

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI “FEDERICO II”

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE AVANZATE
DOTTORATO DI RICERCA
IN SCIENZE BIOMORFOLOGICHE E CHIRURGICHE
(XXXVI CICLO)**

Coordinatore: Prof. Alberto Cuocolo



TESI DI DOTTORATO

Predizione preoperatoria di metastasi dei linfonodi ascellari da carcinoma mammario utilizzando il machine learning applicato ad immagini ecografiche B-mode e di sonoelastografia shear-wave

Preoperative prediction of axillary lymph node metastasis in breast cancer using ML applied to b-mode and shear wave elastography US images

Tutore

Prof. Arturo Brunetti

Candidata

Dott.ssa Martina Caruso

Relatore

Dott.ssa Valeria Romeo

Indice

1. Introduzione	3
2. Obiettivo della ricerca	10
3. Materiali e Metodi	10
3.1 Popolazione di studio	10
3.2 Standard di riferimento	12
3.3. Acquisizione delle immagini	12
3.4 Conversione delle immagini e segmentazione	13
3.5 Pre-processing delle immagini ed estrazione delle features di radiomica	16
3.6 Standardizzazione e normalizzazione dei dati di radiomica	17
3.7 Ridistribuzione dei dati di radiomica	18
3.8 Studio multicentrico: selezione delle features di radiomica	18
3.9 Studio multicentrico: modello di ML per la predizione dello status linfonodale ascellare	19
3.10 Studio monocentrico SWE: selezione delle features di radiomica	20
3.11 Studio monocentrico SWE: modello di ML per la predizione dello status linfonodale ascellare	20
3.12 Analisi statistica	21
4. Risultati	21
4.1 Studio multicentrico: popolazione di studio	21
4.2 Studio monocentrico SWE: popolazione di studio	24

4.3 Studio multicentrico: analisi di ML per la predizione dello status linfonodale ascellare usando features di radiomica	27
4.4 Studio monocentrico SWE: analisi di ML per la predizione dello status linfonodale ascellare usando features di radiomica	34
5. Discussione	38
6. Bibliografia	45

1. Introduzione

Il carcinoma della mammella rappresenta la neoplasia maggiormente diagnosticata nelle donne, escludendo i carcinomi cutanei, secondo le stime AIRTUM (Associazione Italiana Registri Tumori) [1]. Tale dato viene confermato anche quando si stratifica l'incidenza per fasce di età, risultando così la neoplasia più frequente nelle fasce di età 0-49 anni, 50-69 anni e dai 70 anni in su. Parallelamente, il carcinoma della mammella rappresenta la prima causa di morte per tumore nella popolazione femminile. Di fronte ad un progressivo incremento annuo dell'incidenza (+0.3% per anno) si sta assistendo ad una riduzione del tasso di mortalità (-6% dal 2015 al 2020) grazie ad una maggiore diffusione dei programmi di screening ed ai continui progressi diagnostico-terapeutici [1]. Il tasso di sopravvivenza a 5 anni dalla diagnosi per le pazienti con carcinoma mammario localizzato è pari al 98.6%. Diversi studi hanno indagato quali caratteristiche del tumore primitivo fossero maggiormente correlate alla prognosi, come le dimensioni della neoplasia, il grado e l'istotipo, l'assetto recettoriale, l'attività proliferativa, l'espressione di Her2 e lo status dei linfonodi ascellari [2]. Tra questi le dimensioni del tumore, l'istotipo e lo status linfonodale ascellare rappresentano i fattori prognostici indipendenti; in particolare, lo status linfonodale è il più importante fattore prognostico sia per la sopravvivenza libera da malattia che per la sopravvivenza globale [3]. Infatti, la percentuale di sopravvivenza a 5 anni si riduce dal 98.6% all'84.4% quando c'è coinvolgimento dei linfonodi ascellari al momento della diagnosi, evento che si verifica nel 30-40% dei casi [4,5]. Tuttavia, è necessario sottolineare che la presenza di cellule tumorali isolate o di micrometastasi nel

linfonodo sentinella non influenza significativamente la prognosi, infatti risultano controllabili con le attuali terapie sistemiche [6].

Considerato il ruolo cruciale dello status dei linfonodi ascellari nella sopravvivenza a lungo termine e nel rischio di recidiva locoregionale in pazienti con carcinoma mammario, diventa particolarmente rilevante la loro adeguata ed accurata valutazione al momento della diagnosi, in quanto tale dato condiziona il successivo planning chirurgico-terapeutico. Storicamente la dissezione linfonodale ascellare, cioè l'asportazione di almeno dieci linfonodi dei livelli I e II contenuti nel cellulare lasso localizzato inferiormente alla vena ascellare e delimitato dal muscolo gran dorsale e dal margine mediale del muscolo piccolo pettorale, ha permesso un'accurata stadiazione patologica dello status linfonodale. Tuttavia, tale strategia operativa non è assolutamente scevra da complicanze, quale il linfedema del braccio e la neuropatia motoria, che si presentano nel 3.5-10.9% delle pazienti [7–9]. Questo dato in associazione all'osservazione che nel 43-65% delle pazienti sottoposte a dissezione linfonodale ascellare in seguito a positività del linfonodo sentinella non vengono rinvenuti ulteriori linfonodi metastatici, ha portato alla ricerca di una strategia operativa alternativa di approccio ai linfonodi ascellari nel carcinoma della mammella che permetta un buon bilanciamento tra l'aspettativa e la qualità di vita [10]. Due studi clinici randomizzati hanno confrontato, senza rilevare una differenza significativa, la sopravvivenza globale e la sopravvivenza libera da malattia tra due gruppi di pazienti con carcinoma della mammella della dimensione massima di 2 cm sottoposte a dissezione linfonodale ascellare di default o a dissezione linfonodale ascellare solo in

caso di positività del linfonodo sentinella [11,12]. In base a tali evidenze sono state formulate le indicazioni alla biopsia del linfonodo sentinella, che rappresenta allo stato lo standard terapeutico per le pazienti con carcinoma della mammella in stadio clinico I-II e linfonodi clinicamente negativi o sospetti, ma con esame cistomicroistologico preoperatorio negativo. Invece, le indicazioni alla dissezione linfonodale ascellare sono rappresentate dalla presenza di linfonodi ascellari clinicamente patologici o sospetti confermati dall'esame citoistologico preoperatorio, dal mancato reperimento del linfonodo sentinella, dai tumori T4 e dal carcinoma infiammatorio [13]. Con l'obiettivo di migliorare non solo l'aspettativa di vita, ma soprattutto la qualità di vita delle pazienti affette da carcinoma mammario, si sta assistendo ad una vera e propria de-escalation nel trattamento chirurgico dei linfonodi ascellari. Infatti, è stata valutata l'opzione terapeutica di omettere la dissezione linfonodale ascellare in pazienti con carcinoma mammario invasivo cT1-2 (<5 cm), linfonodi clinicamente negativi, con macrometastasi in 1-2 linfonodi sentinella e sottoposte a chirurgia conservativa, radioterapia e terapia sistemica post-operatoria. In dettaglio, è stato condotto negli USA un trial clinico randomizzato "ACOSOG Z0011" in cui non è stata rilevata alcuna differenza tra i due gruppi di studio (linfonodo sentinella + dissezione linfonodale in caso di linfonodo sentinella positivo vs asportazione di fino a due linfonodi sentinella con macrometastasi) in termini di sopravvivenza globale, sopravvivenza libera da malattia e recidive loco-regionali ad un follow-up mediano di 9.5 anni [14]. Al fine di ottenere ulteriori conferme di questi dati sono stati disegnati e sviluppati in Europa altri studi simili. In particolare, lo studio SINODAR ONE, condotto in Italia e conclusosi

nel 2020, ha confermato l'assenza di recidive ascellari nei due gruppi di studio (linfonodo sentinella + dissezione linfonodale vs asportazione del solo linfonodo sentinella con macrometastasi) ad un follow-up mediano di 24 mesi [15]. Recentemente sono stati pubblicati i risultati dello studio prospettico e multicentrico di non-inferiorità "SOUND" (Sentinel Node vs Observation after Axillary Ultrasound) che ha confrontato la biopsia del linfonodo sentinella e l'omissione della chirurgia ascellare in pazienti con carcinoma mammario del diametro massimo di 2 cm che non avevano linfonodi sospetti all'esame ecografico [16]. Non è stata osservata una differenza statisticamente significativa nella sopravvivenza libera da malattia a cinque anni tra i due gruppi di studio. Pertanto, sulla base di queste forti evidenze scientifiche, il tempo chirurgico ascellare può essere omesso nelle pazienti con carcinoma mammario <2 cm e linfonodi negativi all'esame ecografico. Questi risultati sottolineano e sono un'ulteriore conferma della necessità di un'adeguata valutazione strumentale e non invasiva dei linfonodi ascellari al momento della diagnosi. Infatti, non bisogna dimenticare che tale dato rappresenta un importante fattore prognostico ed influenza il planning chirurgico-terapeutico. Nello stesso tempo dovrebbe anche essere evitato l'overtreatment chirurgico del cavo ascellare, per ridurre quanto possibile le morbidità ad esso legate. In questo contesto, la diagnostica per immagini non può che avere un ruolo di primo piano nella valutazione non invasiva dei linfonodi ascellari ed è adiuvata in questo arduo compito dall'anatomia patologica chiamata in causa per la valutazione del prelievo citologico o istologico eseguito su linfonodi dubbi o fortemente sospetti all'imaging. Inoltre, non bisogna dimenticare che nel 12.6% dei

casi la biopsia del linfonodo sentinella è falsamente negativa, pertanto a maggior ragione è opportuna un'adeguata valutazione non invasiva dei linfonodi ascellari [17].

La valutazione dello status linfonodale può essere eseguita con diverse metodiche, quali l'ecografia, la risonanza magnetica (RM) e la tomografia ad emissione di positroni con fluoro-desossiglucosio (PET-FDG) [18]. Tra queste l'ecografia, considerata la tecnica più accurata per la definizione dello status linfonodale ascellare, rappresenta senza dubbio la metodica maggiormente utilizzata, grazie alla sua ampia disponibilità, facilità di esecuzione e consente anche di eseguire prelievi citoistologici. Fornisce informazioni qualitative ed i segni ecografici sospetti del coinvolgimento linfonodale sono i seguenti: l'ispessimento, talvolta irregolare, della corticale ($>3\text{mm}$), la perdita della rappresentazione dell'ilo adiposo, la perdita della morfologia ovalare o reniforme e la vascolarizzazione periferica [19]. Tuttavia, l'ecografia mammaria è gravata da una variabile specificità (53%-97%) e da una relativamente alta sensibilità (87%) per la definizione dello status linfonodale ascellare [20]. La RM, con la valori di sensibilità e specificità rispettivamente dell'81% e dell'84%, ha un ruolo limitato nel planning preoperatorio [18]. Infatti, nella pratica clinica, in caso di positività dell'esame RM e di negatività dell'esame ecografico, c'è un rischio significativo di un falso positivo dello status linfonodale ascellare con conseguente overtreatment della patologia oncologica. Infine, la performance diagnostica della PET nella valutazione dello status linfonodale è molto influenzata dall'istotipo, performando meglio nei sottotipi basal-like che in quelli luminali [21].

Negli ultimi anni, è cresciuto significativamente l'interesse verso strumenti di

intelligenza artificiale applicati all'imaging medico che possano essere di ausilio nella predizione di outcome di interesse clinico. Tali algoritmi sono in grado di analizzare una grande mole di dati proveniente da immagini radiologiche ottenute mediante tecniche di radiomica. In dettaglio, la radiomica, è una tecnica di analisi che consente di estrarre dati quantitativi (features) che sono espressione della distribuzione dei pixel all'interno dell'immagine stessa. Il razionale alla base è che i dati quantitativi estratti possano essere espressione del substrato anatomopatologico di una lesione tumorale e quindi del suo comportamento biologico [22]. Pertanto, allo stato si stanno conducendo numerosi studi con l'obiettivo di comprendere meglio tali relazioni e di costruire modelli predittivi e strumenti di supporto decisionale potenzialmente utili nella pratica clinica utilizzando software di intelligenza artificiale, come algoritmi di machine learning (ML). Il ML è un metodo di analisi dei dati che automatizza la costruzione di modelli decisionali; cioè attraverso delle variabili di input (i dati quantitativi estratti dall'analisi radiomica) è possibile addestrare un software che tramite sistemi di analisi matematica e statistica darà un output preciso. Lo scopo è riuscire a generalizzare la conoscenza appresa anche su dati diversi da quelli di addestramento. Le numerose ricerche nel campo della radiomica sono alimentate dall'esigenza crescente di personalizzare le cure mediche ricorrendo anche ad approcci diagnostici sempre meno invasivi. Allo stato, numerose sono state le applicazioni della radiomica nel carcinoma mammario utilizzando immagini ecografiche, mammografiche e di RM con diversi obiettivi, quali la caratterizzazione delle lesioni mammarie, la predizione del sottotipo molecolare e della prognosi in pazienti con

carcinoma mammario [23–25]. Inoltre, in letteratura sono stati pubblicati numerosi studi incentrati sulla definizione dello status linfonodale estraendo parametri quantitativi da diverse metodiche, soprattutto dalle immagini di RM, con risultati molto promettenti ed incoraggianti [19,26–30]. Chai et al. hanno costruito un modello predittivo per lo status dei linfonodi ascellari con un’elevata accuratezza diagnostica (area under the curve -AUC: 0.91), utilizzando dati quantitativi estratti dalle immagini post-contrastografiche di RM della mammella integrati con parametri cinetici quantitativi [31]. Allo stato gli studi condotti su immagini ecografiche con lo scopo di predire lo status linfonodale ascellare non sono numerosi, soprattutto se si selezionano gli studi multi-centrici [19,32–34]. È stata osservata una buona performance diagnostica dell’ecografia con valori di AUC compresi tra 0.75 e 0.85 integrando i dati di radiomica con i dati clinico-patologici [19,32–34].

Una relativamente nuova tecnica ecografica, la sonoelastografia, è stata ampiamente studiata per valutarne il potenziale ruolo nel migliorare l’accuratezza diagnostica dell’ecografia in B-mode nella caratterizzazione delle lesioni mammarie, così da migliorarne il management [35–40]. Tale tecnica d’imaging valuta l’elasticità dei tessuti in maniera non invasiva ed il suo razionale è rappresentato dal fatto che questa caratteristica è influenzata dall’istologia; pertanto, il tessuto neoplastico sarà più rigido del normale parenchima mammario, le lesioni benigne saranno più elastiche di quelle maligne [41]. Tra le varie tecniche sonoelastografiche disponibili, la shear-wave elastography (SWE) merita di essere menzionata in quanto fornisce sia informazioni qualitative sotto forma di mappa colorimetrica che si sovrappone all’immagine in B-

mode sia informazioni quantitative ottenute posizionando una region of interest (ROI) sul campo di studio. Inoltre, tale tecnica sonoelastografica risulta meno operatore-dipendente rispetto alla strain elastography (SE) [42]. Quindi, la SWE valutando l'elasticità dei tessuti, ne riflette il substrato anatomopatologico e di conseguenza la loro eterogeneità. Allo stato, un nuovo filone di ricerca in espansione sta indagando se l'applicazione di tecniche di intelligenza artificiale ad immagini di SWE può contribuire a migliorare l'accuratezza diagnostica dell'ecografia multiparametrica nella predizione non-invasiva dello status linfonodale ascellare in pazienti con carcinoma mammario [43]. Zheng et al. hanno sviluppato un modello predittivo basato sull'integrazione di dati clinici e parametri quantitativi estratti da immagini ecografiche sia in B-mode che con la SWE raggiungendo un'elevata accuratezza diagnostica [44].

2. Obiettivo della ricerca

Lo scopo di questo studio retrospettivo è di valutare l'accuratezza diagnostica di un approccio di ML applicato ad immagini ecografiche sia in B-mode che sonoelastografiche shear-wave per la predizione dello status linfonodale ascellare analizzando l'eterogeneità della lesione mammaria primitiva.

3. Materiali e metodi

3.1 Popolazione di studio

Con disegno di studio retrospettivo e multicentrico, sono stati arruolati pazienti con

prima diagnosi di carcinoma mammario eseguita presso l'U.O.C. di Diagnostica per Immagini e Radioterapia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria "Federico II" di Napoli (Istituto 1), l'U.O.C. di Radiologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria OO. RR. "San Giovanni di Dio e Ruggi D'Aragona" di Salerno (Istituto 2) e l'U.O.C. di Diagnostica per Immagini dell'Azienda Ospedaliera "San Pio" di Benevento (Istituto 3) dal mese di Gennaio del 2018 al mese di Luglio del 2023. I seguenti dati sono stati raccolti dalle cartelle cliniche di ogni paziente: età al momento della diagnosi, diametro massimo della lesione, grading, istotipo e sottotipo molecolare del carcinoma mammario e status dei linfonodi ascellari (negativo vs positivo per micro o macrometastasi). Le indicazioni cliniche all'esecuzione dell'esame ecografico sono state le seguenti: controllo senologico di routine, valutazione di noduli palpabili o approfondimento diagnostico di noduli mammari repertati presso altra sede. Gli esami ecografici sono stati eseguiti da radiologi dedicati all'imaging senologico con un'esperienza in questo campo variabile tra gli 8 ed i 20 anni. I requisiti di inclusione comprendevano: pazienti con età superiore ai 18 anni con diagnosi accertata di carcinoma mammario e per i quali era disponibile lo status linfonodale ascellare, inteso come biopsia o citologia di linfonodi clinicamente sospetti, biopsia del linfonodo sentinella o esame istologico della dissezione linfonodale ascellare. Sono stati applicati i seguenti criteri di esclusione: pazienti con pregressa diagnosi di carcinoma mammario o dei quali non era disponibile l'esame ecografico prima dell'inizio della chemioterapia neoadiuvante, immagini ecografiche non disponibili o non adatte per l'analisi di radiomica, non disponibilità del dato anatomopatologico dei linfonodi ascellari.

Inoltre, con disegno di studio retrospettivo e monocentrico realizzato presso l'Istituto 1 sono state arruolate retrospettivamente dal mese di Gennaio del 2021 al mese di Luglio del 2023 pazienti con prima diagnosi di carcinoma mammario dei quali erano disponibili le immagini ecografiche sia in B-mode che con la SWE adatte per l'analisi di radiomica. Sono stati seguiti gli stessi criteri di inclusione ed esclusione sopra riportati per lo studio multicentrico, così come sono stati raccolti dalle cartelle cliniche i dati anamnestici e clinico-patologici precedentemente descritti, analoghe sono state le indicazioni cliniche all'esecuzione dell'esame ecografico.

3.2 Standard di riferimento

Lo status dei linfonodi ascellari è stato stabilito sulla base dell'esame citologico o della biopsia di linfonodi ascellari clinicamente sospetti, dell'esame anatomopatologico del linfonodo sentinella o dei linfonodi asportati con la dissezione ascellare.

3.3 Acquisizione delle immagini

Gli esami ecografici della mammella in B-mode sono stati acquisiti mediante ecografo LOGIQ S8, GE Healthcare, disponibile presso i tre Istituti utilizzando una sonda lineare ad alta frequenza (6-15 MHz) mediante scansioni radiali, trasversali e longitudinali su entrambe le mammelle.

Inoltre, nell'Istituto 1 le lesioni mammarie sono state valutate anche mediante SWE, impiegando una sonda lineare dedicata (9 MHz). Per l'analisi sonoelastografica, la

sonda è stata posizionata perpendicolarmente alla cute prima sul tessuto adiposo per settare l'apparecchio e poi sulla lesione mammaria da analizzare, facendo particolare attenzione ad esercitare la minor pressione possibile e restando immobili per almeno 5-20 secondi al fine di stabilizzare l'immagine ed evitare artefatti. Inoltre, i pazienti sono stati invitati a trattenere il respiro. Il campo di interesse, rappresentato da un box rettangolare, è stato posizionato in modo da includere l'intera lesione ed il tessuto normale circostante (spessore di almeno 3 mm). L'elasticità delle diverse componenti tissutali incluse nel campo di interesse è rappresentata sotto forma di mappa colorimetrica, l'elastogramma, sovrapposta all'immagine ecografica in B-mode. La scala colorimetrica varia dal blu intenso al rosso, rappresentando con questi due estremi di colore rispettivamente i tessuti molto elastici e quelli molto duri [40].

Le immagini DICOM sia in B-mode che in SWE sono state registrate e conservate negli archivi digitali dei tre Istituti.

3.4 Conversione delle immagini e segmentazione

Le immagini ecografiche sono state valutate da un radiologo con 8 anni di esperienza nell'imaging senologico che ha selezionato un'unica immagine ecografica DICOM in B-mode ed un'unica immagine DICOM SWE per ciascuna lesione mammaria oggetto di studio. In dettaglio, sono state selezionate immagini 2D B-mode in cui la lesione mammaria era completamente inclusa, non erano presenti né artefatti né tracce di misurazione, ed immagini SWE prive di artefatti in cui il campo di interesse includeva l'intera lesione ed una parte del parenchima normale circostante. Tutte le immagini

ecografiche selezionate sono state convertite con lo strumento Image del pacchetto PILLOW Python (v10.0.1) da RGB a tre canali in scala di grigi.

Successivamente, lo stesso radiologo ha eseguito la segmentazione manuale delle lesioni utilizzando un software dedicato (ITKSNAP, v3.8.0) così da ottenere delle ROI 2D che includessero l'intera lesione (**Figura 1**). Particolare cura è stata posta nelle segmentazioni delle lesioni in modo da restare all'interno dei margini delle stesse.

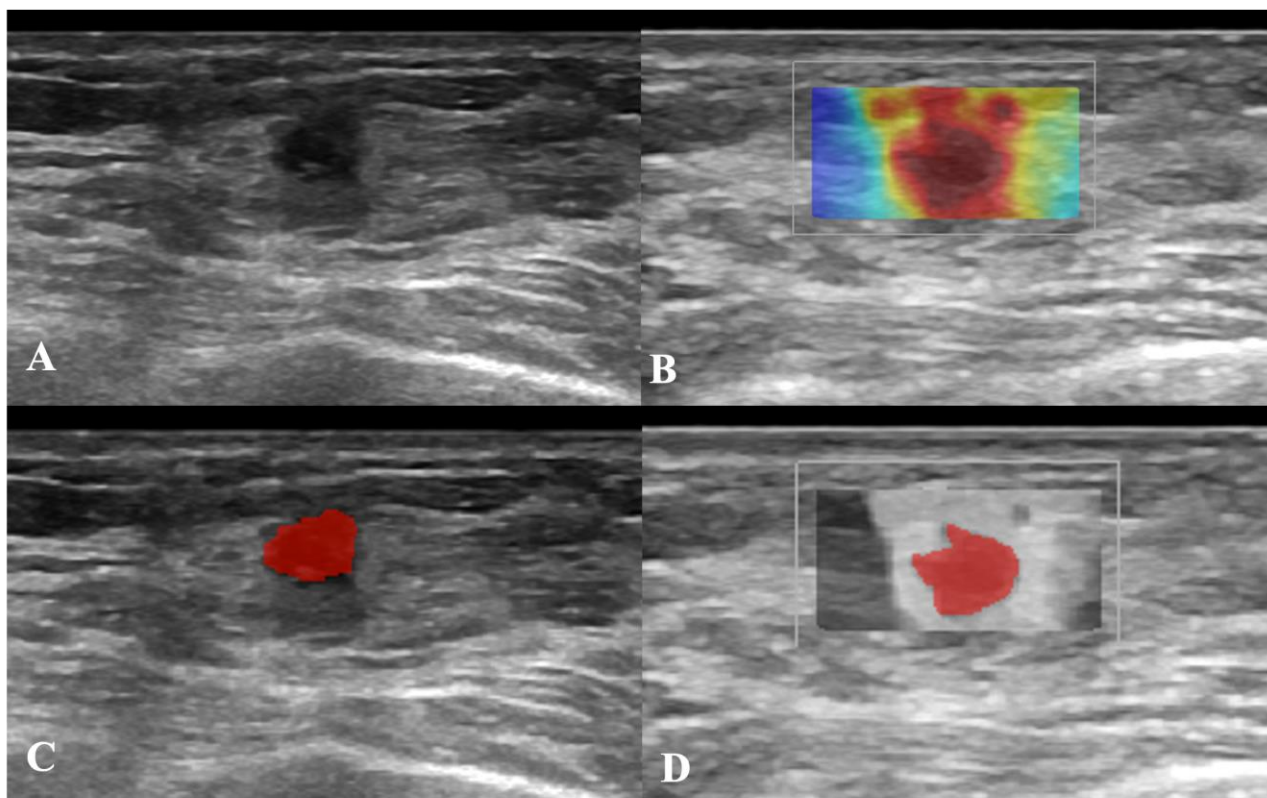


Figura 1. Esempi di segmentazione manuale di una lesione mammaria valutata con l'ecografia in B-mode (A) e con la SWE (B). Le figure C e D mostrano il posizionamento, mediante disegno manuale, di una regione di interesse (ROI) su una lesione mammaria valutata ecograficamente in B-mode e con la SWE, rispettivamente.

Inoltre, per verificare la robustezza delle features di radiomica estratte dalle immagini ecografiche in B-mode e sonoelastografiche alle possibili variazioni dovute al processo di segmentazione stesso, altri due radiologi esperti hanno annotato indipendentemente un sottogruppo casuale di 30 pazienti estratti dal dataset, utilizzato per l'analisi di riproducibilità inter-osservatore.

3.5 Pre-processing delle immagini ed estrazione delle features di radiomica

I passaggi di pre-processing ed estrazione delle features 2D di radiomica sono stati realizzati in conformità con le raccomandazioni dell'Imaging Biomarker Standardization Initiative impiegando il software gratuito PyRadiomics (v3.0.1) [45]. Prima dell'estrazione delle features di radiomica i pixel sono stati ricampionati a dimensioni 3x3. Inoltre, si è resa necessaria la normalizzazione delle immagini nei livelli di grigio con un intervallo compreso tra 0 e 600, in quanto pur essendo acquisite con gli stessi scanners, erano state utilizzate impostazioni differenti. Come suggerito dagli sviluppatori, una larghezza fissa del bin (pari a 3) è stato utilizzata per la discretizzazione dei valori. Per incrementare le differenze in termini di eterogeneità delle ROI e per ridurre il rumore, sono stati applicati alle immagini dei filtri, quali la "Laplacian of Gaussian" (LoG, $\sigma=3, 4, 5$) e la trasformata Wavelet con coefficienti passa-basso e passa-alto sui piani x e y. Nel dettaglio, il filtro LoG esegue un'operazione di smoothing dell'immagine, esaltando i bordi strutturali all'interno dell'immagine di interesse. Il valore di sigma definisce la finezza o la grossolanità dell'output risultante (più basso è il valore del sigma, maggiore sarà il dettaglio

dell'immagine). La trasformata Wavelet consente di rimuovere le aree di basso segnale dall'immagine. Usando combinazioni di filtri con coefficienti passa-basso e passa-alto, l'immagine nativa è scomposta in diversi componenti, che amplificano il segnale originale.

Sono state estratte le seguenti classi delle features di radiomica: 2D shape, first order, gray level co-occurrence matrix (GLCM), gray level run length matrix, gray level size zone matrix, e gray level dependence matrix. Dal momento che l'acquisizione delle immagini può variare in termini di profondità o di ingrandimento e per evitare bias, sono state incluse solo le features 2D shape adimensionali, quali perimeter-surface ratio, sphericity ed elongation. Per le restanti classi, sono state estratte tutte le features disponibili, ad eccezione della GLCM sum average, che, come suggerito dagli sviluppatori di PyRadiomics, è ridondante rispetto alle altre.

3.6 Standardizzazione e normalizzazione dei dati di radiomica

Per far sì che l'algoritmo di ML convergesse a risultati ottimali, i dati sono stati normalizzati o standardizzati, ovvero è stata applicata una formula per ricalibrare i valori all'interno di un intervallo definito, ad esempio [0,1]. Nello specifico per la standardizzazione è stato applicato l'algoritmo $x' = \frac{x-\mu}{\sigma}$, dove μ e σ sono, rispettivamente, la media e la varianza di tutti i valori del gruppo di training. Ogni valore x viene standardizzato nel valore x' . Mentre per la normalizzazione è stato applicato l'algoritmo $x' = \frac{x-\min(x)}{\max(x) - \min(x)}$, dove $\min(x)$ è il valore minimo della

variabile in esame e $\mathbf{max}(x)$ è il valore massimo della variabile in esame. Ogni valore x viene normalizzato nel valore x' . Tale operazione è stata eseguita su tutti i gruppi di studio.

3.7 Ridistribuzione dei dati di radiomica

Siccome il dataset risultava caratterizzato dalla presenza di molte variabili distribuite in intervalli di piccoli valori molto prossimi tra loro, è stata applicata una funzione sigmoide $\mathbf{S}(x) = \frac{1}{1+e^{-x}}$ così da ridistribuire i dati nell'intero intervallo standard, mantenendo l'informazione intatta. Ogni valore x viene convertito nel valore $\mathbf{S}(x)$. Tale operazione è stata eseguita su tutti i gruppi di studio.

3.8 Studio multicentrico: selezione delle features di radiomica

Le features di radiomica estratte sia dalle immagini originali che da quelle filtrate sono state successivamente selezionate con il fine di identificare il set finale delle features robuste su cui costruire il modello di ML. Nel meccanismo di selezione, le features di radiomica non stabili a segmentazioni ripetute sono state eliminate utilizzando l'analisi dell'Intraclass Correlation Coefficient (ICC) con valore inferiore a 0.75 dell'intervallo di confidenza al 95%. Per ridurre ulteriormente le features, è stata applicata alle n features ottenute (input) la principal component analysis (PCA) variando il numero di features da ottenere come output. In particolare, si è valutato l'intero range da 1 ad n features, ovvero applicando molteplici volte la PCA per ridurre tutti i set ad f feature

richieste, che verranno poi utilizzate nell'algoritmo di classificazione.

3.9 Studio multicentrico: modello di ML per la predizione dello status linfonodale ascellare

Random Forest (RF) è stato utilizzato come classificatore di ML per valutare quali tra le features di radiomica estratte fossero utili per la predizione dello status linfonodale ascellare (negativo vs positivo per metastasi). Il classificatore RF è composto da numerosi alberi decisionali ed è utile soprattutto per correggere eventuali problemi derivanti dall'overfitting. Nello specifico, viene calcolata la media di multipli alberi decisionali, che vengono addestrati su diversi sottogruppi estratti dallo stesso gruppo di training, in questo modo si evita l'overfitting. Per calcolare la performance di ogni algoritmo sono stati fatti variare sia le features di input, come spiegato precedentemente, con PCA, che gli iperparametri del classificatore, in particolare per RF il numero di estimatori, la profondità massima degli alberi di decisione (decision tree) ed il valore casuale di inizializzazione. Il numero delle features massime viene tenuto fisso e pari al numero delle features in input. Infine, la performance diagnostica del classificatore RF è stata valutata usando media e varianza su esperimenti ripetuti del parametro Matthews Correlation Coefficient (MCC). MCC consente di calcolare l'accuratezza di classificazione nel caso di dati non bilanciati, ovvero quando gli esempi positivi e negativi dello status linfonodale ascellare non sono forniti nella stessa proporzione, come nel nostro studio.

3.10 *Studio monocentrico SWE: selezione delle features di radiomica*

Nel meccanismo di selezione, le features di radiomica ritenute non stabili nel contesto di segmentazioni manuali ripetute sono state eliminate mediante l'analisi dell'ICC, utilizzando un valore di 0.75 del limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% come soglia. Altresì sono state rimosse le features a bassa varianza (< 0.01) e quelle altamente correlate tra loro ($r > 0.80$) al test di Pearson. A questo punto, sul gruppo di training è stata applicata una tecnica di oversampling, Synthetic Minority Oversampling Technique (SMOTE), per creare nuove istanze (cioè pazienti sintetici) della classe minoritaria per interpolazione dei dati da k istanze più vicine della popolazione originale con la stessa classe. Il processo è stato ripetuto finché le due classi sono risultate perfettamente bilanciate [46]. Infine, sono state selezionate le variabili più informative tramite l'information gain, impostando come valore soglia 0.001.

3.11 *Studio monocentrico SWE: modello di ML per la predizione dello status linfonodale ascellare*

Per la predizione dello status linfonodale ascellare è stato selezionato l'algoritmo di ML Simple Logistic dal software WEKA. Le prestazioni dell'algoritmo sono state valutate sul gruppo di training attraverso una 10-fold cross validation. Questo approccio è più robusto di una singola divisione training-test e ci si può aspettare che dia una migliore stima della generalizzabilità dei risultati [47]. Nella cross-validation stratificata, ciascun gruppo in cui i dati sono suddivisi conserva l'equilibrio di classe e

viene utilizzato come gruppo di validazione per un algoritmo addestrato sui restanti gruppi. Poi, il modello finale è stato applicato all'intero gruppo di training e testato sui dati del gruppo di test. L'analisi di ML è stata condotta utilizzando il software Weka (v.3.9.6).

3.12 Analisi statistica

Il test di Shapiro-Wilk è stato eseguito per valutare se i dati erano normalmente distribuiti. Il test Mann-Whitney U è stato eseguito per valutare le differenze in termini di età e dimensioni (diametro massimo) delle lesioni tra pazienti nei diversi gruppi di studio. L'analisi statistica è stata condotta usando il software IBM SPSS Statistics (versione 29.0.1.0).

4. Risultati

4.1 Studio multicentrico: popolazione di studio

Per lo studio retrospettivo multicentrico sul ruolo del ML applicato all'ecografia in B-mode nella predizione dello status linfonodale ascellare in pazienti con carcinoma mammario, sulla base dei criteri di inclusione ed esclusione, sono stati retrospettivamente arruolati 123 pazienti (età media 56.4 anni, range 27-86 anni), di cui 3 di sesso maschile, con un totale di 139 lesioni nell'Istituto 1, 112 pazienti di sesso femminile con un totale di 112 lesioni (età media 56.7 anni, range 29-90 anni) nell'Istituto 2, 42 pazienti di sesso femminile con un totale di 42 lesioni (età media

61.3 anni, range 39-84 anni) nell'Istituto 3. Inoltre, riguardo al dataset fornito dall'Istituto 1, 9 pazienti avevano carcinomi mammari multicentrici o multifocali con analoghe caratteristiche istologiche e morfologiche, di cui 5 con status linfonodale ascellare negativo e 4 con status linfonodale ascellare positivo; 6 pazienti avevano un carcinoma mammario bilaterale.

Il diametro medio delle lesioni analizzate è stato pari a 16.7 mm (range: 4-61 mm) nel gruppo arruolato nell'Istituto 1, pari a 22.25 mm (range: 4-100 mm) nel gruppo arruolato nell'Istituto 2 e pari a 19.3 mm (range 4-60 mm) nel gruppo arruolato nell'Istituto 3.

Le caratteristiche delle lesioni e del corrispondente status linfonodale ascellare sono descritte nella **Tabella 1**.

Tabella 1. Status dei linfonodi ascellari e caratteristiche istologiche delle lesioni mammarie analizzate nei tre Istituti.

	Istituto 1 <i>N° delle lesioni (%)</i>	Istituto 2 <i>N° delle lesioni (%)</i>	Istituto 3 <i>N° delle lesioni (%)</i>
Status linfonodi ascellari			
Negativo	77 (55.4%)	75 (67%)	24 (57.1%)
Positivo	62 (44.6%)	37 (33%)	18 (42.9%)
Istotipo			
Carcinoma invasivo NST*	111 (79.9%)	86 (76.8%)	32 (76.2%)
Carcinoma Lobulare Infiltrante	19 (13.7%)	10 (8.9%)	6 (14.3%)
Altri istotipi	9 (6.4%)	16 (14.3%)	4 (9.5%)
Sottotipo Molecolare			
Luminal A	51 (36.7%)	33 (29.5%)	6 (14.3%)
Luminal B	69 (49.6%)	64 (57.1%)	12 (28.5%)
Her2+	2 (1.4%)	4 (3.6%)	22 (52.4%)
Triplo negativo	17 (12.3%)	11 (9.8%)	2 (4.8%)
Grading tumorale			
G1	14 (10.1%)	17 (15.2%)	2 (4.8%)
G2	67 (48.2%)	47 (42%)	23 (54.8%)
G3	58 (41.7%)	48 (42.8%)	17 (40.4%)

*NST= non-special type

Per l'analisi di ML i tre datasets forniti dai tre Istituti sono stati prima uniti per poi essere divisi casualmente in tre gruppi: 1) il gruppo di training composto da 233 lesioni mammarie (140 con status linfonodale negativo e 93 con status linfonodale positivo), 2) il gruppo di validazione composto da 30 lesioni mammarie (17 con status linfonodale negativo e 13 con status linfonodale positivo); 3) il gruppo di test composto da 30 lesioni mammarie (18 con status linfonodale negativo e 12 con status linfonodale positivo). È stata osservata una differenza statisticamente significativa tra il gruppo di validazione ed i gruppi di training e di test in termini di età e di dimensione massima della lesione ($p < 0.001$). Al contrario non sono state rinvenute differenze statisticamente significative tra i gruppi di training e di test in termini di età ($p = 0.625$) e di dimensione massima della lesione ($p = 0.793$).

4.2 Studio monocentrico SWE: popolazione di studio

Per lo studio retrospettivo monocentrico sul ruolo del ML applicato all'ecografia in B-mode integrata con la valutazione sonoelastografica nella predizione dello status linfonodale ascellare in pazienti con carcinoma mammario, in base ai criteri di inclusione ed esclusione sono stati retrospettivamente arruolati 116 pazienti (età media 56.3 anni; range 27-86 anni) di cui 3 di sesso maschile, con un totale di 133 lesioni mammarie nell'Istituto 1. Nove pazienti avevano carcinomi mammari multicentrici o multifocali con analoghe caratteristiche istologiche e morfologiche, di cui 5 avevano lo status linfonodale negativo, mentre 4 lo status linfonodale positivo. Inoltre, 6 pazienti avevano un carcinoma mammario bilaterale. Il diametro medio delle lesioni

analizzate è stato pari a 16.7 mm (range: 4-61 mm).

Le caratteristiche delle lesioni e del corrispondente status linfonodale ascellare sono descritte nella **Tabella 2**.

Tabella 2. Status dei linfonodi ascellari e caratteristiche istologiche delle lesioni mammarie valutate ecograficamente sia in B-mode che con la SWE arruolate nell'Istituto 1.

	<i>N° delle lesioni (%)</i>
Status linfonodi ascellari	
Negativo	76 (57.1%)
Positivo	57 (42.9%)
Istotipo	
Carcinoma invasivo NST	106 (79.7%)
Carcinoma Lobulare Infiltrante	18 (13.5%)
Altri istotipi	9 (6.8%)
Sottotipo Molecolare	
Luminal A	49 (36.8%)
Luminal B	67 (50.4%)
Her2+	1 (0.8%)
Triplo negativo	16 (12.0%)
Grading tumorale	
G1	13 (9.8%)
G2	68 (51.1%)
G3	52 (39.1%)

*NST= non-special type

Il dataset è stato diviso casualmente in due gruppi: 1) il gruppo di training composto da 89 lesioni mammarie (67%) (52 con status linfonodale negativo e 37 con status linfonodale positivo); 2) il gruppo di test composto da 44 lesioni mammarie (33%) (24 con status linfonodale negativo e 20 con status linfonodale positivo). Non è stata osservata una differenza significativa in termini di età ($p=0.479$) e diametro massimo della lesione ($p=0.805$) tra i due gruppi di studio.

4.3 Studio multicentrico: analisi di ML per la predizione dello status linfonodale ascellare usando features di radiomica

In totale sono state estratte 549 features di radiomica dalle immagini ecografiche in B-mode. Di queste 280 sono state eliminate perché risultate poco stabili all'analisi dell'ICC. Alle restanti 269 features è stato applicato 268 volte la PCA al fine di ridurre ulteriormente il numero di quelle che verranno poi utilizzate nell'algoritmo di classificazione RF per la predizione dello status linfonodale ascellare (negativo vs positivo per metastasi). Sono stati impostati i seguenti iper-parametri al classificatore RF: relative tolerance = 0.95; standardization = true; sigmoid = true; number of seeds = 20; maximum depth = 7; estimators step = 5; maximum estimators = 100; variable first = 1; variable last = 10. In un intervallo compreso tra 1 e 10 variabili finali si è osservato che RF convergeva verso valori medi di MCC più grandi nel gruppo di validazione e pertanto si è proceduto ad individuare in tale intervallo il numero di variabili con cui il classificatore performava meglio. Nello specifico, nel gruppo di validazione, la performance del classificatore RF è stata al di sopra del valore medio

della media dei valori di MCC ottenuti dalle 20 simulazioni eseguite per ogni numero di variabili considerate quando sono stati usati da n. 5 a n. 10 variabili ($MCC < 0.2$) **(Figura 2)**.

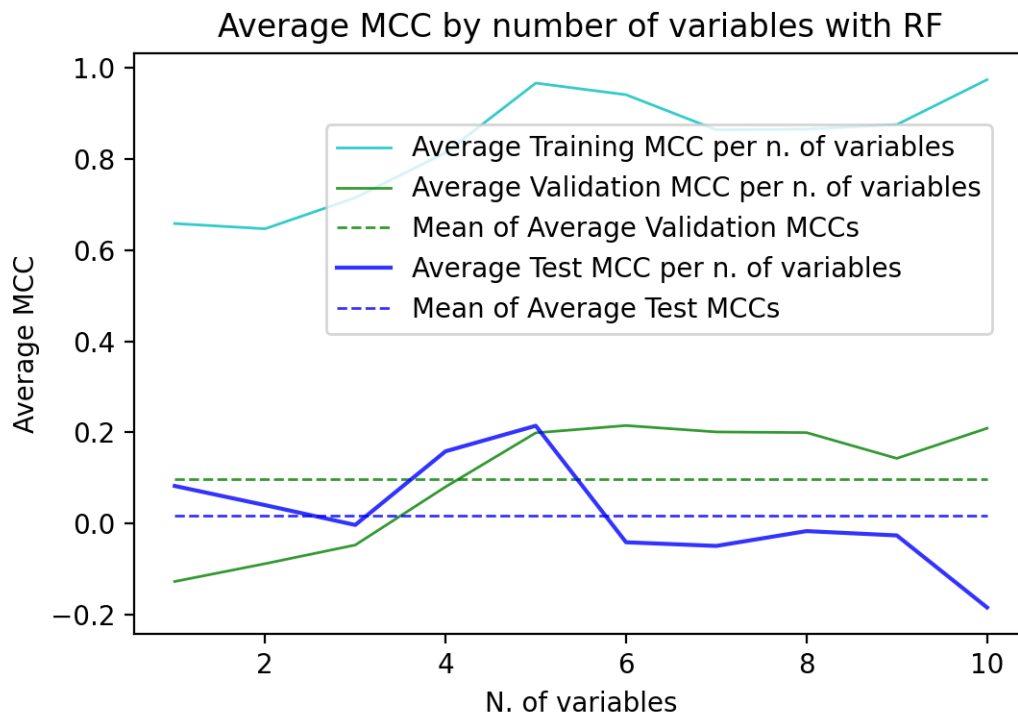


Figura 2. Rappresentazione grafica dei valori medi di MCC ottenuti dalle 20 simulazioni eseguite per ogni numero di variabili nell'intervallo compreso tra 1 e 10 variabili (linee continue) e della media dei valori medi di MCC ottenuti nello stesso intervallo di variabili nei gruppi di validazione e di test (linee tratteggiate).

Inoltre, analizzando il gruppo di validazione, si è osservato che la varianza dei valori di MCC ha valori minimi nell'intorno di 4 variabili, ovvero il classificatore è più preciso sui valori medi di MCC della parte bassa dell'intervallo [5,10] (superiore al valor medio) e pertanto si è osservato che il classificatore RF performa meglio con n. 5 variabili (**Figura 3**).

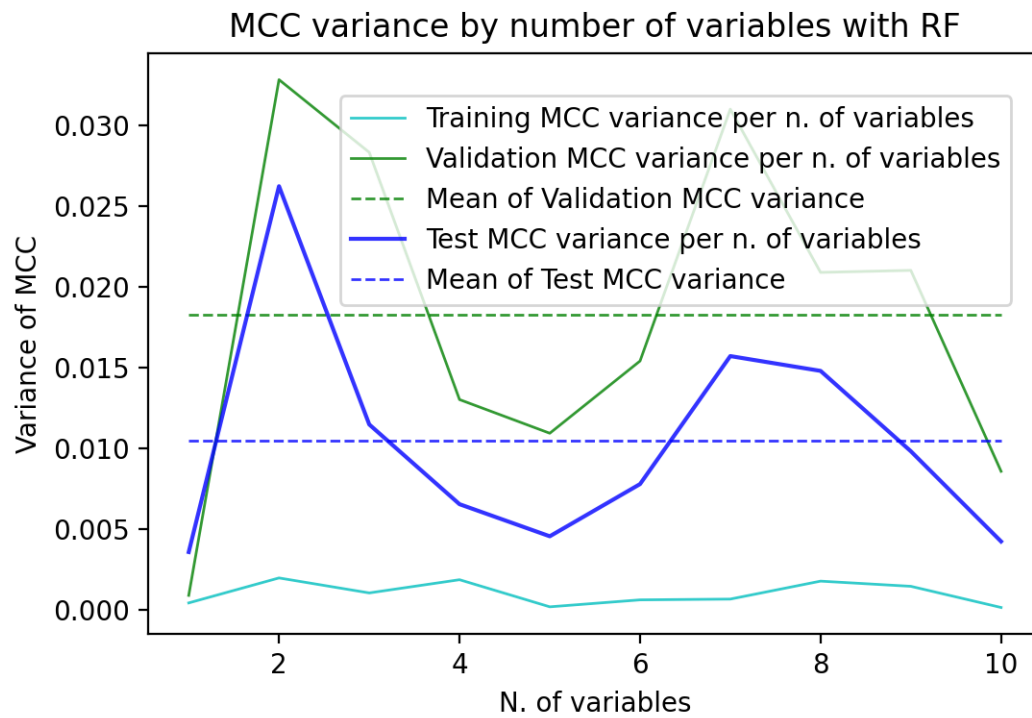


Figura 3. Rappresentazione grafica del valore medio di varianza ottenuto dalle 20 simulazioni eseguite per ogni numero di variabili nell'intervallo compreso tra 1 e 10 variabili (linee continue) e della media dei valori medi di varianza ottenuti nello stesso intervallo di variabili nei gruppi di validazione e di test (linee tratteggiate).

Nel dettaglio la performance migliore del classificatore è risultata in un valore di MCC pari a 0.97 nel gruppo di training, pari a 0.11 nel gruppo di validazione e pari a 0.08 nel gruppo di test (**Tabella 3**).

Tabella 3. Tabella di classificazione 2x2 del confronto tra le prestazioni dell'algoritmo ML applicato alle immagini ecografiche in B-mode e lo standard di riferimento nella predizione dello status linfonodale ascellare sul gruppo di test.

		ML		Totale
		Status linfonodale negativo	Status linfonodale positivo	
Standard di riferimento (anatomia patologica)	Status linfonodale negativo	12	6	18
	Status linfonodale positivo	7	5	12
	Totale	19	11	30

4.4 Studio monocentrico SWE: analisi di ML per la predizione dello status linfonodale ascellare usando features di radiomica

Sono state estratte 549 features di radiomica per ciascun set di immagini (B-mode e SWE), per un totale di 1098 features a lesione. Di queste, 835 sono risultate instabili dopo la valutazione ICC e sono state scartate. Delle 263 features rimanenti nessuna ha mostrato un valore di varianza al di sotto della soglia imposta, che giustificasse la sua eliminazione. Inoltre, 241 features sono risultate altamente intercorrelate, residuandone pertanto 22 (**Figura 4**).

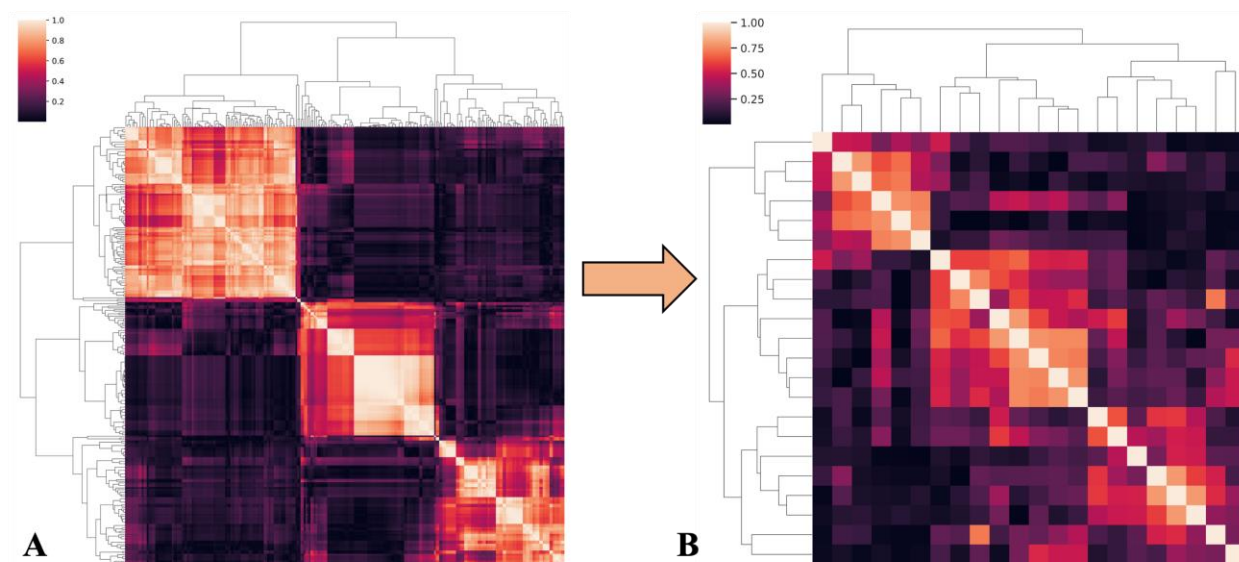


Figura 4. Clustermap della correlazione tra coppie di feature di radiomica prima (A) e dopo (B) la selezione impostando $r > 80$.

Dopo il bilanciamento delle classi con SMOTE, dalle restanti 22 features ne sono state selezionate 8 tramite l'information gain:

- bmode_original_glcmm_JointEntropy;
- bmode_original_glcmm-JointEnergy;
- bmode_original_firstorder_Energy;
- bmode_original_glrmm_GrayLevelNonUniformity;
- bmode_original_shape2D_PerimeterSurfaceRatio;
- swe_original_glrmm_GrayLevelNonUniformity;
- bmode_wavelet-H_glrmm_RunLengthNonUniformityNormalized;
- bmode_original_glrmm_ShortRunLowGrayLevelEmphasis.

L'algoritmo Simple Logistic ha mostrato nel gruppo di training e nel gruppo di test un valore di AUC pari a 0.685 e 0.677, ed un valore di MCC pari a 0.387 e 0.375, rispettivamente (**Tabella 4**).

Tabella 4. Tabella di classificazione 2x2 del confronto tra le prestazioni dell'algoritmo ML applicato alle immagini ecografiche in B-mode e sonoelastografiche e lo standard di riferimento nella predizione dello status linfonodale ascellare sul gruppo di test.

		ML		Totale
		Status linfonodale negativo	Status linfonodale positivo	
Standard di riferimento (anatomia patologica)	Status linfonodale negativo	15	9	24
	Status linfonodale positivo	5	15	20
	Totale	20	24	44

5. Discussione

L'accurata definizione dello status linfonodale ascellare al momento della diagnosi di carcinoma mammario è fondamentale per l'adeguato planning chirurgico e terapeutico. Negli anni si è assistito ad un progressivo cambiamento nella definizione del gold standard per la diagnosi del coinvolgimento linfonodale ascellare, a partire dalla dissezione ascellare sino alla tecnica del linfonodo sentinella. Entrambe le procedure sono gravate da complicanze più o meno invalidanti, prima fra tutte il linfedema, che può esitare in impotenza funzionale del braccio colpito e deterioramento della qualità di vita della paziente. A seguito dell'introduzione di farmaci sistemici sempre più efficaci, le nuove evidenze portano a ritenere che una percentuale di malattia minima a livello del cavo ascellare (i.e., ascella clinicamente negativa) possa essere controllata dalla terapia adiuvante. Pertanto, negli anni si è assistito ad una progressiva de-escalation della chirurgia ascellare linfonodale fino ad omettere la biopsia del linfonodo sentinella in pazienti con carcinoma mammario del diametro massimo di 2 cm con esame ecografico ascellare negativo [16]. Di conseguenza, la valutazione clinica preoperatoria svolge un ruolo sempre più di primo piano nel planning chirurgico e terapeutico delle pazienti con diagnosi di carcinoma mammario. Tuttavia, l'ecografia mammaria, tuttora considerata la tecnica più accurata per la definizione dello status linfonodale ascellare, è gravata da una variabile specificità (53%-97%) e da una relativamente alta sensibilità (87%) [48]. In tale contesto clinico-scientifico si sviluppa questo studio retrospettivo e multicentrico che si pone come obiettivo quello di indagare il potenziale ruolo dell'intelligenza artificiale nel migliorare la performance

diagnostica dell'ecografia mammaria integrata o meno con la SWE nella predizione preoperatoria e non-invasiva dello status linfonodale ascellare.

Nello studio multicentrico, il classificatore di ML, RF, selezionato per l'analisi delle features di radiomica estratte dalle sole immagini ecografiche in B-mode, ha mostrato una buona performance diagnostica ($MCC=0.97$) nel gruppo di training per la predizione dello status linfonodale ascellare. Tuttavia, tale performance non è stata altrettanto riscontrata nei gruppi di validazione e di test (MCC pari 0.11 e 0.08 rispettivamente). Quindi, per quanto l'algoritmo di classificazione risulti promettente e performi molto bene sul gruppo di training, predicendo correttamente lo status linfonodale ascellare in 230 casi (98.7%) su un totale di 233, la sua performance diagnostica si riduce significativamente nei gruppi di validazione e di test, denunciandone una scarsa generalizzabilità. Le possibili spiegazioni di ciò possono essere la relativa scarsa numerosità campionaria dei gruppi e la notevole variabilità dei parametri estratti dalle immagini ecografiche. Infatti, queste ultime risultano di difficile standardizzazione e facilmente influenzate dai parametri di acquisizione impostati e dalla tecnica dell'operatore che esegue l'esame. A tale eterogeneità si sommano i limiti della segmentazione manuale eseguita su immagini a relativa bassa risoluzione. Il tutto non risulta adeguatamente superabile con una rigorosa selezione delle features di radiomica su cui poi viene costruito il modello predittivo e limita fortemente l'applicabilità degli algoritmi di ML alle immagini ecografiche, favorendo approcci basati sul deep learning, in cui il workflow è completamente automatizzato.

Nell'ambito invece dello studio monocentrico, quando l'algoritmo di ML, Simple Logistic, è stato applicato alle features di radiomica estratte sia dalle immagini ecografiche in B-mode che sonoelastografiche, si è osservato un valore di AUC pari a 0.685 nel gruppo di training e pari a 0.677 nel gruppo di test con valori di MCC pari a 0.387 e 0.375, rispettivamente. In questo caso, pur non registrandosi una significativa differenza tra i valori di AUC e MCC dei due gruppi, promettendo una maggiore generalizzabilità di tale modello, comunque l'accuratezza diagnostica del classificatore non risulta soddisfacente per essere applicato nella pratica clinica. Probabilmente tali risultati sono da ascrivere non solo ai limiti sopra elencati, ma anche al disegno di studio monocentrico ed alla ancor minore numerosità campionaria. Tuttavia, in base alle features selezionate, è emerso dalla nostra esperienza che le immagini SWE possono dare un contributo nella determinazione dello status linfonodale ascellare. La spiegazione di tale riscontro può essere duplice: 1) le immagini SWE sono prodotte al fine di estrarre parametri quantitativi, il che le rende idonee all'analisi radiomica; 2) la rigidità delle lesioni può essere relazionata all'aggressività biologica tumorale e pertanto alla capacità di una lesione maligna di dare metastasi a distanza. Tale ultima ipotesi risulta inoltre supportata da precedenti evidenze [49–51].

In letteratura numerosi studi sono stati pubblicati sul potenziale ruolo dell'intelligenza artificiale applicata alle immagini ecografiche nella predizione non-invasiva dello status linfonodale ascellare in pazienti con carcinoma della mammella [19,52–54]. In particolare, Zhou et al. hanno costruito un modello predittivo utilizzando 9 delle 860 features di radiomica estratte dalle immagini ecografiche in B-mode di 192 lesioni

mammarie. Tale modello ha dimostrato una performance diagnostica significativamente superiore alla valutazione ecografica eseguita dal radiologo nel gruppo di training (AUC: 0.85 vs 0.59; $p < 0.01$), avvallando l'ipotesi che l'intelligenza artificiale potrebbe davvero migliorare l'accuratezza diagnostica dell'ecografia. Purtroppo, i risultati nel gruppo di test non sono stati così soddisfacenti, in quanto l'AUC del modello predittivo è risultata pari a 0.65, di poco superiore a quella del radiologo (AUC: 0.63; $p > 0.05$) [19]. Risultati più incoraggianti sono stati ottenuti quando sono stati costruiti modelli predittivi che integrano sia dati clinico-patologici che features di radiomica estratte da immagini ecografiche [54–56]. Bove et al. hanno costruito e confrontato diversi modelli di ML costruiti con il classificatore Support Vector Machine (SVM) ed utilizzando dati clinico-patologici (ad es., età della paziente, dimensione massima della lesione, espressione recettoriale, grading ed istotipo) e/o dati estratti da diverse ROI disegnate sulla lesione primitiva e/o sul tessuto peritumorale. Il modello che ha mostrato la maggiore accuratezza diagnostica (82.1%) è stato quello che includeva sia i dati clinici che le features di radiomica estratte dalla lesione primitiva e da un'ampia quota di tessuto peritumorale (AUC: 88.6%; sensibilità: 80%; specificità: 65.2%) [54]. Tali risultati sottolineano e confermano l'importanza del tessuto peritumorale, sede di intensa proliferazione e neo-angiogenesi, nella predizione dello status linfonodale ascellare. Pertanto, risulta utile includere nell'analisi i dati delle features di radiomica estratte in tale sede [57]. Analoghi risultati sono stati descritti anche da Sun et al., che hanno confrontato la performance predittiva di diversi modelli di radiomica costruiti sia tramite il classificatore RF che tramite le

convolutional neural networks (CNNs). Il modello CNN basato sulle ROI intra e peritumorali ha mostrato la migliore performance diagnostica (AUC: 0.95) [58].

Tuttavia, è da sottolineare che modelli che includono dati anatomo-patologici possono avere potenzialmente un'applicazione clinica limitata perché sottintendono il prelievo biotico della lesione mammaria primitiva. Pertanto, sono stati elaborati diversi nomogrammi, basati sull'integrazione di features di radiomica estratte dal tumore primitivo con la dimensione massima della neoplasia, l'età della paziente, o le caratteristiche ecografiche dei linfonodi ascellari [31,32,51]. Yu et al. hanno costruito un nomogramma che ha mostrato una buona performance diagnostica (AUC: 0.84 nel gruppo di test e 0.81 nel gruppo di validazione), includendo la dimensione della neoplasia, le caratteristiche ecografiche dei linfonodi ascellari e 14 features di radiomica estratte dalla lesione mammaria primitiva correlate con lo status linfonodale [31]. Risultati molto promettenti e soddisfacenti sono stati ottenuti anche mediante l'elaborazione di modelli predittivi di deep learning costruiti utilizzando dati clinici e features estratte da immagini ecografiche in B-mode e SWE, raggiungendo valori di AUC pari a 0.905 nel gruppo di test [44]. Anche Jiang et al. hanno indagato il potenziale ruolo della SWE nella predizione dello status linfonodale ascellare ed hanno elaborato un nomogramma che includeva features di radiomica estratte dalla lesione mammaria primitiva valutata con la SWE, il sottotipo molecolare e lo status linfonodale valutato con l'ecografia dal radiologo. Questo modello predittivo ha mostrato una buona accuratezza diagnostica nella discriminazione tra le pazienti senza o con metastasi linfonodali ascellari sia nel gruppo di training (overall C-index: 0.842;

95%CI, 0.773–0.879) che nel gruppo di test (overall C-index: 0.822; 95%CI, 0.765–0.838). Inoltre, si è rivelato utile anche nel discernere le pazienti con basso ($N+ 1-2$) o alto ($N+ >3$) carico tumorale linfonodale con una buona accuratezza sia nel gruppo di training (C-index: 0.827; 95%CI, 0.742–0.913) che nel gruppo di validazione (C-index: 0.810; 95%CI, 0.755–0.864) [43].

Infatti, la ricerca scientifica non si è limitata solo all’elaborazione di modelli predittivi che consentissero di discernere tra le pazienti con status linfonodale ascellare negativo o positivo, ma si è spinta oltre, alla predizione del numero dei linfonodi coinvolti. Come detto precedentemente, allo stato attuale questo dato rappresenta lo spartiacque tra l’asportazione di uno o due linfonodi sentinella o la dissezione ascellare linfonodale [47,50,51]. Gao et al. hanno costruito un nomogramma basato sull’età della paziente, sul diametro massimo della lesione e su 16 features di radiomica estratte dal tumore primitivo al fine di discriminare le pazienti con <3 linfonodi metastatici e ≥ 3 linfonodi metastatici. Tale modello ha mostrato un valore di AUC pari a 0.846 nel gruppo di training e pari a 0.733 nel gruppo di validazione [51]. Risultati più promettenti sono stati descritti da Zhang et al. che hanno costruito un nomogramma combinando il diametro massimo della lesione e le features ottenute mediante l’applicazione di algoritmi di deep learning (AUC 0.90 nel gruppo di training e 0.82 nel gruppo di test) [47].

Il nostro studio presenta diverse limitazioni. Innanzitutto, la sua natura retrospettiva implica la possibilità che sussista un bias di selezione, rendendo indispensabile la replicazione dei risultati con uno studio prospettico e su campioni più ampi. Il modello

predittivo di ML è stato costruito utilizzando esclusivamente features di radiomica estratte dall'immagine ecografica della lesione primitiva mammaria. Pertanto, non si è testato il ruolo integrativo che può avere nella costruzione del modello predittivo sia l'inclusione di dati clinico-patologici che l'inclusione nella ROI del tessuto peritumorale. Pertanto, sarebbero auspicabili ulteriori studi in tal senso che potrebbero osservare un notevole miglioramento della performance diagnostica dell'algoritmo. Inoltre, lo status linfonodale ascellare è stato indagato considerando solo la dicotomia positivo vs negativo senza indagare il carico tumorale linfonodale.

In conclusione, anche se i nostri risultati preliminari sull'applicazione di algoritmi di ML ad immagini ecografiche in B-mode per la predizione dello status linfonodale ascellare risultano poco generalizzabili, appaiono comunque promettenti e richiedono ulteriori studi possibilmente prospettici e multicentrici su vaste popolazioni. Inoltre, l'integrazione della valutazione ecografica in B-mode con la SWE delle lesioni mammarie primitive potrebbe favorire la generalizzabilità del modello predittivo costruito usando algoritmi di ML. Senza dubbio dato il ruolo centrale della metodica ecografica nella diagnosi e gestione del carcinoma della mammella e tenendo conto della sua variabile specificità nella valutazione dello status linfonodale ascellare, sarebbe auspicabile indagare ulteriormente il potenziale ruolo dell'intelligenza artificiale applicata a tale metodica per migliorarne la performance diagnostica.

6. Bibliografia

1. AIOM-AIRTUM. I numeri del cancro in Italia. *Intermedia Ed.* **2019**.
2. Denley, H. Preoperative assessment of prognostic factors in breast cancer. *J. Clin. Pathol.* **2001**, *54*, 20–24, doi:10.1136/jcp.54.1.20.
3. Amersi, F.; Hansen, N.M. The benefits and limitations of sentinel lymph node biopsy. *Curr. Treat. Options Oncol.* **2006**, *7*, 141, doi:10.1007/s11864-006-0049-y.
4. DeSantis, C.; Ma, J.; Bryan, L.; Jemal, A. Breast cancer statistics, 2013. *CA. Cancer J. Clin.* **2014**, *64*, 52–62, doi:10.3322/caac.21203.
5. Houssami, N.; Ciatto, S.; Turner, R.M.; Cody, H.S.; Macaskill, P. Preoperative Ultrasound-Guided Needle Biopsy of Axillary Nodes in Invasive Breast Cancer. *Ann. Surg.* **2011**, *254*, 243–251, doi:10.1097/SLA.0b013e31821f1564.
6. Writing Group for the Women’s Health Initiative Investigators Risks and Benefits of Estrogen Plus Progestin in Healthy Postmenopausal Women: Principal Results From the Women’s Health Initiative Randomized Controlled Trial. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **2002**, *288*, 321–333, doi:10.1001/jama.288.3.321.
7. Bland, K.I.; Scott-Conner, C.E.; Menck, H.; Winchester, D.P. Axillary dissection in breast-conserving surgery for stage i and ii breast cancer: a national cancer data base study of patterns of omission and implications for survival. No competing interests declared. *J. Am. Coll. Surg.* **1999**, *188*, 586–

595, doi:10.1016/S1072-7515(99)00056-3.

8. Fleissig, A.; Fallowfield, L.J.; Langridge, C.I.; Johnson, L.; Newcombe, R.G.; Dixon, J.M.; Kissin, M.; Mansel, R.E. Post-operative arm morbidity and quality of life. Results of the ALMANAC randomised trial comparing sentinel node biopsy with standard axillary treatment in the management of patients with early breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* **2006**, *95*, 279–293, doi:10.1007/s10549-005-9025-7.
9. Boughey, J.C.; Moriarty, J.P.; Degnim, A.C.; Gregg, M.S.; Egginton, J.S.; Long, K.H. Cost Modeling of Preoperative Axillary Ultrasound and Fine-Needle Aspiration to Guide Surgery for Invasive Breast Cancer. *Ann. Surg. Oncol.* **2010**, *17*, 953–958, doi:10.1245/s10434-010-0919-1.
10. Kamath, V.J. Characteristics of the Sentinel Lymph Node in Breast Cancer Predict Further Involvement of Higher-Echelon Nodes in the Axilla. *Arch. Surg.* **2001**, *136*, 688, doi:10.1001/archsurg.136.6.688.
11. Veronesi, U.; Paganelli, G.; Viale, G.; Luini, A.; Zurrida, S.; Galimberti, V.; Intra, M.; Veronesi, P.; Maisonneuve, P.; Gatti, G.; et al. Sentinel-lymph-node biopsy as a staging procedure in breast cancer: update of a randomised controlled study. *Lancet Oncol.* **2006**, *7*, 983–990, doi:10.1016/S1470-2045(06)70947-0.
12. Krag, D.N.; Julian, T.B.; Harlow, S.P.; Weaver, D.L.; Ashikaga, T.; Bryant, J.; Single, R.M.; Wolmark, N. NSABP-32: Phase III, randomized trial comparing

axillary resection with sentinel lymph node dissection: A description of the trial. *Ann. Surg. Oncol.* **2004**, *11*, 208S-210S, doi:10.1007/BF02523630.

13. Canavese, G.; Catturich, A.; Vecchio, C.; Tomei, D.; Gipponi, M.; Villa, G.; Carli, F.; Bruzzi, P.; Dozin, B. Sentinel node biopsy compared with complete axillary dissection for staging early breast cancer with clinically negative lymph nodes: results of randomized trial. *Ann. Oncol.* **2009**, *20*, 1001–1007, doi:10.1093/annonc/mdn746.
14. Giuliano, A.E.; Ballman, K. V.; McCall, L.; Beitsch, P.D.; Brennan, M.B.; Kelemen, P.R.; Ollila, D.W.; Hansen, N.M.; Whitworth, P.W.; Blumencranz, P.W.; et al. Effect of Axillary Dissection vs No Axillary Dissection on 10-Year Overall Survival Among Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis. *JAMA* **2017**, *318*, 918, doi:10.1001/jama.2017.11470.
15. Tinterri, C.; Gentile, D.; Gatzemeier, W.; Sagona, A.; Barbieri, E.; Testori, A.; Errico, V.; Bottini, A.; Marrazzo, E.; Dani, C.; et al. Preservation of Axillary Lymph Nodes Compared with Complete Dissection in T1–2 Breast Cancer Patients Presenting One or Two Metastatic Sentinel Lymph Nodes: The SINODAR-ONE Multicenter Randomized Clinical Trial. *Ann. Surg. Oncol.* **2022**, *29*, 5732–5744, doi:10.1245/s10434-022-11866-w.
16. Gentilini, O.D.; Botteri, E.; Sangalli, C.; Galimberti, V.; Porpiglia, M.; Agresti, R.; Luini, A.; Viale, G.; Cassano, E.; Peradze, N.; et al. Sentinel Lymph Node Biopsy vs No Axillary Surgery in Patients With Small Breast Cancer and Negative Results on Ultrasonography of Axillary Lymph Nodes. *JAMA Oncol.*

2023, doi:10.1001/jamaoncol.2023.3759.

17. Giuliano, A.E.; Ballman, K. V.; McCall, L.; Beitsch, P.D.; Brennan, M.B.; Kelemen, P.R.; Ollila, D.W.; Hansen, N.M.; Whitworth, P.W.; Blumencranz, P.W.; et al. Effect of Axillary Dissection vs No Axillary Dissection on 10-Year Overall Survival Among Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis. *JAMA* **2017**, *318*, 918, doi:10.1001/jama.2017.11470.
18. Le Boulc'h, M.; Gilhodes, J.; Steinmeyer, Z.; Molière, S.; Mathelin, C. Pretherapeutic Imaging for Axillary Staging in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of Ultrasound, MRI and FDG PET. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 1543, doi:10.3390/jcm10071543.
19. Zhou, W.-J.; Zhang, Y.-D.; Kong, W.-T.; Zhang, C.-X.; Zhang, B. Preoperative prediction of axillary lymph node metastasis in patients with breast cancer based on radiomics of gray-scale ultrasonography. *Gland Surg.* **2021**, *10*, 1989–2001, doi:10.21037/gs-21-315.
20. Marino, M.A.; Avendano, D.; Zapata, P.; Riedl, C.C.; Pinker, K. Lymph Node Imaging in Patients with Primary Breast Cancer: Concurrent Diagnostic Tools. *Oncologist* **2020**, doi:10.1634/theoncologist.2019-0427.
21. Kajáry, K.; Lengyel, Z.; Tőkés, A.-M.; Kulka, J.; Dank, M.; Tőkés, T. Dynamic FDG-PET/CT in the Initial Staging of Primary Breast Cancer: Clinicopathological Correlations. *Pathol. Oncol. Res.* **2020**, *26*, 997–1006, doi:10.1007/s12253-019-00641-0.

22. Gillies, R.J.; Kinahan, P.E.; Hricak, H. Radiomics: Images are more than pictures, they are data. *Radiology* **2016**, *278*, 563–577, doi:10.1148/radiol.2015151169.
23. Romeo, V.; Cuocolo, R.; Apolito, R.; Stanzione, A.; Ventimiglia, A.; Vitale, A.; Verde, F.; Accurso, A.; Amitrano, M.; Insabato, L.; et al. Clinical value of radiomics and machine learning in breast ultrasound: a multicenter study for differential diagnosis of benign and malignant lesions. *Eur. Radiol.* **2021**, *31*, 9511–9519, doi:10.1007/s00330-021-08009-2.
24. Crivelli, P.; Ledda, R.E.; Parascandolo, N.; Fara, A.; Soro, D.; Conti, M. A New Challenge for Radiologists: Radiomics in Breast Cancer. *Biomed Res. Int.* **2018**, *2018*, 1–10, doi:10.1155/2018/6120703.
25. Tagliafico, A.S.; Piana, M.; Schenone, D.; Lai, R.; Massone, A.M.; Houssami, N. Overview of radiomics in breast cancer diagnosis and prognostication. *Breast* **2020**, *49*, 74–80, doi:10.1016/j.breast.2019.10.018.
26. Mao, N.; Yin, P.; Li, Q.; Wang, Q.; Liu, M.; Ma, H.; Dong, J.; Che, K.; Wang, Z.; Duan, S.; et al. Radiomics nomogram of contrast-enhanced spectral mammography for prediction of axillary lymph node metastasis in breast cancer: a multicenter study. *Eur. Radiol.* **2020**, *30*, 6732–6739, doi:10.1007/s00330-020-07016-z.
27. Yu, Y.; He, Z.; Ouyang, J.; Tan, Y.; Chen, Y.; Gu, Y.; Mao, L.; Ren, W.; Wang, J.; Lin, L.; et al. Magnetic resonance imaging radiomics predicts

preoperative axillary lymph node metastasis to support surgical decisions and is associated with tumor microenvironment in invasive breast cancer: A machine learning, multicenter study. *eBioMedicine* **2021**, *69*, 103460, doi:10.1016/j.ebiom.2021.103460.

28. Zhang, J.; Li, L.; Zhe, X.; Tang, M.; Zhang, X.; Lei, X.; Zhang, L. The Diagnostic Performance of Machine Learning-Based Radiomics of DCE-MRI in Predicting Axillary Lymph Node Metastasis in Breast Cancer: A Meta-Analysis. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, 1–10, doi:10.3389/fonc.2022.799209.
29. Wu, X.; Guo, Y.; Sa, Y.; Song, Y.; Li, X.; Lv, Y.; Xing, D.; Sun, Y.; Cong, Y.; Yu, H.; et al. Contrast-Enhanced Spectral Mammography-Based Prediction of Non-Sentinel Lymph Node Metastasis and Axillary Tumor Burden in Patients With Breast Cancer. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, doi:10.3389/fonc.2022.823897.
30. Cheng, J.; Ren, C.; Liu, G.; Shui, R.; Zhang, Y.; Li, J.; Shao, Z. Development of High-Resolution Dedicated PET-Based Radiomics Machine Learning Model to Predict Axillary Lymph Node Status in Early-Stage Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. **2022**, *14*, 950, doi:10.3390/cancers14040950.
31. Chai, R.; Ma, H.; Xu, M.; Arefan, D.; Cui, X.; Liu, Y.; Zhang, L.; Wu, S.; Xu, K. Differentiating axillary lymph node metastasis in invasive breast cancer patients: A comparison of radiomic signatures from multiparametric breast MR sequences. *J. Magn. Reson. Imaging* **2019**, *50*, 1125–1132, doi:10.1002/jmri.26701.

32. Yu, F.-H.; Wang, J.-X.; Ye, X.-H.; Deng, J.; Hang, J.; Yang, B. Ultrasound-based radiomics nomogram: A potential biomarker to predict axillary lymph node metastasis in early-stage invasive breast cancer. *Eur. J. Radiol.* **2019**, *119*, 108658, doi:10.1016/j.ejrad.2019.108658.
33. Qiu, X.; Jiang, Y.; Zhao, Q.; Yan, C.; Huang, M.; Jiang, T. Could Ultrasound-Based Radiomics Noninvasively Predict Axillary Lymph Node Metastasis in Breast Cancer? *J. Ultrasound Med.* **2020**, *39*, 1897–1905, doi:10.1002/jum.15294.
34. Lee, S.E.; Sim, Y.; Kim, S.; Kim, E.-K. Predictive performance of ultrasonography-based radiomics for axillary lymph node metastasis in the preoperative evaluation of breast cancer. *Ultrasonography* **2021**, *40*, 93–102, doi:10.14366/usg.20026.
35. Park, S.; Kang, B.J. Combination of shear-wave elastography with ultrasonography for detection of breast cancer and reduction of unnecessary biopsies: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasonography* **2021**, *40*, 318–332, doi:10.14366/usg.20058.
36. Chang, J.M.; Moon, W.K.; Cho, N.; Yi, A.; Koo, H.R.; Han, W.; Noh, D.Y.; Moon, H.G.; Kim, S.J. Clinical application of shear wave elastography (SWE) in the diagnosis of benign and malignant breast diseases. *Breast Cancer Res. Treat.* **2011**, *129*, 89–97, doi:10.1007/s10549-011-1627-7.
37. Berg, W.A.; Cosgrove, D.O.; Doré, C.J.; Schäfer, F.K.W.; Svensson, W.E.;

- Hooley, R.J.; Ohlinger, R.; Mendelson, E.B.; Balu-Maestro, C.; Locatelli, M.; et al. Shear-wave Elastography Improves the Specificity of Breast US: The BE1 Multinational Study of 939 Masses. *Radiology* **2012**, *262*, 435–449, doi:10.1148/radiol.11110640.
38. Barr, R.G.; Nakashima, K.; Amy, D.; Cosgrove, D.; Farrokh, A.; Schafer, F.; Bamber, J.C.; Castera, L.; Choi, B.I.; Chou, Y.H.; et al. WFUMB guidelines and recommendations for clinical use of ultrasound elastography: Part 2: Breast. *Ultrasound Med. Biol.* **2015**, *41*, 1148–1160, doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2015.03.008.
39. Liu, B.; Zheng, Y.; Huang, G.; Lin, M.; Shan, Q.; Lu, Y.; Tian, W.; Xie, X. Breast Lesions: Quantitative Diagnosis Using Ultrasound Shear Wave Elastography-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ultrasound Med. Biol.* **2016**, *42*, 835–847, doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2015.10.024.
40. Youk, J.H.; Gweon, H.M.; Son, E.J. Shear-wave elastography in breast ultrasonography: the state of the art. *Ultrasonography* **2017**, *36*, 300–309, doi:10.14366/usg.17024.
41. Ricci, P.; Maggini, E.; Mancuso, E.; Lodise, P.; Cantisani, V.; Catalano, C. Clinical application of breast elastography: State of the art. *Eur. J. Radiol.* **2014**, *83*, 429–437, doi:10.1016/j.ejrad.2013.05.007.
42. Cantisani, V.; David, E.; Barr, R.G.; Radzina, M.; De Soccio, V.; Elia, D.; De Felice, C.; Pediconi, F.; Gigli, S.; Occhiato, R.; et al. US-Elastography for

Breast Lesion Characterization: Prospective Comparison of US BIRADS, Strain Elastography and Shear wave Elastography. *Ultraschall der Medizin* **2021**, *42*, 533–540, doi:10.1055/a-1134-4937.

43. Jiang, M.; Li, C.-L.; Luo, X.-M.; Chuan, Z.-R.; Chen, R.-X.; Tang, S.-C.; Lv, W.-Z.; Cui, X.-W.; Dietrich, C.F. Radiomics model based on shear-wave elastography in the assessment of axillary lymph node status in early-stage breast cancer. *Eur. Radiol.* **2022**, *32*, 2313–2325, doi:10.1007/s00330-021-08330-w.
44. Zheng, X.; Yao, Z.; Huang, Y.; Yu, Y.; Wang, Y.; Liu, Y.; Mao, R.; Li, F.; Xiao, Y.; Wang, Y.; et al. Deep learning radiomics can predict axillary lymph node status in early-stage breast cancer. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 1236, doi:10.1038/s41467-020-15027-z.
45. Zwanenburg, A.; Vallières, M.; Abdalah, M.A.; Aerts, H.J.W.L.; Andrearczyk, V.; Apte, A.; Ashrafinia, S.; Bakas, S.; Beukinga, R.J.; Boellaard, R.; et al. The Image Biomarker Standardization Initiative: Standardized Quantitative Radiomics for High-Throughput Image-based Phenotyping. *Radiology* **2020**, *295*, 328–338, doi:10.1148/radiol.2020191145.
46. Chawla, N. V.; Bowyer, K.W.; Hall, L.O.; Kegelmeyer, W.P. SMOTE: Synthetic Minority Over-sampling Technique. *J. Artif. Intell. Res.* **2002**, *16*, 321–357, doi:10.1613/jair.953.
47. Cuocolo, R.; Caruso, M.; Perillo, T.; Ugga, L.; Petretta, M. Machine Learning

in oncology: A clinical appraisal. *Cancer Lett.* **2020**, *481*, 55–62, doi:10.1016/j.canlet.2020.03.032.

48. Marino, M.A.; Avendano, D.; Zapata, P.; Riedl, C.C.; Pinker, K. Lymph Node Imaging in Patients with Primary Breast Cancer: Concurrent Diagnostic Tools. *Oncologist* **2020**, *25*, e231–e242, doi:10.1634/theoncologist.2019-0427.
49. Zheng, X.; Huang, Y.; Liu, Y.; Wang, Y.; Mao, R.; Li, F.; Cao, L.; Zhou, J. Shear-Wave Elastography of the Breast: Added Value of a Quality Map in Diagnosis and Prediction of the Biological Characteristics of Breast Cancer. *Korean J. Radiol.* **2020**, *21*, 172, doi:10.3348/kjr.2019.0453.
50. Yoo, J.; Seo, B.K.; Park, E.K.; Kwon, M.; Jeong, H.; Cho, K.R.; Woo, O.H.; Song, S.E.; Cha, J. Tumor stiffness measured by shear wave elastography correlates with tumor hypoxia as well as histologic biomarkers in breast cancer. *Cancer Imaging* **2020**, *20*, 85, doi:10.1186/s40644-020-00362-7.
51. Hu, X.; Peng, L.; Wintermark, M.; Lipson, J.A.; Zhang, Y.; Gao, Y. Shear Wave Elastography of Invasive Ductal Carcinoma: Correlations between Shear Wave Velocity and Histological Prognostic Factors. *Curr. Med. Sci.* **2021**, *41*, 173–179, doi:10.1007/s11596-021-2333-2.
52. Zhang, H.; Zhao, T.; Zhang, S.; Sun, J.; Zhang, F.; Li, X.; Ni, X. Prediction of Axillary Lymph Node Metastatic Load of Breast Cancer Based on Ultrasound Deep Learning Radiomics Nomogram. *Technol. Cancer Res. Treat.* **2023**, *22*, 153303382311662, doi:10.1177/15330338231166218.

53. Li, C.; Guo, Y.; Jia, L.; Yao, M.; Shao, S.; Chen, J.; Xu, Y.; Wu, R. A Convolutional Neural Network Based on Ultrasound Images of Primary Breast Masses: Prediction of Lymph-Node Metastasis in Collaboration With Classification of Benign and Malignant Tumors. *Front. Physiol.* **2022**, *13*, doi:10.3389/fphys.2022.882648.
54. Bove, S.; Comes, M.C.; Lorusso, V.; Cristofaro, C.; Didonna, V.; Gatta, G.; Giotta, F.; La Forgia, D.; Latorre, A.; Pastena, M.I.; et al. A ultrasound-based radiomic approach to predict the nodal status in clinically negative breast cancer patients. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 7914, doi:10.1038/s41598-022-11876-4.
55. Wei, W.; Ma, Q.; Feng, H.; Wei, T.; Jiang, F.; Fan, L.; Zhang, W.; Xu, J.; Zhang, X. Deep learning radiomics for prediction of axillary lymph node metastasis in patients with clinical stage T1–2 breast cancer. *Quant. Imaging Med. Surg.* **2023**, *13*, 4995–5011, doi:10.21037/qims-22-1257.
56. Gao, Y.; Luo, Y.; Zhao, C.; Xiao, M.; Ma, L.; Li, W.; Qin, J.; Zhu, Q.; Jiang, Y. Nomogram based on radiomics analysis of primary breast cancer ultrasound images: prediction of axillary lymph node tumor burden in patients. *Eur. Radiol.* **2021**, *31*, 928–937, doi:10.1007/s00330-020-07181-1.
57. Quail, D.F.; Joyce, J.A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat. Med.* **2013**, *19*, 1423–1437, doi:10.1038/nm.3394.
58. Sun, Q.; Lin, X.; Zhao, Y.; Li, L.; Yan, K.; Liang, D.; Sun, D.; Li, Z.-C. Deep Learning vs. Radiomics for Predicting Axillary Lymph Node Metastasis of

Breast Cancer Using Ultrasound Images: Don't Forget the Peritumoral Region.

Front. Oncol. **2020**, *10*, doi:10.3389/fonc.2020.00053.