fixation des échantillons de muscle lors des essais de traction. Lorsqu'un échantillon est étiré, le serrage aux extrémités par les mors métalliques de forme rectangulaire induit une tension sur le muscle. Cette tension se répartit de manière irrégulière le long des fibres pendant la traction, ce qui peut avoir un impact significatif sur la mesure des propriétés mécaniques. Pour résoudre ce problème, différentes solutions sont envisagées, telles que la préservation des structures non musculaires (tendons, os, etc.) aux extrémités des échantillons pour le serrage, l'application de résine sur les extrémités des échantillons pour le serrage, et la modification de la forme des mors. Cependant, l'impact de ce serrage sur nos expériences doit encore faire l'objet d'une étude plus détaillée pour évaluer son influence sur de petites déformations.

La quatrième limite concerne la "longueur de jeu" (slack length), qui correspond à la longueur à partir de laquelle le tissu développe une résistance à son propre étirement. C'est le point de référence pour nos mesures de rigidité en fonction de la déformation. Cependant, nos conditions expérimentales ne nous permettent pas de calibrer individuellement ce point pour chaque échantillon avant les mesures. Une solution à ce problème consiste à exclure les premiers points de mesure afin de garantir une relation linéaire entre le module de cisaillement et la déformation. Néanmoins, cette



méthode réduit le nombre de points disponibles pour la régression linéaire, compromettant ainsi la fiabilité des calculs des coefficients non linéaires.

## II. Protocole expérimental *in vivo*

Le protocole de la quantification des coefficients non linéaires *in vivo* est en cours de développement. À ce stade, nous avons identifié certaines difficultés sur lesquelles nous travaillons activement.

La première difficulté réside dans l'absence d'une configuration expérimentale permettant de mesurer les trois coefficients non linéaires correspondant à ceux obtenus par le protocole *ex vivo*. Cela est dû à l'impossibilité d'appliquer une traction à travers les fibres (comme dans la configuration 7) et de positionner la sonde d'échographie dans l'axe des fibres (comme dans la configuration 5). Actuellement, nous travaillons à développer des approches alternatives pour surmonter cette limitation.

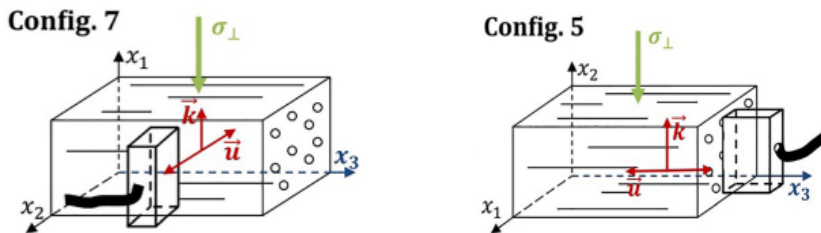


Figure 3 Configuration 7 et 5 entre une sonde d'échographie linéaire et un milieu transverse isotrope (Bied and Gennisson, 2021b)

Nous sommes en train de concevoir un nouveau montage pour réaliser une compression à travers des fibres (comme dans la configuration 1). L'équation élasto-dynamique correspondante à cette configuration, avec celles correspondantes aux configurations 3 et 9, nous permettra de calculer les trois coefficients non linéaires et les comparer avec les valeurs *ex vivo*.

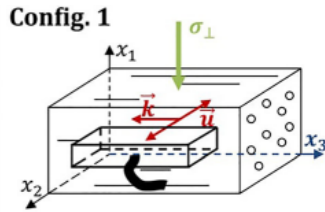


Figure 4 Configuration 1 entre une sonde d'échographie linéaire et un milieu transverse isotrope (Bied and Gennisson, 2021b)

La deuxième difficulté réside dans le calcul de la déformation à partir des calculs de corrélation croisée d'images B-mode entre deux mesures. Lorsque la contrainte est appliquée par une traction, comme dans le cas du biceps brachial, nous rencontrons des problèmes liés à l'absence d'un système de fixation de la sonde, ce qui entraîne une instabilité lors de l'acquisition des images. Par conséquent, la qualité des images B-mode ne permet pas une visualisation suffisante des fibres musculaires, ce qui rend difficile le calcul précis de leur allongement par notre algorithme de corrélation croisée. Nous travaillons sur des solutions pour améliorer la stabilité de la sonde et obtenir des images B-mode de meilleure qualité.

## BIBLIOGRAPHIE (PREAMBULE & DISCUSSIONS COMPLEMENTAIRES)

---

Brillouin, L. (1925). Les tensions de radiation ; leur interprétation en mécanique classique et en relativité. *J. Phys. Radium* 6, 337–353. doi: 10.1051/jphysrad:01925006011033700.

Hayes, M., and Rivlin, R. S. (1961). Surface waves in deformed elastic materials. *Arch. Rational Mech. Anal.* 8, 358–380. doi: 10.1007/BF00277451.

Hughes, D. S., and Kelly, J. L. (1953). Second-Order Elastic Deformation of Solids. *Phys. Rev.* 92, 1145–1149. doi: 10.1103/PhysRev.92.1145.

Landau et al. (1985). *Theory of Elasticity*. 3rd ed. Butterworth-Heinemann, Oxford.

Bied, M., and Gennisson, J.-L. (2021). Acoustoelasticity in transversely isotropic soft tissues: Quantification of muscle nonlinear elasticity. *The Journal of the Acoustical Society of America* 150, 4489–4500. doi: 10.1121/10.0008976.

## *Chapitre 6*

# ***Conclusions générales et perspectives***

Dans cette thèse, nous avons développé et appliqué une nouvelle méthode de quantification d'anisotropie élastique musculaire. Cette méthode a mené à plusieurs études *in vivo* actuellement en cours, en particulier à l'université de Nantes. Ces études visent à mieux comprendre les comportements mécaniques des muscles liés à l'anisotropie. Ces connaissances nous permettront de caractériser en trois dimensions les muscles.

L'élastographie par pushes en biais (SPB) est un outil prometteur pour la quantification de l'anisotropie musculaire. Des expériences *in vitro*, *ex vivo* et *in vivo* ont démontré qu'il est fiable et exploitable. Nous avons mené des études avec SPB sur différents muscles présentant différentes architectures, dans trois états d'activation musculaire : contraction, relaxation et étirement. Le facteur d'anisotropie intermédiaire ( $AF' = \mu_{//} / \chi_E \cdot \mu_{\perp}$ ) obtenu par cette méthode était différent dans ces trois conditions. En général, le facteur d'anisotropie d'un muscle au repos est plus faible que lors de l'étirement ou de la contraction, et il augmente avec l'intensité de la force appliquée. Cela est cohérent avec les résultats des études précédentes qui mesurent le facteur d'anisotropie classique ( $AF = \mu_{//} / \mu_{\perp}$ ) avec la méthode SSI (Gennisson *et al.*, 2010). En conclusion,  $AF'$  se positionne comme un biomarqueur potentiel pour la quantification de l'anisotropie musculaire. La mesure par SPB de  $AF'$  est rapide et simple, ne nécessitant qu'une seule acquisition sans rotation de la sonde, contrairement à la méthode SSI classique. L'alignement de la sonde avec l'axe des fibres peut être facilement contrôlé grâce à la visualisation des fibres par l'image B-mode, améliorant ainsi la fiabilité de la mesure.

Étant toujours en phase de développement, SPB nécessite encore des améliorations. Au cours des premières études *in vivo*, nous avons identifié plusieurs points à améliorer. Ces améliorations peuvent être divisées en deux volets : la partie technique et le traitement des données. La partie technique concerne l'optimisation de la séquence SPB et son implémentation sur une sonde échographique mieux adaptée. Quant au traitement des données, nous visons à prendre en compte les défauts techniques pour garantir des résultats fiables. L'analyse des bruits dans le milieu, utilisée pour rechercher des méthodes de filtrage de signal adaptées, améliorera également la qualité des mesures.

Des études sur les blessures musculaires ont été initiées en utilisant SPB. Nous avons effectué des mesures sur deux muscles de la jambe (le muscle droit fémoral et le muscle vaste médial) au repos chez un sujet sain, ainsi qu'après une blessure. Malgré certaines difficultés liées à l'inhomogénéité du milieu et les limites actuelles de la méthode, nous avons observé des changements non seulement dans la rigidité, mais également dans le facteur d'anisotropie (AF'). En raison des retards du projet, ces études sur les blessures musculaires sont encore à un stade préliminaire. Elles portent sur divers muscles et impliquent un grand nombre de sujets, dans le but d'identifier le biomarqueur pertinent pour les blessures musculaires. En intégrant les suggestions d'amélioration discutées précédemment, il est indéniable que ces études avanceront rapidement.

Les études sur les myopathies ont aussi débuté. Étant donné que la séquence SPB fonctionne de manière satisfaisante sur des muscles de taille adéquate au repos, nous pouvons espérer une bonne progression des études des myopathies et de l'identification d'indicateurs de la maladie. Cependant, un obstacle prévisible dans ces études est la désorganisation des fibres à cause de la dégénérescence musculaire. Cela peut poser des problèmes majeurs lors du traitement des données qui repose sur l'orientation des fibres.

L'anisotropie joue aussi un rôle important dans la quantification de la non linéarité musculaire. La mesure des coefficients non linéaires contribuera à approfondir notre compréhension du comportement élastique non linéaire des muscles et pourrait fournir de nouveaux biomarqueurs cliniques pour les problèmes musculo-squelettiques. De plus, en établissant une relation linéaire entre le module de cisaillement et la contrainte, nous pourrions estimer la contrainte locale des muscles. Cette approche ouvrirait la voie au développement de modèles musculo-squelettiques. Ces modèles, associées à l'élastographie et aux équations d'élasto-dynamiques, permettraient de déterminer la force individuelle de chaque muscle.

Les coefficients non linéaires et les facteurs d'anisotropie sont donc des informations précieuses pour caractériser les muscles. Grâce à ses informations, de plus en plus d'outils d'imagerie seront développés pour évaluer les comportements musculaires dans le cadre des pathologies tel que les myopathies

ou les blessures, et plus largement du vieillissement ou du suivi de performance sportive. Ce travail contribuera à la connaissance générale de la biomécanique musculaire pour de nombreuses applications et dans de nombreux domaines tel que la santé, le sport, la sécurité du travail, et bien d'autres.

## **BIBLIOGRAPHIE**

---

Gennisson, J.-L., Deffieux, T., Macé, E., Montaldo, G., Fink, M., and Tanter, M. (2010). Viscoelastic and Anisotropic Mechanical Properties of in vivo Muscle Tissue Assessed by Supersonic Shear Imaging. *Ultrasound in Medicine & Biology* 36, 789–801. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.02.013.

## ANNEXE 1 : VITESSE DE PHASE ET VITESSE DE GROUPE DES ONDES

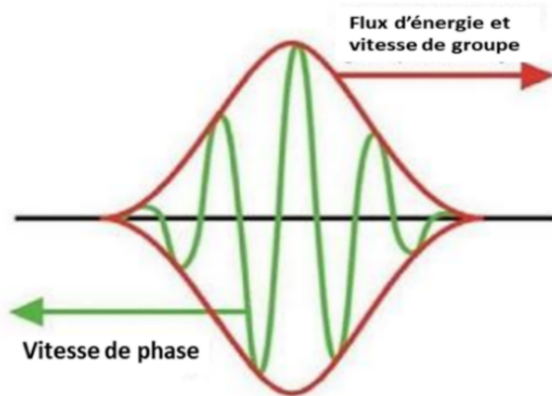


Figure 1 Vitesse de groupe et vitesse de phase

(Relation between Phase Velocity and Group Velocity for De Broglie Waves, n.d.)

En élastographie avec la méthode SSI, les pushes qui sont créés par des forces de radiation acoustique gèrent une onde de cisaillement à large bande. Cette onde est constituée de plusieurs ondes sinusoïdales qui se propagent ensemble. La superposition résultante des ondes entraîne une onde "enveloppe" ainsi qu'une onde "porteuse" qui se trouve à l'intérieur de l'enveloppe.

La vitesse de groupe le paquet de signal qui peut s'écrire comme suit :

$$u(x, t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} A(k) e^{i(\omega t - kx)} dk$$

Où  $k$  est le nombre d'onde et  $A(k)$  est la densité d'amplitude du paquet d'onde

Dans un milieu non dispersif, l'onde se propage sans déformation avec une vitesse indépendante de la fréquence. Le déphasage dû à un parcours  $x_0$  est proportionnel à la fréquence. Le temps de parcours du groupe d'onde est aussi indépendant de la fréquence. En revanche, dans un milieu dispersif, la fréquence porteuse  $f_0$  devient grande devant la fréquence du signal. La densité d'amplitude du paquet d'onde devient donc petite sauf dans les voisinages du nombre d'onde  $k_0 = \omega_0/c(\omega_0)$  avec  $\omega_0$  est la



pulsation de l'onde porteuse de signal. En prenant en compte la relation de dispersion autour de  $k_0$ , le paquet d'onde devient :

$$u(x, t) = \frac{1}{2\pi} e^{i[\omega(k_0) - k_0 c_g]t} \int_{-\infty}^{+\infty} A(k) e^{-ik(x - c_g t)} dk$$

Où  $c_g = \frac{d\omega}{dk}$

Posant  $u(x, 0) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} A(k) e^{-ikx} dk = f(x)$  et  $\Omega_0 = \omega(k_0) - k_0 c_g$ , nous arrivons donc à

$$u(x, t) = e^{i\Omega_0 t} f(x - c_g t)$$

Selon cette expression, pendant un temps  $t$ , le groupe d'onde se déplace d'une distance  $x = c_g t$ . Dans un milieu dispersif, le paquet d'onde centré autour du nombre d'onde  $k_0$  se propage donc à la vitesse :  $c_g = \frac{d\omega}{dk_0}$ . Cette vitesse est aussi appelée vitesse de groupe (Royer, Daniel; Dieulesaint Eugène, 1996).

## ANNEXE 2 : DIRECTION DE PROPAGATION ET CALCUL DU GRADIENT DU TEMPS DE VOL

L'équation (7) de chapitre 4 a été écrite pour la vitesse de phase des ondes de cisaillement en mode vertical (SV) :

$$\rho v_{SV}^2 = \mu_{//} + (\chi_E \cdot \mu_{\perp} - \mu_{//}) \sin^2(2\alpha) \quad (1)$$

Dans cette équation,  $\alpha$  est l'angle entre la propagation de l'onde de cisaillement et l'axe des fibres (l'axe de symétrie du milieu). Cependant, pour un point source, la vitesse de groupe et la vitesse de phase se distinguent non seulement en amplitude mais aussi en direction (Wang et al., 2013).

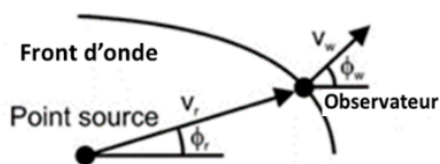


Figure 2 Un front d'onde non-plan avec la vitesse de phase  $v_r(\phi_r)$  et vitesse de groupe  $v_w(\phi_w)$  (Wang et al., 2013)

Dans notre cas, l'onde de cisaillement est créée par l'interférence de plusieurs points focalisés de la force acoustique. Le front d'onde créé peut être considéré comme plan. L'onde de cisaillement générée est donc une onde quasi-plane.

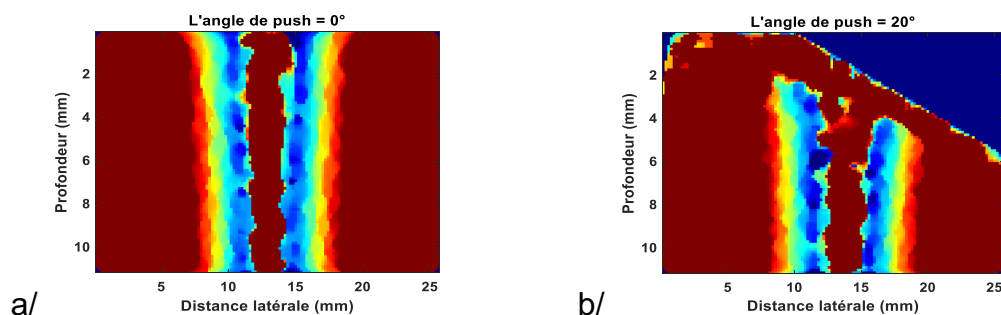


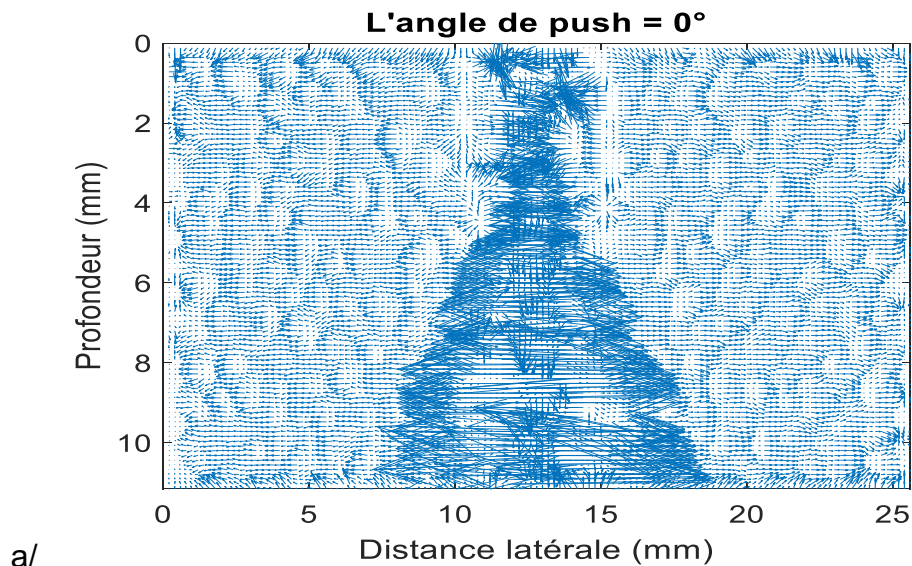
Figure 3 Le front des pushes à a/  $0^\circ$  et b/  $20^\circ$  où le plan d'imagerie a été retourné de  $-20^\circ$  pour que le push soit vertical pour les calculs de temps de vol (la profondeur et la distance latérale se rapportent au repère incliné)

La vitesse de groupe est calculée par l'équation (9) dans chapitre 4 :

$$V_g^2(\varphi(\alpha)) = v^2(\alpha) + \mu_{//} \frac{d^2 + \sin^2(4\alpha)}{1 + d \cdot \sin^2(2\alpha)} \quad (2)$$

Dans le cas d'une onde plane, la vitesse de propagation et la vitesse de groupe ont la même direction de référence. L'équation (1) utilise l'angle  $\alpha$ , qui représente l'angle entre la propagation et l'axe de symétrie du milieu. Il est donc nécessaire de démontrer que notre vitesse de groupe est calculée à l'aide des temps de vol dans la même direction que  $\alpha$ , soit  $\varphi(\alpha) = \alpha$ .

Pour ce faire, nous avons calculé les gradients en utilisant le temps de vol des déplacements axiaux des particules, ce qui nous permet également d'estimer la vitesse de groupe. Afin d'éviter tout artefact indésirable, les acquisitions ont été réalisées sur un fantôme. Les résultats ont révélé que, dans la zone d'intérêt de nos analyses, les gradients de temps sont principalement alignés avec la direction de cisaillement générée par le push, qu'elle soit inclinée ou non. C'est la direction selon laquelle nous devons calculer la vitesse de phase ou  $\alpha$ .



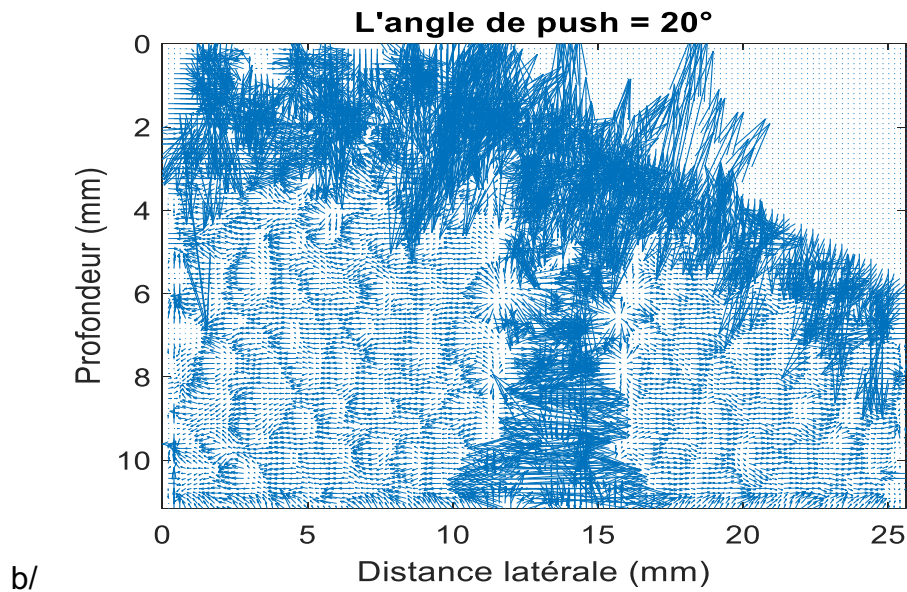


Figure 4 Gradient des temps de vol de : a/ Push à 0° b/ Push à 20° dans un fantôme transverse isotrope

En résumé, nos calculs de gradients basés sur le temps de vol des déplacements axiaux des particules confirment que la vitesse de groupe peut être estimée en utilisant la même direction que celle définie par l'angle  $\alpha$ . En considérant  $\varphi(\alpha) = \alpha$ , l'équation (2) devient donc :

$$\rho V_g^2(\alpha) = v^2(\alpha) + \mu // \frac{d^2 + \sin^2(4\alpha)}{1 + d \cdot \sin^2(2\alpha)}$$

C'est par cette équation que nous avons ajusté les vitesses de groupe mesurées par la séquence SBP dans notre méthode de push en biais.

### ANNEXE 3 : POSITIONNEMENT DES PUSHS

Étant donné la forte dispersion de l'onde de cisailment dans la direction latérale, nous avons limité l'acquisition des images de propagation sur une distance de 25,6 mm, ce qui correspond à la mi-longueur de la sonde ultrasonore linéaire utilisée (SL 18-5, 7,5 MHz, 256 éléments, 51,2 mm de longueur). La fenêtre d'imagerie comprend 128 éléments (en émission) situés au centre de la sonde, entre les éléments à 12,8 et à 38.4 mm sur la sonde.

Les pushes sont centrés entre 12mm et 15,1 mm sur de la sonde, soit autour de la position de début (à gauche) du plan d'imagerie.

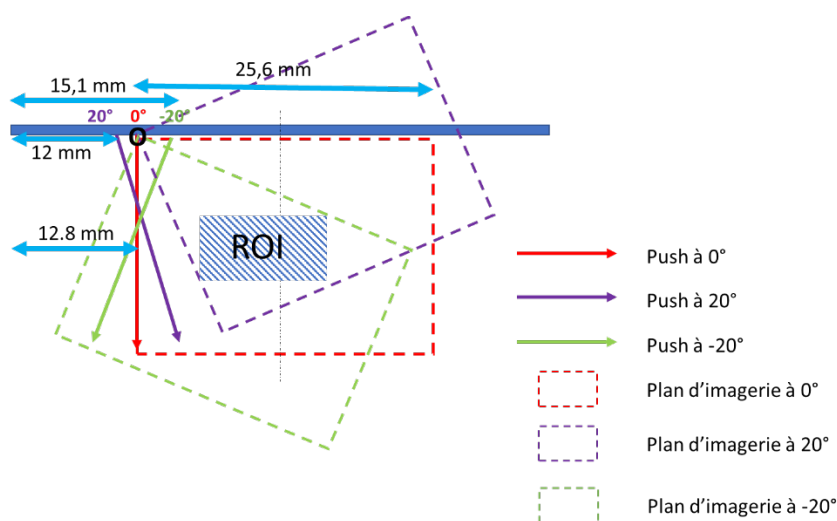


Figure 5 Emplacement des pushes et des plans d'imagerie de la séquence SPB

Les différents pushes doivent être réalisés à la même distance de la région d'intérêt (ROI). Il est important que cette distance ne soit pas trop petite afin d'éviter la zone de champ proche du push, tout en étant suffisamment proche pour garantir un signal adéquat. Il faut aussi noter que les plans d'imagerie, étant toujours tournés pour s'aligner

avec les pushes, ont un point de rotation fixé (O) pour tous les pushes. Ceci nous empêche de réaliser les pushes négatifs (comme celle de  $-20^\circ$  dans le schéma) car une grande partie de la propagation de cisaillement serait hors du plan de reconstruction. Des changements de point de rotation des plans d'imagerie vont permettre d'améliorer l'acquisition.

Lors d'un push à un angle positif, par exemple  $20^\circ$ , la loi de délais est appliquée sur les éléments situés entre 0 et 24 mm, soit une demi-ouverture  $a = 12$  mm. Il faut noter que le push est apodisé avec un  $F\#$  fixé à 1,75. C'est-à-dire :

$F\# = 2a/z = 1,75$  où  $z$  est la profondeur de la tâche focale.

Par conséquent la valeur maximale de  $z$  est :  $z_{\max} = 2a / F\# = 13,71$  mm

Cela signifie que lorsque nous appliquons un push à un angle de  $20^\circ$ , le dernier point focalisé du push atteint une profondeur maximale de 13,71 mm. Pour imager des structures plus profondes, nous pouvons soit réduire l'ouverture d'émission ou diminuer le  $F\#$ .

## ANNEXE 4 : REGIONS D'INTERET

---

La région d'intérêt (ROI) est une région dans laquelle nous calculons la vitesse de cisaillement générée par chaque push. Comme mentionné dans la discussion, cette région doit être relativement constante pour tous les pushes, et assez large pour avoir une valeur représentative pour chaque angle de push.

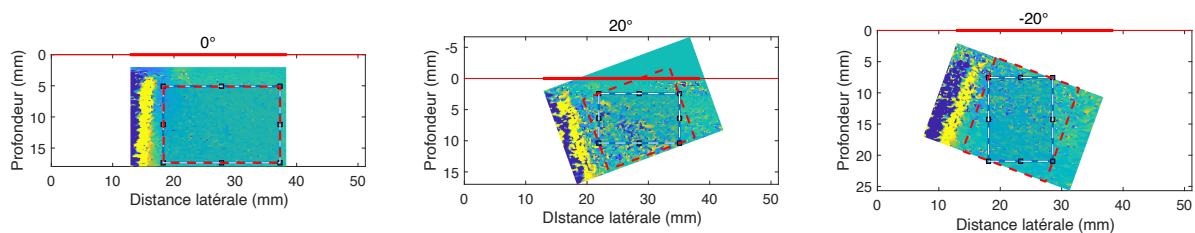


Figure 6 La sélection des ROIs sur trois images d'onde de cisaillement de pushes à 0°, 20°, -20° réalisées sur un fantôme

La sélection des ROIs est seulement effectuée sur trois angles de push : 0°, 20° et -20° sur la deuxième image du film de propagation (à 0,47 ms avec une PRF de 4300 Hz). Les deux pushes à 20° et -20° sont les pushes à l'angle le plus élevé, qui présentent également le plus faible rapport signal sur bruit. Lors de l'ajustement des données à l'équations de propagation d'onde, les vitesses de cisaillement calculées à partir de ces deux pushes peuvent être éliminés. Par conséquent, il est nécessaire de sélectionner une troisième ROI à 0°, qui correspond à au push présentant le meilleur signal car elle n'est pas inclinée. La sélection des ROIs se fait de manière à ce qu'elles soient relativement proches du push, mais pas dans sa zone de champ proche (la partie jaune des pushes dans la figure 5). De plus, les ROIs doivent être choisies de manière à minimiser les artefacts tout en restant aussi grandes que possible.

Finalement, en prenant l'intersection des trois ROIs sélectionnées, nous obtenons une ROI pratiquement située au même emplacement par rapport au milieu pour toutes les pushes. Il est également important de noter que les ROIs sont sélectionnées dans un repère cartésien, représenté par des lignes pointillées blanches. Les lignes pointillées rouges représentent les ROIs pivotées pour s'aligner avec les pushes inclinés. Dans le

cas d'un push à 0°, ces deux lignes pointillées se superposent. Des ROIs non rectangulaires permettraient d'augmenter la zone d'intersection mais le traitement actuel n'est pas adapté à de telles formes.

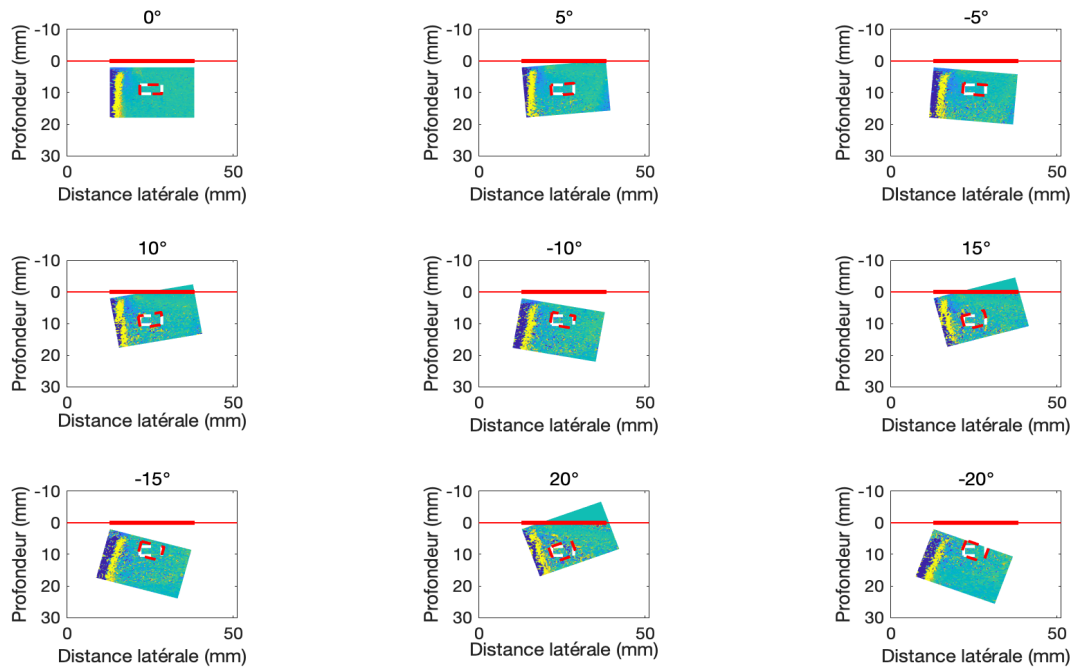


Figure 7 La ROI sur des images d'onde de cisaillement de tous les pushes

En résumé, la sélection des ROIs est réalisée en tenant compte à la fois de la proximité du push, de l'absence de champ proche et de la qualité du signal. Cela permet d'obtenir des ROIs appropriées pour l'analyse ultérieure, avec un bon rapport signal sur bruit et une taille optimale.



## BIBLIOGRAPHIE D'ANNEXES

---

Relation between Phase Velocity and Group Velocity for De Broglie Waves (n.d.). Available at: <https://www.mphysicstutorial.com/2020/11/phase-velocity-group-velocity-relation.html>.

Royer, Daniel; Dieulesaint Eugène (1996). *Ondes élastiques dans les solides*.

Wang, M., Byram, B., Palmeri, M., Rouze, N., and Nightingale, K. (2013). Imaging Transverse Isotropic Properties of Muscle by Monitoring Acoustic Radiation Force Induced Shear Waves Using a 2-D Matrix Ultrasound Array. *IEEE Trans. Med. Imaging* 32, 1671–1684. doi: 10.1109/TMI.2013.2262948.