

Otrzymano: 13.02.2019  
 Zaakceptowano: 10.04.2019  
 Opublikowano: 28.06.2019

## Monitorowanie odpowiedzi na chemioterapię neoadjuwantową u pacjentek z rakiem piersi z wykorzystaniem zintegrowanego współczynnika rozproszenia fali ultradźwiękowej – doniesienie wstępne

Monitoring the response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer using ultrasound scattering coefficient: A preliminary report

Katarzyna Dobruch-Sobczak<sup>1,2</sup>, Hanna Piotrkowska-Wróblewska<sup>1</sup>, Ziemowit Klimoda<sup>1</sup>, Wojciech Secomski<sup>1</sup>, Piotr Karwat<sup>1</sup>, Ewa Markiewicz-Grodzicka<sup>3</sup>, Agnieszka Kolasińska-Ćwikła<sup>3</sup>, Katarzyna Roszkowska-Purska<sup>4</sup>, Jerzy Litniewski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Ultradźwięków, Instytut Podstawowych Problemów Techniki Polskiej Akademii Nauk, Warszawa, Polska

<sup>2</sup> Zakład Radiologii II, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa, Polska

<sup>3</sup> Klinika Chemioterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa, Polska

<sup>4</sup> Zakład Patomorfologii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa, Polska

Adres do korespondencji: Katarzyna Dobruch-Sobczak, Zakład Radiologii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, ul. Wawelska 15, 03-024 Warszawa; e-mail: kdsobczak@gmail.com

DOI: 10.15557/JoU.2019.0013

### Słowa kluczowe

zintegrowany współczynnik rozproszenia wstecznego (IBSC), chemioterapia neoadjuwantowa (NAC), nowotwór piersi, ultrasonografia

### Keywords

integrated backscatter coefficient (IBSCs), neoadjuvant chemotherapy (NAC), breast cancer, ultrasound

### Abstract

**Objective:** Neoadjuvant chemotherapy was initially used in locally advanced breast cancer, and currently it is recommended for patients with Stage 3 and with early-stage disease with human epidermal growth factor receptors positive or triple-negative breast cancer. Ultrasound imaging in combination with a quantitative ultrasound method is a novel diagnostic approach. **Aim of study:** The aim of this study was to analyze the variability of the integrated backscatter coefficient, and to evaluate their use to predict the effectiveness of treatment and compare to ultrasound examination results. **Material and method:** Ten patients (mean age 52.9) with 13 breast tumors (mean dimension 41 mm) were selected for neoadjuvant chemotherapy. Ultrasound was performed before the treatment and one week after each course of neoadjuvant chemotherapy. The dimensions were assessed adopting the RECIST criteria. Tissue responses were classified as pathological response into the following categories: not responded to the treatment (G1, cell reduction by  $\leq 9\%$ ) and responded to the treatment partially: G2, G3, G4, cell reduction by 10–29% (G2), 30–90% (G3),  $>90\%$  (G4), respectively, and completely. **Results:** In B-mode examination partial response was observed in 9/13 cases (completely, G1, G3, G4), and stable disease was demonstrated in 3/13 cases (completely, G1, G4). Complete response was found in 1/13 cases. As for backscatter coefficient, 10/13 tumors (completely, and G2, G3, and G4) were characterized by an increased mean value of 153%.

Three tumors 3/13 (G1) displayed a decreased mean value of 31%. **Conclusion:** The variability of backscatter coefficient, could be associated with alterations in the structure of the tumor tissue during neoadjuvant chemotherapy. There were unequivocal differences between responded and non-responded patients. The backscatter coefficient analysis correlated better with the results of histopathological verification than with the B-mode RECIST criteria.

## Wstęp

Chemioterapię neoadjuwantową (*neoadjuvant chemotherapy*, NAC) początkowo stosowano w miejscowo zaawansowanym raku piersi (*locally advanced breast cancer*, LABC) oraz w zapalnej postaci nowotworu w celu obniżenia stopnia zaawansowania choroby nieoperacyjnej. Obecnie jest ona zalecana u pacjentek z rakiem piersi w 3. stopniu zaawansowania oraz u chorych z HER2-dodatnim lub potrójnie ujemnym rakiem we wczesnym stadium zaawansowania<sup>(1,2)</sup>. NAC prowadzi do redukcji masy guza poprzez indukcję wewnątrzkomórkowych uszkodzeń prowadzących do śmierci i zwyrodnienia komórki. Odpowiedź na leczenie zwiększa szanse na wykonanie zabiegu chirurgicznego lub umożliwia leczenie oszczędzające, a także zwiększa prawdopodobieństwo eliminacji mikroprzerzutów i zmniejsza ryzyko rozsiewu choroby<sup>(3,4)</sup>. Podczas leczenia obserwacja guza jest prowadzona zarówno w badaniach klinicznych, jak i obrazowych. Dostarcza ona dodatkowych informacji na temat chemiowrażliwości tkanki nowotworowej na różne schematy NAC, pozwalając na modyfikację dalszego leczenia. Jednak odpowiedź na NAC nie jest jednorodna, a odróżnienie chorych odpowiadających na leczenie od osób nieodpowiadających wymaga obiektywnej oceny. Patomorfologiczna odpowiedź na leczenie jest oceniana na podstawie zmian liczby komórek nowotworowych i dzieli się na dwie kategorie: częściową patologiczną odpowiedź (*pathological partial response*, pPR), którą dalej podzielono na cztery podtypy: G1 (redukcja o  $\leq 9\%$ ), G2 (10–29%), G3 (30–90%) i G4 ( $> 90\%$ ), oraz patologiczną odpowiedź całkowitą (*pathological complete response*, pCR)<sup>(5)</sup>. (Podtyp G1 uznano w pracy za grupę guzów nieodpowiadających na leczenie). Odsetki pacjentek odpowiadających i nieodpowiadających na terapię różnią się: pCR odnotowuje się u 10–31% chorych, a pPR – u 69–100% chorych<sup>(6–8)</sup> (w zależności od wyników przedstawianych w literaturze).

Obecnie w monitorowaniu pacjentek leczonych za pomocą NAC stosuje się następujące metody: kliniczne badanie piersi, mammografię (MMG), tradycyjne badanie ultrasonograficzne w trybie B-mode (USG), badanie rezonansem magnetycznym z podaniem środka kontrastowego (*magnetic resonance imaging with a contrast agent*, CA-MRI) lub obrazowanie dyfuzyjne (*diffusion-weighted images*, DWI-MRI)<sup>(9)</sup>. Wykazano, że badanie kliniczne piersi jest techniką subiektywną o ograniczonej skuteczności, szczególnie w przypadku guzów mniejszych niż 2 cm: badanie nie pozwala na wykrycie około 60% zmian resztkowych<sup>(10)</sup>.

W porównaniu z badaniem klinicznym i mammografią za bardziej dokładne w ocenie wielkości guza i monitorowaniu zmian resztkowych w piersiach uznaje się badanie USG<sup>(11)</sup>.

W literaturze dotyczącej przydatności badania USG wraz z MMG opisuje się zwiększoną do 80% możliwość prognozowania pCR<sup>(12)</sup>. Obiecującą metodą w obserwacji regresji choroby jest badanie ultrasonograficzne z zastosowaniem środków kontrastujących, ale nie jest ono szeroko stosowane ani zalecane przez EFSUMB<sup>(13)</sup>.

Sonoelastografia jest kolejną techniką ultrasonograficzną stosowaną w monitorowaniu skuteczności NAC. Opublikowane wyniki badań wskazują, że redukcja sztywności tkanki nowotworowej obserwowana w elastografii fali poprzecznej (*shear wave elastography*, SWE) i elastografii odkształceń względnych (*strain elastography*, SE) pozwala w podobnym stopniu prognozować odpowiedź choroby na NAC<sup>(14–18)</sup>. Evans i wsp.<sup>(14)</sup> wykazali w SWE, że spadek sztywności nowotworu piersi oceniony po 3. kursie NAC był predyktorem pCR z czułością na poziomie 59% i swoistością sięgającą 85%. Jing i wsp. stwierdzili, że spadek sztywności tkanki w SWE (zmiany względne) umożliwia skuteczne prognozowanie odpowiedzi na NAC po dwóch cyklach leczenia<sup>(17)</sup>.

Ocena odpowiedzi guza na leczenie NAC za pomocą obrazowania rezonansem magnetycznym (*magnetic resonance imaging*, MRI) jest co prawda dokładniejsza niż badanie kliniczne, ultrasonograficzne czy mammograficzne, ale dostępność badania może być ograniczona, a niedoszacowania dotyczące choroby resztkowej mogą dotyczyć do 20% pacjentek<sup>(19,20)</sup>. Ograniczenia metod radiologicznych mogą wynikać z faktu, że zmiany wielkości i architektury guza występują z opóźnieniem w stosunku do procesu śmierci komórki, który rozpoczyna się kilka godzin lub dni po wdrożeniu leczenia<sup>(21)</sup>. Wykazano, że pod wpływem NAC mikrostruktura guza, w tym liczba komórek, ulega zmianie, zanim pojawiają się zmiany w wymiarach guza na poziomie makroskopowym<sup>(21,22)</sup>. U chorych z pCR obszary uprzedniej inwazji nowotworu charakteryzują się włóknieniem i obrzękiem podścieliska ze zwiększonym unaczynieniem i naciekami zapalnymi<sup>(23)</sup>. U pacjentek nieodpowiadających na leczenie (pPR G1) komórki nowotworowe ulegają bardzo niewielkim zmianom. Jednak u pacjentek z pPR: G2, G3 lub G4 zmienia się odsetek powiększonych nieprawidłowych, często wielojądrowych komórek nowotworowych<sup>(23,24)</sup>.

Wciąż poszukuje się nowych, łatwych do zastosowania narzędzi diagnostycznych, które umożliwią rozróżnienie chorych odpowiadających na leczenie oraz bez odpowiedzi na NAC z wysoką dokładnością i na wczesnym etapie leczenia. W literaturze dostępne są publikacje na temat przydatności ultrasonograficznych parametrów ilościowych (*quantitative ultrasound*, QUS) w monitorowaniu odpowiedzi na NAC<sup>(24–27)</sup>. W przypadku klasycznego badania w trybie B-mode obraz generowany jest na podstawie obwiedni

sygnałów wielkiej częstotliwości (*radio-frequency*, RF), które następnie poddawane są dalszemu przetwarzaniu, by zredukować szумы i wydobyć szczegóły obrazowanej i ocenianej tkanki. W tym celu stosuje się m.in. algorytmy filtracji, kompresji logarytmicznej, interpolacji oraz wzmocnienia obrazu. Procesy te ograniczają ilość informacji na temat badanej tkanki. Wad tych nie ma analiza ilościowa pierwotnego sygnału RF. Techniki QUS wykorzystują surowe sygnały RF, wstecznie rozproszone na elementach struktury tkanki (np. na skupiskach komórek lub elementach zwłókniałej tkanki podścieliska w gruczole piersiowym).

Teorię rozproszenia fal ultradźwiękowych w tkankach biologicznych oraz przydatność różnych technik badania ultrasonograficznego w ocenie gęstości komórkowej analizowali m.in. Oelze i wsp.<sup>(28)</sup> Od tamtej pory opracowano wiele metod QUS na podstawie analizy rozproszonego echa w celu uzyskania charakterystyki mikrostruktury i właściwości elastycznych tkanek. Parametry ultrasonograficzne uzyskane z rozproszonego echa, które mogą pomóc w charakterystyce mikrostruktury tkanek, to m.in. parametry statystyczne obwiedni echa<sup>(29,30)</sup>, parametry struktury<sup>(31)</sup> oraz parametry rozproszenia sygnału. Te ostatnie można zastosować w celu skutecznego prognozowania odpowiedzi tkanki nowotworu na wdrożone leczenie<sup>(26,31)</sup>.

Celem pracy była ocena odpowiedzi guza na NAC z zastosowaniem różnych technik badania ultrasonograficznego: oceny wielkości guza w obrazowaniu B-mode, oceny sztywności w badaniu elastograficznym oraz za pomocą parametru ilościowego, czyli zintegrowanego współczynnika rozproszenia wstecznego (*integrated backscatter coefficient*, IBSC), którego wartość jest zależna od ilości, kształtu, organizacji i wielkości elementów rozpraszających.

## Materiał i metody

### Pacjenci

Protokół badawczy zatwierdziła komisja bioetyczna Centrum Onkologii – Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie. Chore wyraziły świadomą pisemną zgodę na udział w badaniu. W okresie od kwietnia 2016 do listopada 2017 roku do NAC prowadzonego w Klinice Onkologii zakwalifikowano 10 pacjentek w wieku od 32 do 75 lat (średnia wieku 52,9 roku) z 13 guzami (jedna zmiana dwuogniskowa, jedna zmiana trzyogniskowa). W leczeniu stosowano AT (doksorubicyna, docetaksel), AC (doksorubicyna, cyklofosfamid) i paklitaksel, zgodnie z międzynarodowymi zaleceniami. U wszystkich chorych wykonano prostą mastektomię z limfadenektomią.

### Ocena histologiczna

U wszystkich pacjentek przeprowadzono biopsję gruboigłową po podaniu 2-procentowej lidokainy, stosując działo do biopsji o średnicy igły 14 G (Pro-Mag). Z każdej zmiany pobierano 3–5 próbek. Bezpośrednio po zabiegu (mastektomia prosta) preparaty utrwalano w 10-procentowym roztworze buforowanej formaliny. Wycinki reprezentatywne przetwarzano i rutynowo barwiono w celu oceny histopatologicznej (mikroskopowej, HE). Wszystkie próbki oceniał ten sam patolog z wieloletnim stażem w diagnostyce raka piersi. Badanie histopatologiczne dostarczyło informacji dotyczących stopnia złośliwości, podtypu nowotworu, redukcji komórek nowotworowych oraz wielkości guza resztkowego (Tab. 1–3). W celu klasyfikacji

**Tab. 1.** Wielkości guzów piersi przed leczeniem i po uzyskane w badaniu w trybie B-mode, sonoelastografii i w ostatecznym badaniu histopatologicznym

Pacjentka <i>n</i>	Wielkość guza przed leczeniem (W × D × L) w mm	Wielkość guza po leczeniu (W × D × L) w mm (Redukcja długości w porównaniu z wartością wyjściową w %) Wyniki RECIST 1.1	Skala Tsukuba przed leczeniem/po leczeniu	Wielkość guza w ostatecznym badaniu histopatologicznym (mm)
1	8 × 10 × 9	4 × 3 × 3 (67%) PR	2/4	4 × 5 × 5
2a	19 × 27 × 17	12 × 7 × 8 (53%) PR	4/2	25 × 22 × 20
2b	35 × 41 × 36	9 × 9 × 6 (84%) PR	4/2	35 × 45 × 25
3	25 × 27 × 26	6 × 6 × 7 (73%) PR	4/3	40 × 30 × 20
4	20 × 23 × 25	10 × 8 × 12 (52%) PR	2/2	25 × 17 × 25
5	9 × 20 × 13	6 × 13 × 4 (69%) PR	5/5	22 × 17 × 18
6	22 × 13 × 21	18 × 20 × 11 (48%) PR	4/4	35 × 17 × 12
7	25 × 17 × 15	14 × 6 × 11 (27%) SD	4/2	13 × 12 × 11
8	30 × 21 × 41	20 × 16 × 34 (17%) SD	4/4	30 × 30 × 41
9	10 × 24 × 16	10 × 14 × 9 (44%) PR	2/2	0
10a	17 × 10 × 21	5 × 5 × 8 (62%) PR	3/4	9 × 7 × 11
10b	3 × 10 × 8	2 × 8 × 6 (25%) SD	3/3	0
10c	5 × 5 × 4	** CR	2/2*	0

W – szerokość; D – głębokość; L – długość; % redukcji największego wymiaru w płaszczyźnie promieniowej zmiany  
\* Ocena elastograficzna po 2. kursie NAC; \*\* Zmiana niewidoczna od pierwszego tygodnia po zakończeniu 3. kursu NAC

**Tab. 2.** Wyniki weryfikacji histopatologicznej materiału pobranego w biopsji gruboigłowej oraz zastosowane leczenie

Pacjentka n	Histopatologia	Stożek złośliwości G	ER %	PGR %	HER 2+	Ki-67 %	Podtyp IHCH	Rodzaj NAC
1	NST	2	100	80	3	70	Luminalny B HER 2+	AT
2a, b	NST	2	100	50	0	30	Luminalny B HER2–	AT i Taxotere
3	NST	2	0	0	3	30	HER 2+	AT
4	NST	2	90	85	–	2	Luminalny A	AC i paklitaksel
5	NST	1	100	80	–	2	Luminalny A	Tamoksyfen
6	NST	2	80	40	1	2	Luminalny A	AC i paklitaksel
7	NST	2	70	75	0	10	Luminalny A	AC
8	NST	2	100	40	1	15	Luminalny A	AC
9	NST + CDIS	2	90	40	1	30	Luminalny B HER 2–	AC i paklitaksel
10a, b, c	NST	3	100	60	–	60	Luminalny B HER 2–	AC i paklitaksel

NST – bez specjalnego typu, ER – receptor estrogenowy, PGR – receptor progesteronowy, HER – ludzki naskórkowy czynnik wzrostu, AT – doksorubicyna, docetaksel, AC – doksorubicyna, cyklofosfamid, IHCH – badanie immunohistochemiczne

patologicznej odpowiedzi na NAC ilościowo oszacowano zmiany w komórkowości tkanki nowotworowej, wykorzystując próbki uzyskane z biopsji przed wdrożeniem leczenia oraz materiał otrzymany po leczeniu i zabiegu chirurgicznym; stosowano skalę Millera–Payne’a<sup>(5)</sup>. W ocenie histopatologicznej po NAC nowotwory klasyfikowano do dwóch grup: patologiczna odpowiedź częściowa (pPR) i patologiczna odpowiedź całkowita (pCR). Pierwszą grupę (pPR) podzielono na podgrupy G1, G2, G3 lub G4 na podstawie zakresu obserwowanych zmian. Wyniki analizy ultrasonograficznej odniesiono do weryfikacji histopatologicznej.

## Rejestracja danych ultrasonograficznych

Łącznie w Zakładzie Ultradźwięków Instytutu Podstawowych Problemów Techniki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie przeprowadzono 67 badań ultrasonograficznych piersi wraz z sonoelastografią i oceną węzłów chłonnych.

Obrazy B-mode oraz odpowiadające im surowe echa RF rejestrowano za pomocą aparatu Ultrasonix SonixTouch (Ultrasonix Medical Corporation, Richmond, BC, Kanada) oraz głowicy liniowej L14-5/38 o częstotliwości ustawionej

**Tab. 3.** Ocena mikroskopowa uszkodzenia komórek nowotworowych i masa guza po chemioterapii

Pacjentka n	Redukcja ilości komórek nowotworowych (%)	Klasyfikacja w badaniu histopatologicznym
1	100%	pCR
2a, b	60%	G3
3	85%	G3
4	30%	G3
5	0%	G1
6	0%	G1
7	91%	G4
8	0%	G1
9	100%	pCR
10a	95%	G4
10b	100%	pCR
10c	100%	pCR

10 MHz, co w pomiarach z użyciem hydrofonu odpowiadało częstotliwości środkowej impulsów na poziomie około 7,5 MHz. Obszar monitorowanego guza stanowiący obszar zainteresowania (*region of interest*, ROI) oznaczał na obrazach B-mode radiolog z 20-letnim stażem w diagnostyce chorób piersi.

U każdego chorego przeprowadzono co najmniej pięć badań ultrasonograficznych: dane wyjściowe uzyskano przed rozpoczęciem leczenia, a kolejne – tydzień po każdym cyklu chemioterapii.

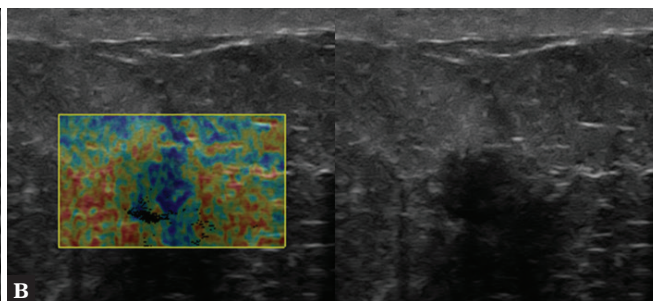
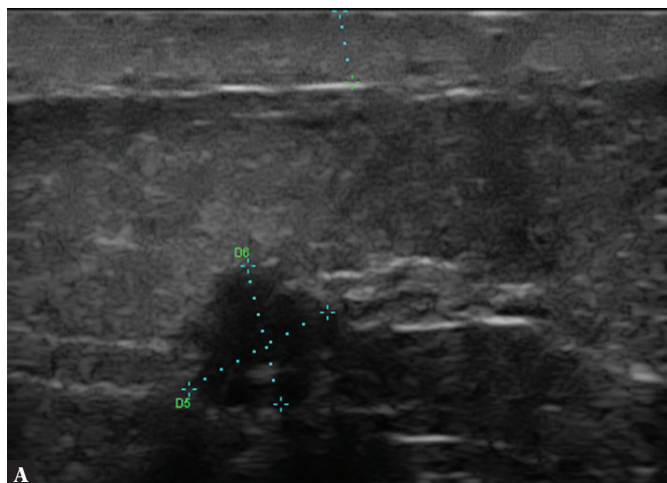
W trakcie każdego badania dane pochodzące ze zmiany ogniskowej rejestrowano w czterech płaszczyznach (promieniowej, promieniowej + 45°, przeciwnej do promieniowej, przeciwnej do promieniowej + 45°). Czas obserwacji pacjentek uczestniczących w badaniu wynosił 5–6 miesięcy.

Ocena guzów opierała się na wytycznych ACR (American College of Radiology; leksykon BI-RADS) i standardach Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego<sup>(32,33)</sup>. Zaimplementowano klasyfikację RECIST 1.1 w obserwacji najdłuższego wymiaru guzów<sup>(34)</sup>, pomimo że wytyczne RECIST nie są rekomendowane do monitorowania wielkości guzów w badaniu USG, ze względu na zależność od operatora (*partial response*, PR – częściowa odpowiedź; *stable disease*, SD – stabilizacja choroby; *complete response*, CR – całkowita odpowiedź; *progressive disease*, PD – progresja choroby). Podobnie jak autorzy, kryteria RECIST do prognozowania odpowiedzi na NAC zastosowali w swojej pracy Marinovich i wsp.<sup>(35)</sup>

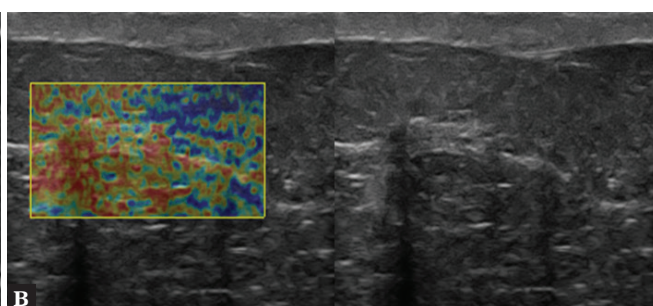
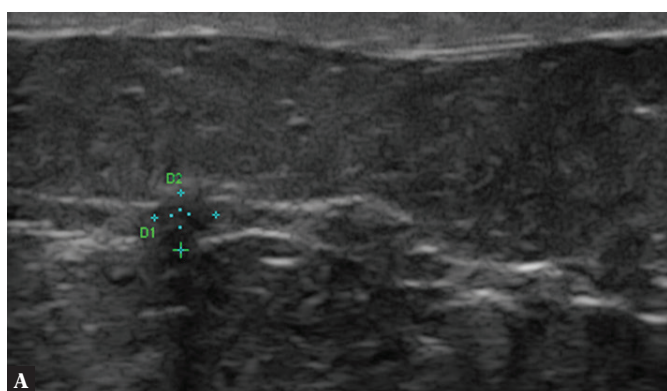
W sonoelastograficznej ocenie guzów wykorzystano skalę Tsukuba<sup>(36)</sup>. Jest to 5-punktowa skala, gdzie stopień Tsukuba 1 oznacza odkształcenie obecne w całej zmianie, a stopień Tsukuba 5 oznacza brak odkształcenia w obrębie zmiany i otaczającej tkanki (Ryc. 1 B, 2 B, 3 B, 4 B).

W celu zgromadzenia danych ilościowych dla każdego obrazu B-mode zarejestrowano 510 linii sygnału RF, przy częstotliwości próbkowania równej 40 MHz. Głowicę ogniskowaną w centrum zmiany w każdym przypadku. Analizę zebranych danych, mającą na celu wyznaczenie wartości IBSC, przeprowadzono w trybie offline, za pomocą

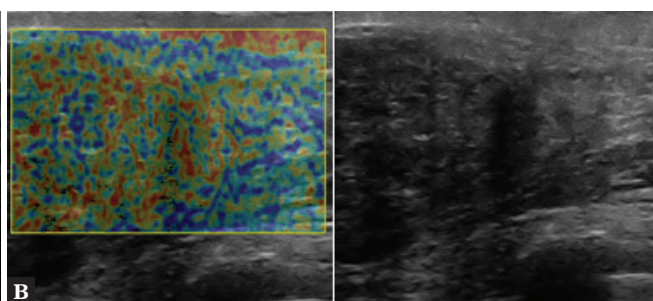
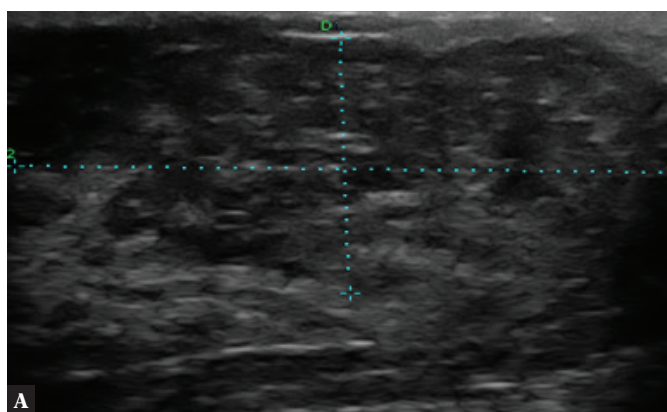




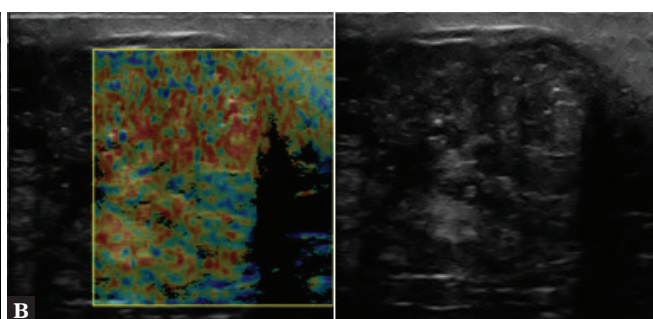
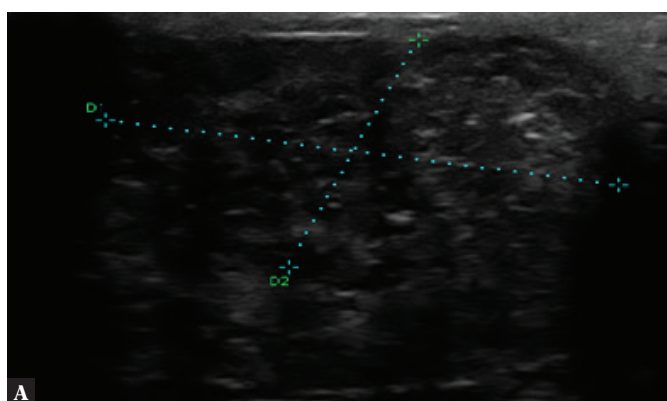
**Ryc. 1. A.** Obrazy B-mode pacjentki 1. Hipoechoogeniczna, okrągła zmiana lita o zrazikowych brzegach bez zwapnień. W badaniu histopatologicznym stwierdzono IC NST. **B.** Elastografia odkształceniowa ujawnia zmianę w stopniu Tsukuba 2. Sztywne tkanki oznaczone są kolorem czerwonym, tkanki ulegające odkształceniu kolorem niebieskim, a pośrednie kolorem zielonym



**Ryc. 2.** Obraz B-mode u pacjentki 1 po NAC. Izoechoiczna zmiana o nieregularnych brzegach. **B.** Elastografia odkształceniowa ujawnia zmianę w stopniu Tsukuba 4

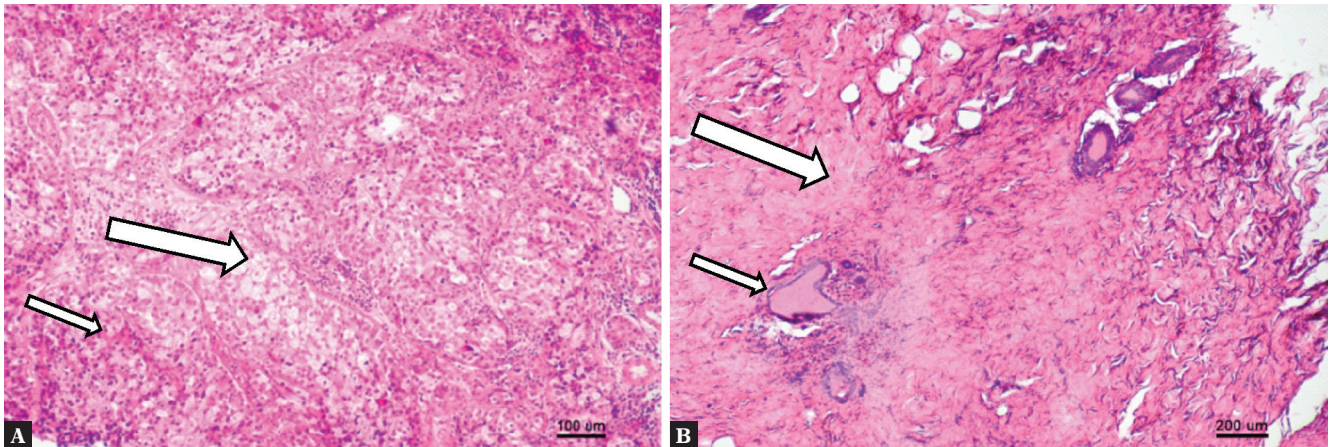


**Ryc. 3. A.** Obraz B-mode pacjentki 8 przed NAC. Nieregularna, niejednorodna, hipoechoiczna zmiana lita o niewyraźnych brzegach. **B.** Dominuje brak odkształcalności w badaniu elastograficznym (Tsukuba 4)



**Ryc. 4. A.** Obraz B-mode pacjentki 8 po NAC. Niejednorodna, hipoechoiczna zmiana lita. **B.** W badaniu elastograficznym zmiana Tsukuba 4





Ryc. 5. **A.** Obraz mikroskopowy materiału pobranego od pacjentki 1 w czasie biopsji gruboigłowej przed rozpoczęciem leczenia. Gruba strzałka wskazuje komórki nowotworowe i towarzyszący im naciek limfocytny (cienka strzałka). **B.** Obraz mikroskopowy materiału pobranego od pacjentki 1 po leczeniu ujawnia przewody mlekowe (cienka strzałka) i tkankę podścieliska (gruba strzałka), bez obecności komórek nowotworowych

autorskich programów zaimplementowanych w środowisku Matlab (Mathworks, Natick, MA, USA).

wykorzystano wartość średnią wyznaczoną z czterech przekrojów.

## Ilościowe parametry ultrasonograficzne

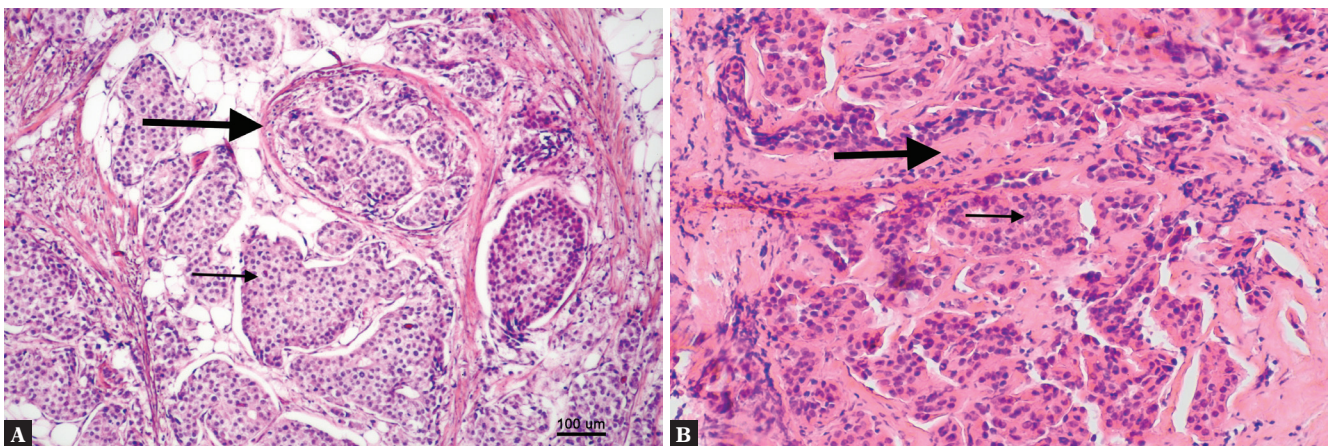
### Zintegrowany współczynnik rozproszenia wstecznego (IBSC)

Analizę sygnałów RF w celu określenia IBSC przeprowadzono za pomocą metody zaproponowanej przez Yao i wsp.<sup>(37)</sup> ROI (obszar wewnątrz guza) analizowano przy pomocy tzw. metody przesuwającego okna. Okno przemieszczane było poziomo z krokiem odpowiadającym odległości między kolejnymi liniami RF (0,08 mm) i pionowo z krokiem równym jednej próbce analizowanego sygnału (0,02 mm). W celu określenia pojedynczej wartości IBSC, charakteryzującej całą zmianę, wartości IBSC uśredniono dla wszystkich okien w poszczególnych przekrojach guza i następnie

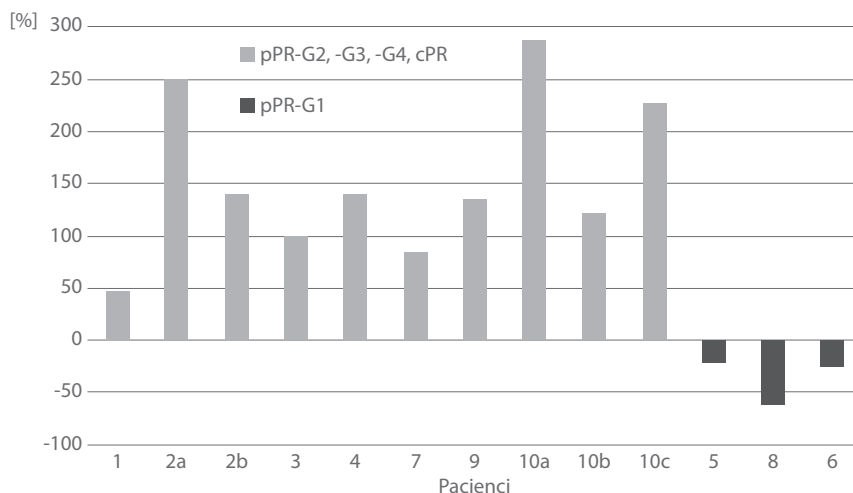
## Wyniki

### Obrazowanie w trybie B-mode

U 10 pacjentek biorących udział w niniejszym badaniu wykonano prostą mastektomię z limfadenektomią po chemioterapii. Największe wymiary zmiany w płaszczyźnie radialnej (według RECIST 1.1) mieściły się w przedziale 4–41 mm przed terapią oraz w przedziale 3–34 mm po leczeniu. Odpowiedź częściową (PR  $\geq 30$ -procentowa redukcja największego wymiaru guza pierwotnego) obserwowano w 9 na 13 przypadków, które w badaniu histopatologicznym (HE) sklasyfikowano jako pCR, G1, G3 lub G4. W przypadku 3 z 13 zmian stwierdzono stabilizację choroby (SD), gdzie HE wskazywało na pCR, G4 i G1. W jednym przypadku,



Ryc. 6. **A.** Obraz mikroskopowy materiału pobranego od pacjentki 8 w czasie biopsji gruboigłowej. Widoczne skupiska komórek nowotworowych (cienka strzałka) i pasmo tkanki włóknistej (gruba strzałka). **B.** Komórki nowotworowe u pacjentki 8 po leczeniu: komórki nowotworowe (cienka strzałka) i podścielisko (gruba strzałka) z cechami niewielkiego uszkodzenia



Ryc. 7. Procentowa zmiana wartości współczynnika IBSC po NAC

sklasyfikowanym w HE jako pCR, badanie ultrasonograficzne również wskazywało na odpowiedź całkowitą (CR).

Wyniki badań ultrasonograficznych (wielkość guza w trybie B-mode i elastografia przed NAC i po) oraz wielkość guzów po badaniach patologicznych przedstawiono w Tab. 1. W elastografii przeprowadzonej po leczeniu 5 na 13 guzów określono jako nieulegające odkształceniu. Były to trzy zmiany, które nie odpowiadały na leczenie (pPR G1) i charakteryzowały się wysoką sztywnością (T4 i T5), jeden guz z pCR i jeden z pPR G4. Spadek sztywności obserwowano w 4 z 13 przypadków (w HE zmiany określono jako pPR: G3 i G4). W przypadku 2 guzów odnotowano wzrost sztywności; były to guz z pCR oraz guz z pPR G4. W 7 z 13 przypadków nie stwierdzono zmian sztywności (w HE ustalono pPR: G1, G3 i pCR).

## Wyniki weryfikacji histopatologicznej

W badaniu histopatologicznym po NAC i zabiegu chirurgicznym stwierdzono 4 guzy z pCR. Pozostałe zmiany oznaczono jako pPR (w tym 3 przypadki G1). Zmiany sklasyfikowano jako rak inwazyjny bez specjalnego typu (*invasive carcinoma non-specified type*, IC NST) w stopniu G2 i G3 (Tab. 2). Tabela 3 przedstawia dane dotyczące redukcji odsetka komórek nowotworowych i weryfikacji histopatologicznej przeprowadzonej po NAC.

Obrazy weryfikacji mikroskopowej oraz odpowiadające im obrazy B-mode, uzyskane przed leczeniem i po od dwóch pacjentek z różną odpowiedzią na leczenie (przypadki 1 i 8), przedstawiają Ryc. 1–6. U pacjentki 1 odnotowano odpowiedź na NAC (pCR), natomiast u pacjentki 8 nie stwierdzono odpowiedzi na leczenie (G1).

## Wyniki dotyczące współczynnika rozproszenia wstecznego

Dziesięć zmian, które w badaniu histopatologicznym przeprowadzonym po NAC sklasyfikowano jako wykazujące

całkowitą odpowiedź (pCR) i częściową odpowiedź (G2, G3 i G4), charakteryzował wzrost wartości IBSC: mieściły się one w zakresie od 48% do 287% (średnia 153%). W przypadku trzech guzów sklasyfikowanych jako pPR G1 (<9-procentowa redukcja komórek nowotworowych) odnotowano spadek wartości IBSC w zakresie od –20% do –60% (średnia –31%). Rycina 7 obrazuje procentowe zmiany wartości współczynnika IBSC po NAC. Wartości IBSC dla każdej zmiany przed rozpoczęciem leczenia stanowiły wartości referencyjne.

## Omówienie

Analiza obrazów B-mode 13 guzów piersi, na podstawie zmodyfikowanych kryteriów RECIST 1.1, wykazała częściową odpowiedź na leczenie w 9 przypadkach, całkowitą odpowiedź w 1 przypadku i stabilizację choroby w 3 przypadkach. Ocena ta nie korelowała jednak z oceną liczebności komórek nowotworowych, które określono w ostatecznym badaniu histopatologicznym. W przypadku guzów z odpowiedzią częściową i stabilizacją choroby obserwowano odpowiedź patologiczną G1, ale także G3, G4 i pCR. Warto zaznaczyć, że wymiary zmian stwierdzone w ostatecznej weryfikacji histopatologicznej były znacznie większe niż te określone w badaniu USG w trybie B-mode.

W naszym badaniu nie zaobserwowano korelacji zmian sztywności guzów (w sonoelastografii) z innymi metodami zastosowanymi w celu określenia odpowiedzi na leczenie (QUS czy badanie histopatologiczne). Badania opublikowane dotychczas wskazują, że obie techniki sonoelastograficzne (SWE i SE) są przydatne w określaniu odpowiedzi na NAC. Ma i wsp. w badaniu na grupie 71 chorych stwierdzili, że redukcja średniej wartości E i SR (*strain ratio* – wskaźnik odkształcenia) po kursach chemioterapii prognozowała odpowiedź na leczenie z wysoką dokładnością (AUC odpowiednio 0,93 i 0,90)<sup>(16)</sup>. Autorzy zaznaczyli także, że zmiany z niższą sztywnością wyjściową korelowały z lepszą odpowiedzią na NAC (pCR). Podobne wyniki uzyskali Hayashi i wsp.<sup>(18)</sup>, którzy stwierdzili, że niższym wynikiem w skali Tsukuba (1–3)



towarzyszyły istotnie lepsze wskaźniki klinicznej odpowiedzi całkowitej i pCR w porównaniu z grupą z wysokimi parametrami elastografii piersi (EG) (pCR, grupa z niskimi parametrami EG 50% vs. grupa z wysokimi parametrami EG 14%;  $P = 0,003$ ).

Szczegółowa analiza sonoelastograficzna guzów sklasyfikowanych jako pCR nie wykazała zmian lub spadku sztywności. W ocenie histopatologicznej tych zmian stwierdzono istotną redukcję komórek nowotworowych w porównaniu z biopsją gruboigłową. W próbkach stwierdzono cechy włóknienia i elastozy podścieliska, mogące zwiększać sztywność guzów, co zaobserwowano tylko u jednej pacjentki. Odmienne wyniki uzyskano w ocenie guzów za pomocą oceny ilościowej (IBSC), w tym guzów z pCR. Odnotowano duże różnice w wartościach IBSC między grupą guzów, które odpowiadały na leczenie (pCR, pPR G2, G3 i G4), a grupą guzów bez odpowiedzi (pPR G1). W pierwszej grupie stwierdzono wzrost wartości IBSC, a w drugiej – niewielki ich spadek.

Podobne wyniki opublikowali Sannachi i wsp.: w grupie 30 chorych z LABC nie zaobserwowano zmian wartości IBSC u pacjentek nieodpowiadających na leczenie. Jednak autorzy definiowali brak odpowiedzi jako brak istotnych różnic w liczbie komórek nowotworowych w badaniu mikroskopowym oraz <50%-procentową redukcję wielkości guza<sup>(26)</sup>.

Uwzględniając uzyskane przez nas wyniki i dane z doniesień innych autorów, można spróbować odpowiedzieć na pytanie, co jest głównym źródłem rozproszenia ultradźwięków w ocenianych guzach piersi. Czarnota i wsp. wysnuli hipotezę, że w czasie procesu apoptozy, przy zastosowaniu wysokich częstotliwości fal ultradźwiękowych (>20 MHz)<sup>(38)</sup>, możliwe jest zaobserwowanie defragmentacji jąder komórkowych. Wpływ właściwości komórek na rozproszenie został potwierdzony m.in. przez Czarnotę i Koliosa, którzy w warunkach *in vitro* wykazali korelację wielkości jądra apoptotycznej komórki z intensywnością rozpraszania reprezentowaną przez wartość IBSC<sup>(39,40)</sup>.

Hipoteza wysunięta przez wspomnianych powyżej autorów, dotycząca obserwowanego wzrostu rozproszenia fali ultradźwiękowej w wyniku defragmentacji jądra komórkowego, nie może być ekstrapolowana bezpośrednio na nasze badanie, prowadzone w warunkach *in vivo* i dotyczące raka piersi. Długość fal ultradźwiękowych przy częstotliwości 7,5 MHz, którą zastosowano w naszym badaniu, jest relatywnie duża, dlatego fala nie oddziałuje bezpośrednio z pojedynczymi komórkami, ale raczej z większymi strukturami tkanki, takimi jak skupiska komórek lub zwłókniasta tkanka podścieliska. Związek między zmianą wartości IBSC a zmianami struktury tkanki należy więc interpretować na poziomie rekonstrukcji całych skupisk komórek lub przebudowy podścieliska w czasie chemioterapii.

Interpretacja zmian parametrów rozproszenia wstecznego jest złożona. Rozkład przestrzenny struktur tkanki i ich wpływ na rozproszenie fali ultradźwiękowej nie zostały do końca poznane. Ponadto wyniki badania histopatologicznego dostarczają wyłącznie informacji o stanie fragmentu

tkanki nowotworowej przed NAC (uzyskanej w biopsji) oraz po całym cyklu leczenia i mogą nie odzwierciedlać zmian zachodzących po każdym cyklu NAC.

## Wnioski

Wczesne prognozowanie odpowiedzi na NAC u pacjentek z rakiem piersi jest konieczne w celu planowania dalszej terapii i leczenia chirurgicznego. Niniejsza praca stanowi pierwsze badanie, w którym porównano ocenę wielkości guza w badaniu ultrasonograficznym, sonoelastografię i parametry ilościowe badania ultrasonograficznego (IBSC) z wynikami badania histopatologicznego u chorych poddanych chemioterapii neoadjuwantowej. Wyniki wstępne, uzyskane w grupie 10 chorych z łącznie 13 guzami piersi, potwierdziły istnienie związku między wynikiem pooperacyjnego badania histopatologicznego a zmianami wartości IBSC. W badanej grupie chorych obserwowano jednoznaczne różnice w wartościach współczynnika IBSC między pacjentkami odpowiadającymi na leczenie (pCR, pPR: G2, G3, G4) i pacjentkami nieodpowiadającymi, u których obserwowano niewielkie zmiany komórkowe po leczeniu (pPR G1). Wyniki uzyskane na podstawie oceny wielkości guza na obrazach B-mode oraz odkształcalności tkanek w sonoelastografii nie były aż tak jednoznaczne. Technika QUS, a w szczególności parametr IBSC, może stanowić uzupełnienie oceny skuteczności NAC. Konieczne są dalsze obserwacje, uwzględniające większe grupy chorych, aby stwierdzić, czy wartości parametru IBSC przekładają się na korzyści kliniczne w ocenie odpowiedzi na NAC.

## Podziękowania

Badanie wykonano w ramach grantu naukowego przydzielonego przez Narodowe Centrum Nauki – grant 2016/23/B/ST8/03391.

## Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść niniejszej publikacji oraz rościć sobie do niej prawo.

## Zatwierdzenie standardów bioetycznych

Wszystkie procedury w grupie ludzi przeprowadzane w ramach badań były zgodne ze standardami etycznymi komisji ds. badań naukowych Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie, a także z wytycznymi Deklaracji helsińskiej z 1964 roku oraz z jej późniejszymi zmianami lub z porównywalnymi standardami etycznymi.

## Świadoma zgoda

Od każdej pacjentki uzyskano świadomą zgodę przed włączeniem do badania.



## Piśmiennictwo

1. Morigi C: Highlights from the 15th St Gallen International Breast Cancer Conference 15–18 March, 2017, Vienna: tailored treatments for patients with early breast cancer. *Ecancermedalscience* 2017; 11: 732.
2. Giordano SH: Update on locally advanced breast cancer. *Oncologist* 2003; 8: 521–530.
3. Berruti A, Amoroso V, Gallo F, Bertaglia V, Simoncini E, Pedersini R *et al.*: Pathologic complete response as a potential surrogate for the clinical outcome in patients with breast cancer after neoadjuvant therapy: A meta-regression of 29 randomized prospective studies. *J Clin Oncol* 2014; 34: 3883–3891.
4. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG): Long-term outcomes for neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy in early breast cancer: meta-analysis of individual patient data from ten randomised trials. *Lancet Oncol* 2018; 19: 27–39.
5. Ogston KN, Miller ID, Payne S, Hutcheon AW, Sarkar TK, Smith I *et al.*: A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *Breast* 2003; 12: 320–327.
6. Maur M, Guarneri V, Frassoldati A, Conte PF: Primary systemic therapy in operable breast cancer: clinical data and biological fall-out. *Ann Oncol* 2006; 17 (Suppl. 5): v158–v164.
7. Sachelarie I, Grossbard ML, Chadha M, Feldman S, Ghesani M, Blum RH: Primary systemic therapy of breast cancer. *Oncologist* 2006; 11: 574–589.
8. von Minckwitz G, Untch M, Blohmer JU, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA *et al.*: Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes. *J Clin Oncol* 2012; 30: 1796–1804.
9. Dialani V, Chadashvili T, Slanetz PJ: Role of imaging in neoadjuvant therapy for breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2015; 22: 1416–1424.
10. Cocconi G, Di Blasio B, Alberti G, Bisagni G, Botti E, Peracchia G: Problems in evaluating response of primary breast cancer to systemic therapy. *Breast Cancer Res Treat* 1984; 4: 309–313.
11. Bosch AM, Kessels AG, Beets GL, Rupa JD, Koster D, van Engelsloven JM *et al.*: Preoperative estimation of the pathological breast tumor size by physical examination, mammography and ultrasound: a prospective study on 105 invasive tumours. *Eur J Radiol* 2003; 48: 285–292.
12. Keune JD, Jeffe DB, Schootman M, Hoffman A, Gillanders WE, Aft RL: Accuracy of ultrasonography and mammography in predicting pathologic response after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *Am J Surg* 199; 477–484.
13. Corcioni B, Santilli L, Quercia S, Zamagni C, Santini D, Taffurelli M, Mignani S: Contrast-enhanced US and MRI for assessing the response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *J Ultrasound* 2008; 11: 143–150.
14. Evans A, Whelehan P, Thompson A, Purdie C, Jordan L, Macaskill J *et al.*: Prediction of pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer comparing interim ultrasound, shear-wave elastography predict and MRI. *Ultraschall Med* 2017; 39: 422–431.
15. Evans A, Armstrong S, Whelehan P, Thomson K, Rauchhaus P, Purdie C *et al.*: Can shear-wave elastography predict response to neoadjuvant chemotherapy in women with invasive breast cancer? *Br J Cancer* 2013; 109: 2798–2802.
16. Ma Y, Zhang S, Li J, Jianyi Li, Kang Y, Ren W: Comparison of strain and shear-wave ultrasonic elastography in predicting the pathological response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancers. *Eur Radiol* 2016; 27: 2282–2291.
17. Jing H, Cheng W, Li ZY, Ying L, Wang QCh, Wu T, Tian JW: Early evaluation of relative changes in tumor stiffness by shear wave elastography predicts the response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *J Ultrasound Med* 2016; 35: 1619–1627.
18. Hayashi M, Yamamoto Y, Ibusuki M, Fujiwara S, Yamamoto S, Tomita S *et al.*: Evaluation of tumor stiffness by elastography is predictive for pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 3042–3049.
19. Lobbes M, Prevos R, Smidt M: Response monitoring of breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy using breast MRI – a review of current knowledge. *J Cancer Ther Res* 2012; 1: 34–43.
20. Dialani V, Chadashvili T, Slanetz PJ: Role of imaging in neoadjuvant therapy for breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2015; 22: 1416–1424.
21. Sadeghi-Naini A, Papanicolau N, Falou O, Zubovits J, Dent R, Verma S *et al.*: Quantitative ultrasound evaluation of tumor cell death response in locally advanced breast cancer patients receiving chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 2163–2174.
22. Brindle K: New approaches for imaging tumour responses to treatment. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 94–107.
23. Briffod M, Spyrtos F, Tubiana-Hulin M, Pallud C, Mayras C, Filleul A, Rouëssé J: Sequential cytopunctures during preoperative chemotherapy for primary breast carcinoma. Cytomorphologic changes, initial tumor ploidy, and tumor regression. *Cancer* 1989; 63: 631–637.
24. Kennedy S, Merino MJ, Swain SM, Lippman ME: The effects of hormonal and chemotherapy on tumoral and nonneoplastic breast tissue. *Hum Pathol* 1990; 21: 192–198.
25. Sadeghi-Naini A, Sannachi L, Tadayyon H, Tran W, Slodkowska E, Trudeau M *et al.*: Chemotherapy-response monitoring of breast cancer patients using quantitative ultrasound-based intra-tumour heterogeneities. *Sci Rep* 2017; 7: 10352.
26. Sannachi L, Tadayyon H, Sadeghi-Naini A, Tran W, Gandhi S, Wright F *et al.*: Non-invasive evaluation of breast cancer response to chemotherapy using quantitative ultrasonic backscatter parameters. *Med Image Anal* 2015; 20: 224–236.
27. Tadayyon H, Sannachi L, Gangeh M, Sadeghi-Naini A, Tran W, Trudeau ME *et al.*: Quantitative ultrasound assessment of breast tumor response to chemotherapy using a multi-parameter approach. *Oncotarget* 2016; 7: 45094–45111.
28. Oelze ML, Zachary JF, O'Brien WD Jr: Characterization of tissue microstructure using ultrasonic backscatter: theory and technique for op