

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

**Développement des systèmes d'imagerie basés sur la tomographie par
cohérence optique visant l'étude des maladies cardiovasculaires**

YUANKANG LU

Institut de génie biomédical

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de *Philosophiæ Doctor*

Génie biomédical

Novembre 2019

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Cette thèse intitulée :

Développement des systèmes d'imagerie basés sur la tomographie par cohérence optique visant l'étude des maladies cardiovasculaires

présentée par **Yuankang LU**

en vue de l'obtention du diplôme de *Philosophiae Doctor*

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

Julien COHEN-ADAD, président

Frédéric LESAGE, membre et directeur de recherche

Guy CLOUTIER, membre et codirecteur de recherche

Gregory LODYGENSKY, membre

Habib BENALI, membre externe

DÉDICACE

À MA FAMILLE

REMERCIEMENTS

Premièrement, j'aimerais remercier mon directeur de recherche, Frédéric Lesage, pour m'avoir supervisé et guidé tout le long de mes études au doctorat. Ton savoir, ton humanité, ta modestie et ta sincérité sont une grande inspiration pour moi. Des discussions franches avec toi m'ont toujours permis d'apprendre beaucoup de chose et de retrouver la confiance pour surmonter les défis.

Je remercie également mon codirecteur, Guy Cloutier, qui m'a donné l'opportunité de venir au Québec pour poursuivre mes études au doctorat. Ton aide et tes conseils précieux m'ont été grandement utiles. Ton savoir dans le domaine biomédical et ton professionnalisme m'ont beaucoup motivé.

Un merci spécial à Maxime Abran et Pol Grasland-Mongrain, qui m'ont beaucoup aidé au début de ma thèse. Je souhaite exprimer ma gratitude à Xuecong Lu et Cong Zhang pour leur contribution à mes projets au niveau des procédures chirurgicales sur des animaux. Je voudrais aussi remercier Paul J. Marchand pour des discussions et des conseils très constructifs. Un grand merci à tout le monde du labo. Ça a été un grand plaisir de pouvoir travailler avec vous pendant ma thèse. Vous être gentils, talentueux et professionnels. Vous êtes non seulement des collègues mais aussi des amis. Le temps que j'ai passé avec vous sera inoubliable dans ma vie.

Enfin, je tiens à remercier mes parents, ma famille et mes amis qui m'ont entouré et soutenu fortement. Vous êtes toujours là pour m'écouter, me motiver et m'encourager, même si vous êtes parfois à l'autre bout du monde. Dernièrement, je veux remercier Mathieu, qui m'a supporté énormément pour traverser des moments difficiles. Tu as apporté plein de surprises, joie et bonheur dans ma vie. J'ai hâte de commencer un nouveau chapitre de vie avec toi.

RÉSUMÉ

Les maladies cardiovasculaires (CVD) sont la principale cause de décès depuis des décennies. Son taux de morbidité élevé engendre un fardeau social et économique énorme et à la société. L'imagerie biomédicale est un outil important pour étudier et évaluer les CVDs. Notamment, la tomographie par cohérence optique (OCT) a montré des avantages attrayants pour la recherche appliquée aux CVDs. Le but global de cette thèse est le développement de systèmes OCT combinés avec d'autres techniques d'imagerie optique pour étudier les CVDs.

Le premier objectif est de développer un système d'imagerie intravasculaire combinant l'OCT et l'imagerie par fluorescence proche infrarouge (NIRF), qui pourrait à terme être utilisé pour la détection et l'évaluation de l'athérosclérose dans les artères coronaires. L'originalité du travail se situe dans l'utilisation d'une nouvelle technique de détection de photons, la détection de photons à déclenchement rapide, intégrée dans notre système d'imagerie, ce qui a considérablement amélioré le rapport signal sur bruit et la sensibilité en profondeur de la NIRF. Une expérience *ex vivo* dans des conditions réalistes a validé le mécanisme de notre système d'imagerie intravasculaire à double modalité au niveau des aspects optique, mécanique et logiciel. Les images hybrides provenant de l'OCT et de la NIRF ont fourni des informations structurelles et moléculaires sur le fantôme imitant le vaisseau sanguin, ce qui suggère un grand potentiel d'utilisation de notre système d'imagerie chez des modèles animaux.

Le deuxième objectif de cette thèse était d'étudier les impacts de l'athérosclérose sur différents aspects du cerveau de souris avec l'aide de plusieurs techniques d'imagerie optique, y compris l'imagerie intrinsèque optique, l'OCT et la microscopie à deux-photon. En comparaison avec les souris athérosclérotiques jeunes, le groupe âgé a montré un changement de concentration plus faible en hémoglobine oxygénée, hémoglobine désoxygénée et hémoglobine totale dans le cortex somatosensoriel à la suite de la stimulation par vibrisse, ce qui indique que la maladie d'athérosclérose réduit la réponse hémodynamique à la stimulation sensorielle. Les résultats obtenus à partir des données Doppler OCT ont révélé que le diamètre et le débit sanguin moyen des artérioles descendantes chez les souris ATX âgées étaient significativement plus petits comparés avec ceux des souris ATX jeunes, ce qui suggère que l'athérosclérose entraîne une dégénérescence structurelle et fonctionnelle des artérioles. L'altération fonctionnelle a également été observée dans les capillaires chez les souris ATX âgées, caractérisée par une plus faible vitesse

des globules rouges (RBC), un plus faible flux de RBC, un plus faible hématoците et une plus grande hétérogénéité du temps de transit capillaire. L'oxygénation tissulaire évaluée par la microscopie à deux photons a confirmé que l'altération de la microvascularisation liée à l'athérosclérose compromettait l'apport d'oxygène au tissu cérébral, amenant une hypoxie cérébrale chez les vieilles souris ATX. Les capillaires chez les souris ATX âgées ont été trouvés dilatés, ce qui pourrait être un mécanisme de régulation servant à compenser partiellement la diminution du débit sanguin associée à l'athérosclérose.

Le troisième objectif de cette thèse est d'étudier la réparation du tissu cérébral et la régénération microvasculaire suite à un accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique chez des souris en utilisant un système OCT construit dans le laboratoire. Le modèle d'AVC ischémique a été créé par occlusion photo-thrombotique des capillaires. Sur les images de l'OCT, seuls les tissus cérébraux profonds ont été endommagés par l'AVC ischémique, alors que les tissus proches de la surface corticale étaient intacts bien qu'ils aient été exposés à une intensité de laser plus élevée pendant la photo-thrombose. Cette observation implique que les tissus cérébraux profonds sont plus vulnérables lorsque l'apport d'oxygène des capillaires est interrompu au cours d'un AVC ischémique. Au cours de la récupération post-AVC, la lésion ischémique diminuait pendant que la régénération microvasculaire progressait. De plus, le réseau capillaire nouvellement formé autour de la lésion avait une structure hautement organisée et directionnelle avec un grand pourcentage de segments capillaires s'étendant vers le centre ischémique. Plus le réseau capillaire était profond, mieux sa structure était organisée, ce qui suggère que l'oxygénation des tissus profonds est plus dépendante du réseau capillaire. Notre analyse des événements de blocage capillaire a révélé que l'AVC ischémique augmentait à la fois la densité et l'incidence de blocage capillaire. Étant donné que le blocage capillaire pourrait entraîner une réduction du débit sanguin cérébral, il pourrait être utile de le cibler pour chercher de nouveaux traitements pour l'AVC.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases (CVD) have been the leading cause of death for decades, and their high morbidity rate has led to enormous social and economic burden to both patients and society. Biomedical imaging systems are important tools to study and assess CVDs. Optical coherence tomography (OCT) has shown appealing advantages in CVD research. The general purpose of this thesis is the development of OCT-based imaging systems coupled with other optical imaging techniques to investigate CVDs.

The first objective of this thesis is to develop an intravascular imaging system combining OCT and near infrared fluorescence (NIRF) imaging, which could ultimately be used for the detection and evaluation of atherosclerosis in coronary arteries. A novel photon detection technique, fast time-gating photon detection, was integrated into our imaging system, which improved significantly the signal-to-noise ratio and the depth sensitivity of NIRF. Ex vivo experiment under realist conditions validated the mechanism of our dual modality intravascular imaging system in terms of the optical, mechanical and software aspects. The hybrid images from OCT and NIRF provided structural and molecular information on the vessel-mimicking phantom, suggesting a great potential of our imaging system to be used in animal models.

The second objective of this thesis is to study the impact of atherosclerotic disease on different aspects of mouse brain by using a variety of high-resolution optical imaging techniques, including intrinsic optical signal imaging, OCT and two-photon microscopy. Compared with the young atherosclerotic (ATX) mice, the old ones displayed a smaller change in the concentration of oxygenated hemoglobin, deoxygenated hemoglobin and total hemoglobin in the barrel cortex following whisker stimulation, which indicates that atherosclerotic disease is associated with reduced hemodynamic response to sensory stimulation. Results derived from Doppler OCT data revealed that the diameter and the mean blood flow of diving arterioles in the old ATX mice were significantly smaller compared with those in the young ATX mice, suggesting that atherosclerosis leads to structural and functional degeneration in descending arterioles. Functional alteration was also observed in capillaries among the old ATX mice with lower red blood cell (RBC) speed, lower RBC flux, lower hematocrit and higher transit time heterogeneity. Tissue oxygenation assessed by two-photon microscopy confirmed that atherosclerosis-related microvasculature impairment severely compromised oxygen supply to brain tissue, causing cerebral hypoxia in the old ATX

mice. Capillaries in the old ATX mice were found dilated, which could be a regulatory mechanism of partially compensating atherosclerosis-associated blood flow decrease.

The third objective of this thesis is to study post-stroke tissue repair and microvasculature regeneration and function in a mouse model of stroke using a custom-made OCT imaging system. Ischemic stroke model was created by photo-thrombotic occlusion of capillaries. On OCT structural and angiographic images, only deep cerebral tissue was found damaged by the ischemic stroke, whereas tissue close to the cortical surface seemed intact although it was exposed to a high laser intensity during the photo-thrombosis. This observation implies that deep cerebral tissue is more vulnerable when oxygen supply from capillaries are interrupted during ischemic stroke. Over the course of post-stroke recovery, ischemic lesion diminished while microvasculature regeneration progressed. Furthermore, the newly formed capillary network surrounding the lesion had a highly organized and directional structure with a large percentage of capillary segments stretching towards the ischemic center. Deeper de novo microvasculature had a better organized structure than shallower one, suggesting that deeper tissue oxygenation has a higher dependence on capillary network. Our stalling event analysis revealed that ischemic stroke increased both stalling density and incidence. As stalling can lead to cerebral blood flow reduction, targeting post-stroke stalling could be useful to develop new treatment for stroke.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	IV
RÉSUMÉ.....	V
ABSTRACT	VII
TABLE DES MATIÈRES	IX
LISTE DES FIGURES.....	XIII
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XXIII
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Contexte et problématique	1
1.2 Objectifs	5
1.3 Organisation de la thèse et cohérence des articles	8
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE.....	9
2.1 Tomographie par cohérence optique	9
2.2 Théorie de l'OCT	9
2.2.1 Interféromètre de Michelson	10
2.2.2 OCT dans le domaine temporel.....	11
2.2.3 OCT dans le domaine de Fourier	15
2.3 Extensions fonctionnelles de l'OCT	24
2.3.1 OCT Doppler.....	25
2.3.2 Angiographie par OCT.....	28
CHAPITRE 3 DÉVELOPPEMENT D'UN SYSTÈME D'IMAGERIE INTRAVASCULAIRE COMBINANT LA TOMOGRAPHIE PAR COHÉRENCE OPTIQUE ET L'IMAGERIE PAR FLUORESCENCE.....	30
3.1 Aperçu du système	31

3.2	Conception du cathéter.....	35
3.3	Programme d'acquisition	38
3.4	Expériences Ex vivo.....	40
3.5	Résultat et discussion	44
3.6	Conclusion.....	49
CHAPITRE 4 ARTICLE 1: IMPACT OF ATHEROSCLEROTIC DISEASE ON CEREBRAL MICROVASCULATURE AND TISSUE OXYGENATION IN AWAKE LDLR-/- HAPOB+/+ TRANSGENIC MICE		
		51
4.1	Abstract	51
4.2	Introduction	52
4.3	Materials and methods	54
4.3.1	Animal preparation.....	54
4.3.2	Data acquisition and data analysis	55
4.4	Results	58
4.4.1	Atherosclerosis is associated with reduced hemodynamic response	58
4.4.2	Atherosclerosis is associated with reduced basal blood flow and reduced arteriolar but not venular diameter.....	60
4.4.3	Reduced blood flow is associated with reduced tissue PO ₂ and pockets of hypoxia	62
4.4.4	Cerebral hypoperfusion and decreased tissue PO ₂ is associated with capillary dilation	64
4.5	Discussion	66
4.6	Conclusion.....	70
4.7	Disclosures	70
4.8	Acknowledgment	70
4.9	References	70

CHAPITRE 5	ARTICLE 2: LONGITUDINAL OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY IMAGING OF TISSUE REPAIR AND MICROVASCULATURE REGENERATION AND FUNCTION AFTER TARGETED CEREBRAL ISCHEMIA.....	90
5.1	Abstract	90
5.2	Introduction	91
5.3	Methods.....	92
5.3.1	Animal preparation.....	92
5.3.2	Spectral-domain OCT Imaging system	93
5.3.3	Localized photo-thrombosis of cerebral microvasculature	94
5.3.4	Optical coherence tomography angiography.....	95
5.3.5	Capillary orientation analysis.....	97
5.3.6	Capillary stalling event analysis.....	98
5.4	Results	99
5.4.1	Deeper cerebral tissue is more affected by photo-thrombosis	99
5.4.2	Photo-thrombosis-induced ischemic lesion causes microvasculature reorganization	102
5.4.3	Increased capillary stalling events in reorganized capillaries	105
5.5	Discussion	108
5.6	Conclusion.....	111
5.7	Acknowledgements	111
5.8	Disclosures	112
5.9	Reference.....	112
CHAPITRE 6	DISCUSSION GÉNÉRALE	132
6.1	Objectif 1.....	132
6.2	Objectif 2.....	133

6.3 Objectif 3.....134

CHAPITRE 7 CONCLUSION.....137

BIBLIOGRAPHIE139

LISTE DES FIGURES

Figure 2-1 : (a) Schéma de l'interféromètre de Michelson. Les flèches rouges indiquent la direction de la propagation de la lumière à l'air libre. l_R est la distance entre le miroir de référence et la lame séparatrice, et l_S est la distance entre le miroir d'échantillon et la lame séparatrice. Le miroir 1 du bras de référence peut être installé sur un stage de translation pour pouvoir varier la distance l_R . (b) Signal d'interférence de l'interféromètre de Michelson avec une source de lumière monochromatique..... 10

Figure 2-2 : (a) Le bloc bleu représente un échantillon transparent non-diffusant, qui remplace le miroir dans le bras d'échantillon de l'interféromètre. S_1 et S_2 sont les interfaces entre l'échantillon et l'air, qui réfléchissent en partie la lumière d'incidence. La distance entre les deux surfaces est L_1-L_2 . Les flèches rouges désignent les faisceaux de lumière. L'épaisseur des flèches indique qualitativement leur intensité. (b) Le signal d'interférence est en bleu, et son enveloppe gaussienne est en rouge. Les deux pics à L_1 et à L_2 sont dus à la présence des interfaces S_1 et S_2 . La résolution axiale définie comme la FWHM des enveloppes gaussiennes est déterminée par la largeur du spectre de la source de lumière. L'amplitude des enveloppes gaussiennes est proportionnelle à la réflectivité des interfaces. 14

Figure 2-3 : (a) Schéma de la configuration typique du système SD-OCT à fibres optiques. L'ensemble de l'échantillon est normalement placé plus loin que le miroir de référence pour éviter l'ambiguïté associée à la transformée de Fourier. (b) Schéma du système SS-OCT à fibres optiques. En réalité, la détection équilibrée est souvent employé en SS-OCT à la place d'un simple photodiode afin d'avoir un meilleur SNR (Podoleanu, 2000; Rollins & Izatt, 1999). CIR : circulateur, CFOM : coupleur à fibre optique monomode, BR : bras de référence, BE : bras d'échantillon. 16

Figure 2-4 : (a) La courbe rouge représente la densité spectrale de puissance de la source lumineuse. On suppose qu'elle suit une distribution gaussienne. La courbe bleue désigne le signal détecté par le spectromètre, qui est constitué d'une composante DC et une composante AC. (b) Signal d'interférence après enlever la composante DC. (c) Signal d'interférence dont l'amplitude est démodulée. (d) Transformée de Fourier inverse de la fonction sinusoïdale montrée sur (c). La différence de longueur entre les bras de référence et d'échantillon, Δl , peut ainsi être calculée. (e) schéma simplifié d'un système SD-OCT conventionnelle. l_R est la longueur du bras de

référence. P_1 désigne la position du miroir d'échantillon qui se trouve à la gauche du miroir de référence. La longueur du bras d'échantillon est donc $lR - \Delta l$. P_2 désigne la position du miroir d'échantillon qui se trouve à la droite du miroir de référence. La longueur du bras d'échantillon dans ce cas-là égale $lR + \Delta l$. Tous les deux cas donnent la même fréquence angulaire, $2\Delta l$, pour le signal d'interférence..... 19

Figure 2-5 : (a) Échantillon contenant trois réflecteurs. Les trois réflecteurs se trouvent Δl_1 , Δl_2 et Δl_3 plus loin que le miroir de référence respectivement. (b) Patrons d'interférence individuels produits chacun des réflecteur et le miroir de référence. (c) Patron d'interférence global enregistré par le spectromètre, qui est la somme des patrons d'interférence individuels. (d) TFI du signal d'interférence montré sur (c). 22

Figure 3-1 : Représentation schématique du système d'imagerie intravasculaire combinant l'OCT et l'imagerie par fluorescence. Les lignes noires représentent la connexion électrique, et les flèches indiquent la direction de la transmission des signaux électriques. Les lignes rouges représentent les fibres optiques, et les lignes bleues pointillées représentent la trajectoire optique à l'air libre dont les flèches indiquent la direction de la propagation de la lumière. Les signaux en quadrature en provenance du codeur du moteur rotatif sont envoyés à la carte DAQ USB-6351 et servent de signal de synchronisation. DAQ : carte d'acquisition, USB : universal serial bus, PCIe : Peripheral Component Interconnect Express, SLD : diode superluminescente, CIR : circulateur, 90:10 : coupleur à fibre optique 90/10, 50:50 : coupleur à fibre optique 50/50, SPAD : diode à avalanche monophotonique, DCF : fibre double-gaine. 32

Figure 3-2 : Nouvelle technique de détection de déclenchement rapide qui filtre les photons non désirés. Le délai entre l'entrée « trigger in » du circuit de délai et la sortie « trigger out » du laser pulsé est fixé et dépend de la longueur du câble électrique. Le délai entre l'entrée « trigger in » du circuit de délai et l'activation de la fenêtre de détection du SPAD, Δt , est ajustable et contrôlé par le circuit de délai. T est la largeur de la fenêtre active du SPAD, qui est ajustable aussi. Dans un scénario idéal, les photons fluorescents et les photons non désirés arrivent à des moments différents. Les photons non désirés peuvent être filtrés et seulement les photons fluorescents sont détectés par le SPAD lorsque Δt et T sont bien ajustés. 34

Figure 3-3 : Design du cathéter intravasculaire à double modalité. (a) Schéma détaillé du cathéter.

Les dimensions des composantes ne correspondent pas à la proportion réelle. DCF : fibre double-gaine, GRIN : gradient d'indice, LDPE : polyéthylène à base densité. (b) Schéma transversal de la fibre optique DCF. Le cœur, la gaine interne et la gaine externe mesurent 8 μm , 105 μm et 125 μm respectivement. (c) Vue de côté de l'assemblage DCF-Spacer-Lentille GRIN-prisme sous un microscope. (d) Vue de haut de l'assemblage DCF-Spacer-Lentille GRIN-prisme sous un microscope. (e) Comparaison de taille entre un dix sous canadien et l'extrémité distale du cathéter sans le tube protecteur plastique. (f) Photo d'un cathéter fini. Une extrémité de la fibre optique est terminée par un connecteur fibre optique qui permet de raccorder le cathéter au joint rotatif à fibre optique. (g) Unité mécanique qui entraîne la rotation et effectue le retrait du cathéter.....37

Figure 3-4 : Chronogramme de synchronisation pour le moteur rotatif et l'acquisition du signal OCT et fluorescence. Le codeur rotatif du moteur rotatif émet 1126 fronts montants par rotation, et chaque front montant correspond à une position angulaire du cathéter. La détection de chaque front montant déclenche l'acquisition d'un A-line pour l'OCT et d'un point pour la NIRF.....38

Figure 3-5 : Organigramme du programme d'acquisition d'une architecture multithread. Le programme est constitué de six threads effectuant des tâches en parallèles sur le CPU, (1) thread principal, (2) acquisition de données OCT, (3) enregistrement de données OCT, (4) acquisition de données fluorescence, (5) enregistrement de données fluorescence, et (6) contrôle du moteur linéaire. Un processus (en vert) pour traiter les données OCT se déroule en même temps sur le GPU pour accélérer les calculs. Il reçoit régulièrement les données brutes à partir du thread principal, ensuite reconstruit les images OCT et enfin renvoie les données traitées vers le thread principal pour la visualisation. Les flèches noires représentent le transfert de données entre les threads ou entre le CPU et le GPU. Le signal d'« arrêt » (en orange) est émis par le thread de contrôle du moteur linéaire en fin de l'acquisition lorsque le moteur arrive à la position prédéfinie par l'utilisateur. Tous les threads et le processus sur le GPU se terminent après la réception de ce signal d'arrêt.40

Figure 3-6 : Détermination du délai optimal pour la détection de la fluorescence en mode de déclenchement avec le système d'imagerie. (a) Le cathéter est installé en parallèle avec une

cuvette remplie de solution ICG, et l'ouverture du cathéter donne sur la cuvette. Le cathéter ne tourne pas et reste immobile pendant cette expérience. Le délai généré par le circuit de délai est balayé de 0 à 20.47 ns. (b) Le positionnement du cathéter et de la cuvette est pareil que (a). La cuvette contient de l'eau au lieu de la solution ICG. (c) Le nombre de photons détectés en fonction du délai dans le cas (a). Des photons détectés comprennent des photons fluorescents émis par la solution ICG et d'autres photons de « background » qui arrive en même temps. Le laser pulsé fonctionne à une fréquence de répétition de 80 MHz, donc deux pics séparés d'un intervalle de 12.5 ns peuvent être observés dans un seul balayage. (d) Le nombre de photon détectés en fonction du délai dans le cas (b) quand la cuvette est remplie d'eau. Les photons détectés ne représentent que le signal de « background ». (e) Le nombre de photons fluorescents en fonction du délai, qui est obtenue en soustrayant (d) de (c). À un délai de 7 ns indiqué par la ligne noire pointillée, le nombre de photons fluorescents détectés par le détecteur SPAD en mode de déclenchement rapide qui est synchronisé avec le laser pulsé atteint le pic.....43

Figure 3-7 : Expériences *ex vivo* avec le fantôme pour comparer la sensibilité de la détection du signal fluorescence entre les deux techniques, soit la détection en mode continu et la détection en mode de déclenchement. (a) l'extrémité du cathéter et la moitié d'une cuvette remplie de solution ICG sont immergées dans une solution qui imite les propriétés optiques du tissu biologique. Le variable d est la distance qui sépare le cathéter et la cuvette de solution ICG. Le cathéter tourne à une vitesse de 120 rotations par seconde. (b) Exemple classique du signal de fluorescence obtenu avec la détection en mode de déclenchement dans cette expérience. Chaque intervalle de 2π (marqué par les lignes noires pointillées) correspond à une rotation du cathéter, et le pic du signal de fluorescence se répète ainsi tous les 2π . Cet extrait du signal est constitué de 5 rotations du cathéter. Le SNR de chaque rotation est calculé comme le rapport entre l'amplitude du pic (indiquée par la ligne orange) et l'écart type du signal de fond (indiqué par la ligne verte). (c) Le SNR mesuré pour la solution ICG de 1 μM en fonction de la distance avec les deux techniques de détection de fluorescence respectivement. (d) Le SNR mesuré pour la solution ICG de 100 nM en fonction de la distance. La ligne rouge pointillée et la ligne bleue pointillée désignent la détection en mode de déclenchement et en mode continu respectivement. La ligne noire solide représente la valeur de SNR égale à 10 dB. L'axe Y est à l'échelle logarithmique. Les données sont indiquées comme moyenne \pm écart type.46

Figure 3-8 : (a) Dessin schématique du fantôme à base de silicone. Le fantôme cylindrique possède un canal cylindrique creux au milieu (cylindre gris foncé). Deux inclusions cylindriques (cylindres bleu et rouge) sont intégrées dans la paroi du fantôme au moment de la fabrication. L'inclusion bleue contient la solution d'intralipide, et l'inclusion rouge contient le mélange de solution ICG et intralipide. La distance entre la lumière et l'inclusion rouge varie linéairement en fonction de la position longitudinale. (b) Image fusionnée de l'OCT et de la fluorescence. Le signal de fluorescence est détecté par la technique en mode de déclenchement. L'inclusion sans fluorochrome est encerclée par le cercle jaune pointillé, et l'inclusion avec ICG est encerclée par le cercle rouge pointillé. La barre d'échelle est de 1 mm. (c) Image fusionnée de l'OCT et de la fluorescence. Le signal de fluorescence est détecté par la technique en mode continu. (d) Image 3D de la lumière (structure noire) et des deux inclusions (structures bleue et rouge) dans le fantôme. La lumière et les inclusions sont segmentées manuellement sur les images OCT transversales à chaque position longitudinale et ensuite empilées ensemble. La distinction des deux inclusions est basée sur la présence ou l'absence du signal de fluorescence. (e) Signaux de fluorescence normalisés en fonction de l'angle, qui correspondent à (b) et (c) obtenus avec la détection en mode de déclenchement et en mode continu respectivement. (f) Image 2D de fluorescence obtenue par la détection en mode de déclenchement. (g) Image 2D de fluorescence obtenue par la détection en mode continu. Le signal le long de la position angulaire de 180 degrés provient de l'inclusion contenant la solution ICG. (h) Le SNR de la fluorescence en fonction de la distance de retrait du cathéter pour le mode de déclenchement (cercles en rouge) et le mode continu (étoiles en bleu). La ligne noire désigne la valeur de SNR égale à 5.48

Figure 4-1 : ISOI used to measure hemodynamic response in somatosensory cortex following whisker stimulation. (a - c) Images of relative changes in HbO₂, HbR and HbT acquired 3 seconds after the start of the stimulus. (d) A typical hemodynamic response obtained by averaging HbO₂, HbR and HbT change across the somatosensory cortex for a representative mouse. The transparent orange zone represents the 5-second whisker stimulation. The dashed black line corresponds to the moment when images (a-c) were acquired. (e) Comparison of the peak value of HbO₂, HbR and HbT concentration change after each stimulation. The young ATX mice had significantly higher peak values for Δ HbO₂, Δ HbR and Δ HbT than the old ATX mice. (f) Group-averaged time series of Δ HbO₂ and Δ HbR for the young and the old

ATX mice. Data are shown as mean \pm SEM. Unpaired *t*-test were performed: **** $p < 0.0001$, *** $p < 0.001$. Y: young, O: old.....59

Figure 4-2 : Arteriolar and venular parameters obtained from Doppler OCT data. (a.1) An *en face* Doppler OCT image obtained at a depth of 180 μm beneath the cortical surface of a representative mouse. The scale bar is 100 μm . (a.2) The same Doppler OCT image with identified arterioles and venules encircled by red and blue circles respectively. (b) Correlation between arteriolar mean blood flow and arteriolar diameter. (c, d) Comparison of arteriolar diameter and mean blood flow between the two ATX groups. The young ATX mice had significantly larger arteriolar diameter and significantly higher arteriolar mean blood flow than the old ATX mice. (e, f) Comparison of venular diameter and mean blood flow between the two groups of ATX mice. No significant difference was found for venules between the two groups. (g, h) The diameter and the mean blood flow of descending arterioles at 5 different depths for the young and the old ATX mice. Arteriolar diameter and mean blood flow at all range of depths decreased significantly in the old ATX mice when compared to the young ATX mice. Data are shown as mean \pm SEM. Unpaired *t*-test was performed: **** $p < 0.0001$, *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$. Y: young, O: old.61

Figure 4-3 : Cerebral tissue PO_2 measurement with two-photon phosphorescence lifetime imaging. (a.1) A typical PO_2 grid (20 pixels x 20 pixels) covering a ROI of 400 μm x 400 μm . The scale bar is 100 μm . (a.2) The interpolated PO_2 image of the PO_2 grid (a.1). A hypoxic micro-pocket was identified and delimited by the red lines. (b) The distribution of cerebral tissue PO_2 for the two groups of ATX mice. The PO_2 distribution of old ATX mice was shifted towards lower PO_2 values when compared to the young ATX group. The inset shows that pixels with low PO_2 values were more frequently seen in old ATX mice than in young ATX mice. (c) Cerebral tissue PO_2 value in old ATX mice was significantly smaller than that in young ATX mice. (d) The old ATX mice showed a significantly higher spatial heterogeneity of tissue PO_2 when compared to the young ATX group. The spatial heterogeneity was calculated for each PO_2 grid and was defined as the coefficient of variation of each PO_2 grid. (e) Tissue PO_2 values at different depths were analysed for the two groups of ATX mice. The decreasing trend of PO_2 relative to depth was found in both ATX groups. The old ATX group had significantly lower cortical tissue PO_2 at all investigated depths than the young ATX

group. Data are shown as mean \pm SEM. Unpaired *t*-test was performed: **** $p < 0.0001$. Y: young, O: old.63

Figure 4-4 : Two-photon fluorescence line-scans to measure capillary parameters. (a.1, b1) A two-photon fluorescence intensity image in the x-y plane with vessels appearing bright. The yellow line represents the laser scanning direction. Perpendicular line-scans were perpendicular to capillaries, and longitudinal line-scans were parallel to capillaries. The scale bar is 25 μ m. (a.2) A spatiotemporal image composed of 200 consecutive perpendicular scans. A Gaussian function was fitted to the intensity profile averaged from the 200 perpendicular scans to estimate the capillary lumen diameter. (b.2) A spatiotemporal image of longitudinal scans. The tilted dark streaks were due to the passage of RBCs in the capillary. RBC speed was calculated from the slope of the streaks, namely the tangent of the angle α . (c-g) Comparison of the capillary parameters, including diameter, RBC flux, RBC velocity, RBC velocity heterogeneity and hematocrit, between the young and the old ATX mice. RBC velocity heterogeneity is defined as the coefficient of variation of RBC velocity. RBC flux, RBC speed and hematocrit of old ATX mice were significantly lower when compared to young ATX mice. The values of capillary diameter and RBC velocity heterogeneity of old ATX mice were significantly higher than those of young ATX mice. Data are shown as mean \pm SEM. Unpaired *t*-test was performed: **** $p < 0.0001$, *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$. Y: young, O: old.65

Figure 5-1: Schematic drawing of the OCT system. 1310 nm infrared light (the red beam) was emitted by a superluminescent diode and then split between the sample arm and the reference arm by a fiber optic coupler. The light beam in the sample arm was scanned across the field of view (FOV) using a 2D galvanometer system. The surface of the mouse cortex was illuminated by a second light source, a visible LED, for the purpose of wide-field imaging. The reflected visible light (the green beam) from the brain surface was deflected towards a CMOS camera by a dichroic mirror placed between the beam expander and the objective of the sample arm. The motorized vertical translation stage on which the sample arm was mounted is not shown on this drawing for the sake of the clarity of the figure. SLD: superluminescent diode, CIR: circulator, 90:10: fiber optic coupler, COL: collimator, X-Y: XY 2D galvo scanner, BE: beam expander, DM: dichroic mirror, DC: dispersion compensator, DAC: data acquisition card, LED: light-emitting diode.96

Figure 5-2 : Post-photo-thrombosis microvasculature regeneration and cerebral tissue recovery. (a-f) A series of en face MIP of 3D angiograms (400 μm beneath the cortical surface) acquired in an example mouse over the course of 28 days following the photo-thrombosis. Baseline data were acquired before the photo-thrombosis. Five follow-up OCT imaging sessions took place 4 days, 8 days, 14 days, 21 days and 28 days after the photo-thrombosis. The ischemic lesion is delimited by a blue dashed line. All images share the scale bar. 100

Figure 5-3 : (a) Cross-sectional structural image running through the middle of the ischemic lesion. The ischemic region delimited by the orange dashed arc shows much lower intensity compared with the surrounding normal tissue. (b) Cross-sectional angiographic image at the same lateral position as (a). No capillaries are observed inside the ischemic lesion (marked by the orange dashed arc), where the intensity is also significantly lower than the surrounding tissue. Z1 (=250 μm), Z2 (=400 μm) and Z3 (550 μm) are the axial positions where the lesion area was measured. (c) Scatter chart showing the area of ischemic lesions at Z2 and Z3. (d) Scatter plot displaying the area of ischemic lesions at Z1 and Z2. The values are expressed in pixels. All the dots are located above the line $y=x$ in both (c) and (d). (e-g) Case-by-case plot of normalized lesion size at the depth of 250 μm , 400 μm and 550 μm over 28 days following the photo-thrombosis. The lesion size at each depth for each animal is normalized by its value of Day 8. 101

Figure 5-4 : Computation of capillary angular orientation map. (a) MIP of an angiogram (490 – 610 μm under the cortical surface) acquired from an example mouse 21 days after the photo-thrombosis. (b) Tubeness-filter and Frangi-filter enhanced angiogram. (c) The local orientation (α) of each pixel with respect to x-axis can be assessed using OrientationJ, a plugin running on ImageJ. The direction (β) of the vector pointing from a given pixel towards the ischemic center can be obtained as well. The local orientation (θ) of each pixel relative to the direction of the ischemic center can thus be estimated by the difference between α and β . (d) is the α -orientation map, (e) is the β -orientation map and (f) is the θ -orientation map, where the angle value (α , β or θ) is encoded in color. The θ -orientation map will be further utilized to analyse the local orientation distribution of capillary segments. The white dot in (a), (b), (d), (e) and (f) indicates the estimated ischemic center. (d), (e) and (f) share the same colorbar. 103

Figure 5-5 : Visualisation and quantification of capillary orientation. (a-b) Tubeness-filter and Frangi-filter enhanced MIP of capillary vasculature (at the depth of between 490 – 610 μm) acquired from an example mouse before and 28 days after the photo-thrombosis. The flattened angiograms are hue-saturation-brightness (HSB) color-coded with hue representing the capillary local orientation with respect to the direction pointing towards the white dot which coincides with the ischemic center. The images (a) and (b) are slightly shifted. The scale bar = 0.1 mm. (a) and (b) share the same scale bar and colorbar. (c) Distribution of capillary orientation from (a). The capillary orientation is uniformly distributed between $-\pi/2$ and $\pi/2$. (d) The distribution of capillary orientation derived from (b) displays a strong peak around 0 rad. The orange bins in the histograms (c-d) represent capillary segments whose orientation with respect to the ischemic center is within $[-\pi/12, \pi/12]$, and these capillary segments are considered to be aligned with the direction of the ischemic center. (e) Case-by-case plots of the evolution of the percentage of the capillary segments which were aligned with the direction of the ischemic center at 3 different depth ranges for the 5 mice during the course of 28 days. (f) Distribution of capillary angular orientation before and 28 days after the photo-thrombosis at the three aforementioned depths ranges. The data in (f) are presented as mean \pm standard deviation (STD)..... 105

Figure 5-6 : Identification of stalled capillary segments from OCT-angiogram time series. (a) En face MIP of a 3D angiogram acquired in an example mouse 28 days after the photo-thrombosis. Six of the capillaries experiencing stalling events are indicated by arrows of different colors. (b) Stalling event timeline throughout 60 frames for the six capillary segments, where stalling events are labeled as black spots. Each arrow represents one capillary segment, and their color matches with that of the arrows used in (a). (c-e) Zoomed-in ROI taken from (a). The capillaries undergoing stalling events are marked by arrowhead. Solid ones are used to indicate the moments when the capillary segments could be seen, and hollow ones are used to indicate the moments when the capillaries disappeared, namely that they were stalled. 107

Figure 5-7 : Comparison of capillary stalling events between the baseline and the measurement taken 28 days after photo- thrombosis. (a) Stalling event density and (b) stall incidence measured from baseline and Day-28 OCT-angiogram time series at three different depths beneath the cortical surface. D1, D2 and D3 represent respectively the depth ranges 230-270

μm , 380-420 μm and 530-570 μm . The data are presented as mean \pm STD. (c) Distribution of stalled capillary segments in terms of the stalling event number for the baseline measurement and Day-28 measurement..... 108

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

AVC	Accident vasculaire cérébral
CDF	Fibre double-gaine (double-clad fiber)
CT	Tomodensitométrie (computed tomography)
DC	Courant continu (direct current)
DECT	Tomodensitométrie à double énergie (double energy computed tomography)
DOCT	Doppler tomographie par cohérence optique (Doppler optical coherence tomography)
FD-OCT	Tomographie par cohérence optique dans le domaine de Fourier (Fourier-domain optical coherence tomography)
FWHM	Largeur à mi-hauteur (full width at half maximum)
GPU	Processeur graphique (graphics processing unit)
ICG	Vert d'indocyanine (indocyanine green)
ISOI	Imagerie optique intrinsèque (intrinsic signal optical imaging),
IVUS	Échographie intravasculaire (intravascular ultrasound)
MCAo	Occlusion de l'artère cérébrale moyenne (middle cerebral artery occlusion)
MCV	Maladie cardiovasculaire
MDCT	Tomodensitométrie multidétecteur (multidetector computed tomography)
MRI	Imagerie par résonance magnétique (magnetic resonance imaging)
NA	Ouverture numérique (numerical aperture)
NIRF	Fluorescence proche infrarouge (near infrared fluorescence)
OCE	Élastographie par tomographie par cohérence optique (optical coherence elastography)
OCT	Tomographie par cohérence optique (optical coherence tomography)
PR-DOCT	Doppler tomographie par cohérence optique résolue en phase (phase-resolved Doppler optical coherence tomography)
PS-OCT	Tomographie par cohérence optique sensible à la polarisation (polarization sensitive optical coherence tomography)
SD-OCT	Tomographie par cohérence optique dans le domaine spectral (spectral-domain optical coherence tomography)

SOCT	Tomographie par cohérence optique spectroscopique (spectroscopic optical coherence tomography)
SPAD	Module de diode à avalanche monophotonique (single photon avalanche diode)
SS-OCT	Tomographie par cohérence optique à source à balayage (swept-source optical coherence tomography)
TD-OCT	Tomographie par cohérence optique dans le domaine temporel (time-domain optical coherence tomography)
TFCT	Transformée de Fourier à court terme (phase-resolved Doppler optical coherence tomography)
TFI	Transformée de Fourier inverse (inverse Fourier transform)
TiO ₂	Dioxyde de titane

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Contexte et problématique

Les maladies cardiovasculaires (MCV) regroupent l'ensemble des affections qui touchent le cœur et les vaisseaux sanguins. Pourtant, les dommages causés par ces maladies ne se limitent pas seulement au système cardiovasculaire, qui achemine l'oxygène et les nutriments vitaux à tous les organes et élimine leurs déchets. La présence de MCV perturbe la circulation sanguine locale, et par conséquent, entraîne le dysfonctionnement des organes concernés de manière transitoire ou permanente. Selon les statistiques du « Institute for Health Metrics and Evaluation », les MCV se trouvent toujours en tête dans la liste des causes de mortalité à l'échelle mondiale (Hannah & Max, 2017; Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), 2018). La cardiomyopathie ischémique et la maladie cérébrovasculaire sont rapportées comme les types de MCV les plus répandues. Les données publiées par Statistique Canada indiquent que ces deux types de MCV sont parmi les causes principales de décès au Canada, demeurant au 2^{ème} et 3^{ème} rang respectivement juste après les tumeurs malignes (Statistique Canada, 2018).

La cardiomyopathie ischémique survient lorsque les artères coronaires ne réussissent pas à transporter suffisamment de sang oxygéné et riche en nutriments au myocarde à cause du blocage partiel ou complet de ces artères, ce qui détériore significativement les fonctions du cœur et parfois entraîne le décès du patient. Le blocage dans les artères coronaires est souvent causé par l'athérosclérose, qui se caractérise par l'accumulation de graisse, cholestérol et d'autres substances au niveau de l'intima. La plaque d'athérome peut réduire la lumière des artères coronaires au cours du temps. Les plaques vulnérables peuvent aussi se rompre, libérant du matériel thrombogène, qui par la suite se transforme en thrombus et obstrue les vaisseaux. Ainsi, la détection et l'évaluation de la maladie coronarienne ou l'athérosclérose prennent une importance réelle en clinique pour le diagnostic, la gestion, le traitement et le pronostic de la cardiomyopathie ischémique (Doesch, 2014; Mancini et al., 2014; Mintz & Guagliumi, 2017). À date, de nombreuses techniques d'imagerie ont été développées et mises à disposition pour révéler les différents aspects des artères coronaires atteintes d'athérosclérose, et pour évaluer directement la plaque d'athérome elle-même. La

tomodensitométrie ou la tomographie calculée (TC) est une technique qui est largement utilisée en clinique pour la détection des maladies coronariennes grâce à sa sensibilité exceptionnelle (J. H. Lee et al., 2016). Elle a joui d'un grand succès en imagerie cardiovasculaire après l'introduction de la tomodensitométrie multidétecteur (MDCT), qui se distingue de la tomodensitométrie traditionnelle par une plus grande rapidité d'acquisition, une meilleure résolution spatiale et une plus large couverture anatomique (Burrill, Dabbagh, Gollub, & Hamady, 2007). Les applications en dérivées sont exploitées pour évaluer la sténose coronaire, quantifier le score calcique coronaire et calculer la réserve d'écoulement fractionnaire en utilisant les données de coronarographie (J. H. Lee et al., 2016). La tomodensitométrie à double énergies (DECT), une nouvelle technique se servant de deux rayons X de différents spectres, est capable de fournir des informations sur la composition tissulaire des artères coronaires atteintes d'athérosclérose en plus des informations anatomiques déjà disponibles avec la TC conventionnelle (Danad, Fayad, Willeminck, & Min, 2015). L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une autre modalité d'imagerie non-invasive prometteuse pour le diagnostic des maladies coronariennes. Elle est généralement capable de mieux évaluer les caractéristiques des tissus mous par rapport à la CT. L'IRM a aussi l'avantage de combiner naturellement l'analyse de l'anatomie coronaire avec l'évaluation de la fonction, de la viabilité et de la perfusion de stress cardiaque dans une même étude sans exposer les patients aux radiations ionisantes (Foley, Plein, & Greenwood, 2017; Sakuma, 2011). Mais la relativement faible résolution spatiale et la longue durée d'acquisition de l'IRM coronaire, la petite taille des artères coronaires et le mouvement cardiaque représentent toujours des défis à vaincre avant que l'IRM ne soit utilisée à plus grande échelle pour la coronarographie dans la pratique clinique (Chiribiri, Botnar, & Nagel, 2013; Sakuma, 2011). Bien que les techniques non invasives comme la TC et l'IRM démontrent de grands potentiels pour la détection de l'athérosclérose, la précision de l'évaluation de la morphologie et de la composition de la plaque athérosclérotique reste toujours limitée (Patel et al., 2017). L'imagerie intravasculaire par cathéter offre ici une solution alternative pour examiner l'athérosclérose avec un angle différent. Par exemple, l'échographie intravasculaire (IVUS), une technique développée et utilisée en clinique depuis plus de deux décennies, permet de visualiser le remodelage expansif associé à la plaque d'athérome, qui ne cause

pas de sténose et donc souvent « invisible » sur l'angiographie. Avec l'IVUS, l'image en 3D de la paroi des artères coronaires peut être reconstruite pour évaluer l'extension de la plaque dans la direction longitudinale et axiale (Garcia-Garcia, Costa, & Serruys, 2010). Des plateformes IVUS les plus récentes intègrent aussi l'analyse du signal radiofréquence, qui offre la possibilité de caractériser certains composants tissulaires de la plaque (García-García et al., 2009). Pourtant, l'étude a montré que les différentes plateformes produisaient une importante variabilité dans l'estimation de la composition tissulaire de plaque (E.-S. Shin et al., 2011). L'émergence de la tomographie par cohérence optique (OCT) intravasculaire a suscité beaucoup de comparaisons avec IVUS en termes d'évaluation de la plaque et de guidage durant l'angioplastie coronaire (Matthews & Frishman, 2017; Rathod, Hamshere, Jones, & Mathur, 2015). L'OCT est surtout connue pour sa haute résolution spatiale (10 – 20 μm), qui lui permet de résoudre de fines structures de la plaque. Par exemple, Elle est la seule technique d'imagerie qui est capable de mesurer *in vivo* la chape fibreuse de la plaque d'athérome, l'une des caractéristiques les plus importantes pour identifier les plaques vulnérables (Kini et al., 2017). Mais les informations biochimiques sur l'inflammation et la composition de la lésion d'athérosclérose fournies par l'OCT intravasculaire restent limitées. L'imagerie moléculaire en fluorescence peut être intégrée dans le système OCT intravasculaire conventionnel pour pallier cet inconvénient. Cette technique avec une bonne sélectivité et une grande sensibilité est capable de détecter la présence de certaines molécules en très faible quantité (Calfon, Vinegoni, Ntziachristos, & Jaffer, 2010). Ainsi, la combinaison de l'imagerie de fluorescence avec l'OCT intravasculaire peut ouvrir de nouvelles perspectives pour diagnostiquer et étudier la maladie d'athérosclérose.

Les maladies vasculaires ne se limitent pas aux gros vaisseaux : La maladie cérébrovasculaire est aussi handicapante et mortelle que la cardiomyopathie ischémique, et les patients survivant à cette maladie souvent souffrent de détérioration des fonctions cognitives (Kalaria, 2012). Elle comprend deux grandes catégories, ischémique et hémorragique. Brièvement, le premier type se produit lorsque l'approvisionnement en sang du cerveau est réduit ou complètement bloqué, alors que le deuxième type survient quand les vaisseaux éclatent menant à l'accumulation de sang dans le cerveau. Le type hémorragique est hors du sujet de cette thèse, et on s'intéresse plutôt au type ischémique.

Comme dans le cas de la cardiomyopathie ischémique, la maladie cérébro-vasculaire ischémique est également fréquemment associée à l'athérosclérose (Good, 1990). L'IRM et la TC sont des modalités d'imagerie largement utilisés en clinique pour la détection de l'anomalie structurelle et la dégénération fonctionnelle des vaisseaux cérébraux (Lin, Rawal, Agid, & Mandell, 2018) et l'évaluation des tissus de l'infarctus (Heit & Wintermark, 2016; Shih et al., 2003). Cependant, à ce jour, il y a très peu de données *in vivo* pour montrer directement les impacts nocifs de l'athérosclérose sur la micro-vascularisation, et l'interaction entre la détérioration de la micro-vascularisation et l'oxygénation du tissu cérébral avant que l'accident vasculaire cérébral (AVC) ne se déclare. Des modèles animaux d'athérosclérose (ATX) ont été générés et utilisés depuis plus de 50 ans (Y. T. Lee et al., 2017). L'utilisation des souris transgéniques qui développent l'athérosclérose spontanément est cependant relativement récente mais a déjà fait beaucoup avancer la recherche sur cette maladie qui touche une grande population dans le monde (Emini Veseli et al., 2017; Sanan et al., 1998). L'utilisation de ces souris génétiquement modifiées permet aux chercheurs de pratiquer des procédures chirurgicales relativement invasives tant qu'elles sont conformes aux normes d'éthique. Par exemple, une fenêtre crânienne est souvent préparée afin de pouvoir imager le tissu cérébral et la vascularisation cérébrale à l'aide des techniques d'imagerie optique (Mostany & Portera-Cailliau, 2008), comme l'OCT, la microscopie par excitation à deux photons, etc.

En tant que modèle valide et économique pour étudier les effets à long terme de l'athérosclérose sur la vascularisation cérébrale, les souris transgéniques ATX ne peuvent cependant pas être utilisées pour simuler l'AVC chez l'humain, car nous ne pouvons pas savoir si une souris ATX spécifique va avoir un AVC dans sa vie, quand l'AVC va survenir ou quels vaisseaux l'AVC va toucher. L'utilisation des modèles de souris AVC peut régler ce problème. Ces modèles visent à bloquer un ou plusieurs vaisseaux cérébraux de la souris de manière délibérée en vue d'induire des lésions ischémiques dans le cerveau. Les modèles de souris AVC comprennent le modèle d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne (MCAo), le modèle de craniotomie, le modèle de photo-thrombose, le modèle d'endothéline-1 et le modèle d'AVC embolique (Fluri, Schuhmann, & Kleinschnitz, 2015). Ces modèles de souris AVC offrent un outil utile pour étudier les conséquences directes de

ces évènements ischémiques cérébraux et le rétablissement de la vascularisation et du tissu endommagés dans la phase de récupération.

1.2 Objectifs

L'objectif général de la thèse est de développer des méthodes d'imagerie de tomographie par cohérence optique, combinées à d'autres mesures, afin de mieux caractériser la maladie vasculaire.

Objectif 1

Le premier projet découlant de cette thèse consiste à fabriquer un système d'imagerie intravasculaire qui combine l'OCT et l'imagerie par fluorescence proche infrarouge (NIRF) qui peut éventuellement servir à la détection et l'évaluation de la plaque d'athérome dans les artères coronaires. Ce système a pour originalité d'avoir intégré une nouvelle technique pour la détection de fluorescence avec un module de diode à avalanche monophotonique (SPAD) à déclenchement rapide permettant d'augmenter la sensibilité au signal fluorescent. L'objectif de ce projet est de développer et valider *ex vivo* le système d'imagerie intravasculaire à double modalité.

Proceeding de conférence relié:

Lu, Y., Abran, M., Cloutier, G., & Lesage, F. (2018, February). Catheter-based time-gated near-infrared fluorescence/OCT imaging system. In *Diagnostic and Therapeutic Applications of Light in Cardiology 2018* (Vol. 10471, p. 104710D). International Society for Optics and Photonics.

Objectif 2

Le deuxième projet vise à étudier les impacts de la maladie d'athérosclérose sur la microvascularisation cérébrale et l'oxygénation du tissu cérébral chez des souris transgéniques. Plusieurs techniques d'imagerie optique ont été utilisées dans cette étude, y compris l'imagerie optique intrinsèque (ISOI), l'OCT et la microscopie à deux photons, pour évaluer quantitativement la dégénération structurelle et fonctionnelle des petits vaisseaux et les effets néfastes en résultant sur l'oxygénation du tissu cérébral irrigué par ces vaisseaux.

Article relié:

Lu, Y., Zhang, C., Lu, X., Moeini, M., Thorin, E., & Lesage, F. (2019). Impact of atherosclerotic disease on cerebral microvasculature and tissue oxygenation in awake LDLR^{-/-} hApoB^{+/+} transgenic mice. *Neurophotonics*, 6(4), 045003.

Objectif 3

Le troisième projet exploite la conception d'un système OCT à haute résolution pour imager le cerveau des souris éveillées. Nous nous sommes ensuite servis de ce système pour étudier des impacts de l'AVC ischémique sur le tissu cérébral et la microvascularisation. Cette étude longitudinale a fait un suivi de la réparation du tissu cérébral et la régénération du réseau capillaire jusqu'à 28 jours après la photo-thrombose. Le blocage capillaire, l'arrêt complet du flux sanguin dans des capillaires, a également été analysé sur les données acquises avant et 28 jours après la photo-thrombose.

Article relié:

Lu, Y., Lu, X., Zhang, C., Marchand, P. J., & Lesage, F. (submitted). Longitudinal optical coherence tomography imaging of tissue repair and microvasculature regeneration and function after targeted cerebral ischemia. *Journal of Biomedical Optics*.

Durant ma thèse, à part les trois projets principaux, j'étais également impliqué dans plusieurs autres projets, dont certains ont mené à des publications de conférence et des articles dans des revues scientifiques. Ma contribution à ces projets était surtout liée au montage des systèmes optiques, au développement des programmes d'acquisition et au traitement de données. Les publications sont listées comme suit :

- Saha, S., **Lu, Y.**, Weyers, S., Lesage, F., & Sawan, M. (2018, October). Miniaturized Probe for Time-Domain Near-Infrared Spectroscopy. In *2018 IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS)* (pp. 1-4). IEEE.
- Saha, S., **Lu, Y.**, Weyers, S., Sawan, M., & Lesage, F. (2018). Compact Fast Optode-Based Probe for Single-Photon Counting Applications. *IEEE Photonics Technology Letters*, 30(17), 1515-1518.

- Saha, S., **Lu, Y.**, Weyers, S., Lesage, F. & Sawan, M. (submitted). Compact Optical Probe for Time-resolved NIRS-imaging. *IEEE Transactions of Circuits and Systems I*.
- Grasland-Mongrain, P., **Lu, Y.**, Lesage, F., Catheline, S., & Cloutier, G. (2016). Generation of shear waves by laser in soft media in the ablative and thermoelastic regimes. *Applied physics letters*, 109(22), 221901.
- Lu, X., Moeini, M., Li, B., de Montgolfier, O., **Lu, Y.**, Thorin, E., & Lesage, F. (2019, July). Brain tissue oxygenation is modulated by voluntary exercise in AD awake mice. In *JOURNAL OF CEREBRAL BLOOD FLOW AND METABOLISM* (Vol. 39, pp. 62-63). 2455 TELLER RD, THOUSAND OAKS, CA 91320 USA: SAGE PUBLICATIONS INC.
- Lu, X., Moeimi M., Li, B., de Montgolfier, O., **Lu Y.**, Bélanger S., Thorin, E., & Lesage, F. (accepted). Voluntary exercise increases brain tissue oxygenation and spatially homogenizes oxygen delivery in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 2019
- Lu, X., Moeimi M., Li, B., **Lu Y.**, Damseh, R., Pouliot P., Thorin, E., & Lesage, F. (accepted). Changes in capillary hemodynamics and its modulation by exercise in the APP-PS1 Alzheimer mouse model. *Frontiers in Neuroscience*, 2019
- Lu, X., Moeini, M., Li, B., **Lu, Y.**, Damseh, R., Pouliot, P., ... & Lesage, F. (2019, July). Effect of exercise on capillary red blood cell dynamics in transgenic ad mice. In *JOURNAL OF CEREBRAL BLOOD FLOW AND METABOLISM* (Vol. 39, pp. 319-320). 2455 TELLER RD, THOUSAND OAKS, CA 91320 USA: SAGE PUBLICATIONS INC.
- Marchand, P. J., **Lu, Y.**, Lu, X., Zhang, C. & Lesage, F. (submitted). In vivo validation of OCT hemodynamic measurement techniques with two-photon microscopy. *Optical Coherence Tomography and Coherence domain Optical Methods in Biomedicine*. International Society for Optics and Photonics.

1.3 Organisation de la thèse et cohérence des articles

L'objectif général de cette thèse est de développer des systèmes d'imagerie basés sur l'OCT et de les exploiter pour étudier les maladies cardiovasculaires. Le deuxième chapitre consiste en une revue de littérature sur l'OCT, ses extensions fonctionnelles ainsi que leurs applications. Les trois chapitres suivants présentent respectivement les trois projets principaux sur lesquels cette thèse se supporte, dont l'un a mené à une présentation lors de la conférence Photonics West 2018 et les deux autres ont conduit à la soumission d'articles dans des revues scientifiques avec un comité de lecture. Le sixième chapitre est une discussion générale sur les trois projets et le dernier chapitre donne une conclusion de cette thèse.

Le premier projet vise à développer un système d'imagerie intravasculaire qui peut être utilisé pour la détection et la caractérisation des plaques athérosclérotiques à l'intérieur des vaisseaux sanguins (p.ex., artère coronaire). Le système basé sur l'OCT a également intégré la NIRF, et par conséquent, il a permis non seulement d'évaluer l'anatomie mais aussi de fournir des informations moléculaires. La conception, la construction et la validation *ex vivo* de ce système d'imagerie intravasculaire bimodale ont été présentées dans une conférence de Photonics West 2018. Dans le deuxième projet, au lieu de nous intéresser aux plaques d'athérome elles-mêmes, nous avons étudié l'effet global de l'athérosclérose sur la vascularisation cérébrale et l'oxygénation tissulaire associée. L'article issu de ce travail a été accepté par le journal *Neurophotonics*. L'athérosclérose étant une cause principale de l'AVC, cela nous a conduits au troisième projet de recherche. Nous avons construit un système OCT pour étudier la réparation du tissu et la régénération de la microvascularisation cérébrale suite à un AVC. L'article découlant du troisième projet a été soumis à la revue *Journal of Biomedical Optics*.

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 Tomographie par cohérence optique

La tomographie par cohérence optique (OCT), qui peut être classifiée dans la catégorie de l'imagerie optique balistique, a été introduite par Fujimoto et al. au début des années 1990s (Huang et al., 1991). Cette technique d'imagerie occupe désormais une place importante dans la recherche scientifique, surtout dans le domaine biomédical (Fujimoto, Pitris, Boppart, & Brezinski, 2000; Walther et al., 2011) grâce à ses nombreux avantages, haute résolution, non-invasive, rapidité de l'acquisition, grand champ de vue, grande profondeur de pénétration, etc. En même temps, ses applications ne cessent de se multiplier après l'introduction de ses diverses extensions fonctionnelles. L'OCT est maintenant largement utilisée pour des études ex vivo ainsi qu'in vivo dans de différentes branches de la médecine, y compris l'ophtalmologie (Wolfgang Drexler et al., 2001; Puliafito et al., 1995), la dermatologie (Pierce, Strasswimmer, Hyle Park, Cense, & de Boer, 2004), la cardiologie (Bezerra, Costa, Guagliumi, Rollins, & Simon, 2009), la gastro-entérologie (Zagaynova, Gladkova, Shakhova, Gelikonov, & Gelikonov, 2008) et les neurosciences (Baran & Wang, 2016; Baumann, 2019).

2.2 Théorie de l'OCT

L'OCT est souvent décrite comme un analogue à l'imagerie ultrasonore du fait qu'elles partagent certaines similarités au niveau de la façon dont les images sont produites. Les faisceaux sondes (la lumière pour l'OCT et l'ultrason pour l'imagerie ultrasonore) sont d'abord envoyés vers l'échantillon, et les échos réfléchis par les microstructures internes de l'échantillon sont ensuite détectés et numérisés par le système. En décodant ces échos, on est capable de reconstruire le profil de la structure le long de la direction axiale, autrement dit A-lines, qui constituent par la suite des images transversales. Présentement il n'existe pas de détecteur qui est assez rapide pour détecter directement des pulses de lumière de la même manière que l'on détecte l'ultrason. Pour répondre à ce problème, l'OCT a recours à l'interférométrie à faible cohérence.

2.2.1 Interféromètre de Michelson

Bien que l'OCT ait beaucoup évolué depuis les deux dernières décennies, le cœur du système d'imagerie reste le même, l'interféromètre de Michelson (Figure 2-1 (a)). Un faisceau de lumière est envoyé par la source avant d'atteindre un miroir semi-réfléchissant, aussi appelé lame séparatrice. La lame séparatrice divise le faisceau en deux : une moitié de la lumière se dirige vers le miroir 1 et l'autre moitié continue son chemin vers le miroir 2. Ensuite les deux rayons sont réfléchis par les deux miroirs et combinés ensemble avant d'être détectés par un photodétecteur. Les deux ondes de lumière interagissent, ce que l'on appelle l'interférence. On dénomme le trajet de la lumière entre la lame séparatrice et le miroir 1 le bras de référence, et le trajet entre la lame séparatrice et le miroir 2 le bras d'échantillon.

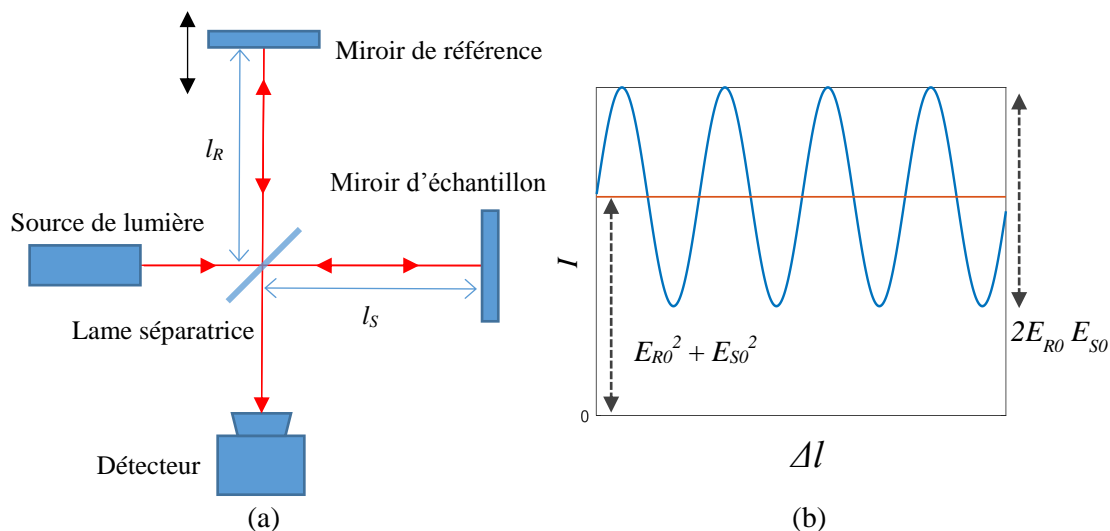


Figure 2-1 : (a) Schéma de l'interféromètre de Michelson. Les flèches rouges indiquent la direction de la propagation de la lumière à l'air libre. l_R est la distance entre le miroir de référence et la lame séparatrice, et l_S est la distance entre le miroir d'échantillon et la lame séparatrice. Le miroir 1 du bras de référence peut être installé sur un stage de translation pour pouvoir varier la distance l_R . (b) Signal d'interférence de l'interféromètre de Michelson avec une source de lumière monochromatique.

On va d'abord regarder un cas où une source de lumière monochromatique avec une longueur d'onde λ_0 est utilisée. L'amplitude du photocourant, I , généré par le

photodétecteur est proportionnelle au carré de l'amplitude de la superposition des deux champs électriques dénotés par E_R et E_S respectivement :

$$I \propto (E_R + E_S)^2. \quad (2-1)$$

L'équation 2-1 peut être développée plus avant comme suit (L. V. Wang & Wu, 2009) :

$$I \propto E_{R0}^2 + E_{S0}^2 + 2E_{R0}E_{S0} \cos(2k_R l_R - 2k_S l_S), \quad (2-2)$$

où E_{R0} et E_{S0} sont l'amplitude des champs électriques E_R et E_S , et k_R et k_S sont les nombres d'ondes pour les deux bras. Le nombre d'onde du champ électrique de la lumière est défini comme suit :

$$k_0 = 2\pi n/\lambda_0 = \omega_0 n/c, \quad (2-3)$$

où n est l'indice de réfraction du milieu de propagation, ω_0 est la fréquence angulaire et c est la vitesse de la lumière dans le vide. Lorsque le bras de référence et le bras d'échantillons s'agissent du même type de milieu, le nombre d'onde pour les deux bras sera identique et l'équation 2-2 peut ainsi être réécrite :

$$I \propto E_{R0}^2 + E_{S0}^2 + 2E_{R0}E_{S0} \cos(2k_0 \Delta l), \quad (2-4)$$

où Δl est la différence de la longueur des deux bras. Le signal comprend ainsi deux parties, une composante DC, $E_{R0}^2 + E_{S0}^2$, et une composante AC, $2E_{R0}E_{S0} \cos(2k_0 \Delta l)$, qui résulte de l'interférence. On peut remarquer que le signal d'interférence est indépendant du temps, et que son oscillation périodique en fonction de la différence de la longueur entre les deux bras s'étend théoriquement sur une distance infinie (Figure 2-1 (b)). Supposant que le miroir d'échantillon reste immobile et que le miroir de référence se déplace à une vitesse constante, v_R , dans la direction de la propagation de la lumière, le photocourant détecté, I , peut ainsi être associé au temps, t :

$$I(t) \propto E_{R0}^2 + E_{S0}^2 + 2E_{R0}E_{S0} \cos(2k_0 \Delta l_0 + 2k_0 v_R \cdot t), \quad (2-5)$$

où Δl_0 désigne la différence de marche entre les deux bras lorsque $t = 0$.

2.2.2 OCT dans le domaine temporel

Dans la section précédente, on a parlé de l'interféromètre de Michelson qui utilise une source de lumière monochromatique ou cohérente (p. ex., laser continu). Lorsque la source

cohérente est remplacée par une source de lumière à faible cohérence (p. ex., diodes superluminescentes), on appelle ce type de dispositif optique l'interféromètre à faible cohérence, sur lequel est basée l'OCT (Huang et al., 1991). Selon la manière dont le système est monté, l'OCT peut être davantage divisée en deux grandes catégories : OCT dans le domaine temporel (TD-OCT) et OCT dans le domaine de Fourier (FD-OCT). Dans cette section, on va d'abord aborder le principe de la TD-OCT.

Selon le théorème de Wiener-Khinchin, la densité spectrale de puissance de la lumière, $|E(\omega)|^2$, est la transformé de Fourier de sa fonction d'autocorrélation, $R_X(\tau)$:

$$|E(\omega)|^2 = \mathcal{F}(R_X(\tau)) = \int_{-\infty}^{\infty} R_X(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau, \quad (2-6)$$

ce qui veut dire que plus la bande spectrale de la source de lumière est large, plus la longueur de cohérence est petite. On suppose que la densité spectrale de puissance de la lumière suit une distribution gaussienne normalisée:

$$S(\omega) = |E(\omega)|^2 = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_\omega} e^{\left(-\frac{(\omega-\omega_0)^2}{2\sigma_\omega^2}\right)}, \quad (2-7)$$

où ω_0 représente la fréquence angulaire centrale et σ_ω représente l'écart type de ω . Sans considération de la composante DC qui peut être facilement filtrée, le signal d'interférence peut être exprimé comme suit (L. V. Wang & Wu, 2007) :

$$\begin{aligned} I &\propto 2E_{R0}E_{S0} \cdot \exp\left(-\frac{\Delta l^2}{2\sigma_l^2}\right) \cdot \cos(2k_0\Delta l) \\ &= 2E_{R0}E_{S0} \cdot \exp\left(-\frac{\Delta l^2}{2\sigma_l^2}\right) \cdot \cos(2k_0\Delta l_0 + 2k_0v_R \cdot t). \end{aligned} \quad (2-8)$$

σ_l est inversement proportionnel à σ_ω selon l'équation 2-6, et k_0 est proportionnel à ω_0 selon l'équation 2-3. La fréquence d'oscillation sinusoïdale du signal d'interférence dépend toujours de la longueur d'onde centrale de la lumière comme dans le cas de l'interféromètre de Michelson (équation 2-4). Cependant, son amplitude est modulée par une enveloppe gaussienne, $\exp\left(-\frac{\Delta l^2}{2\sigma_l^2}\right)$. Donc, au contraire de l'interféromètre conventionnel, l'interférence de la TD-OCT ne se produit que sur une petite distance de l'ordre de micromètre lorsque les deux bras sont quasiment égaux. Cet effet est ce que l'on appelle « gating » de cohérence (coherence gating en Anglais). Un cas simplifié pour TD-OCT est

montré dans la Figure 2-2 où un échantillon transparent est placé dans le bras d'échantillon. La lumière n'est réfléchi qu'au niveau des deux interfaces entre l'échantillon et l'air, car il n'y a pas de diffuseur à l'intérieur de l'échantillon. Les deux enveloppes gaussiennes correspondent ainsi à ses deux interfaces avec l'air. La résolution axiale définie comme la FWHM de l'enveloppe gaussienne peut être calculée comme suit (L. V. Wang & Wu, 2007):

$$\Delta R_z = (2 \ln 2 \cdot \lambda_0^2) / (\pi \cdot \Delta \lambda), \quad (2-9)$$

où λ_0 et $\Delta \lambda$ désignent la longueur d'onde centrale et la FWHM du spectre en longueur d'onde respectivement. Nous pouvons remarquer que la résolution axiale de TD-OCT dépend complètement de la source de la lumière. Cet exemple simplifié peut s'étendre au tissu biologique turbide qui contient plein de micro-diffuseurs/micro-rélecteurs à l'intérieur. En variant la différence de longueur entre les bras de référence et d'échantillon (par le déplacement du miroir dans le bras de référence), la TD-OCT est capable de tracer le profil axial de la structure du tissu biologique.

La résolution axiale et la résolution latérale sont indépendantes en OCT. Lorsque la source de lumière est un faisceau gaussien, la résolution latérale de la TD-OCT définie comme la FWHM peut être exprimé en fonction de la longueur d'onde centrale, λ_0 , et l'ouverture numérique de l'objectif, NA (Paschotta, 2008):

$$\Delta R_L = 0.75 \cdot \frac{\lambda_0}{NA}. \quad (2-10)$$

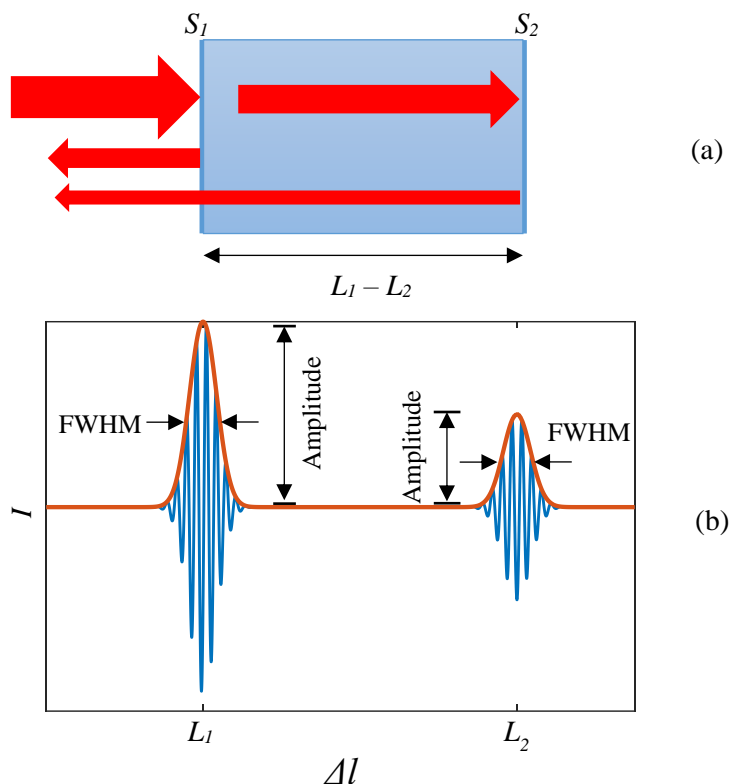


Figure 2-2 : (a) Le bloc bleu représente un échantillon transparent non-diffusant, qui remplace le miroir dans le bras d'échantillon de l'interféromètre. S_1 et S_2 sont les interfaces entre l'échantillon et l'air, qui réfléchissent en partie la lumière d'incidence. La distance entre les deux surfaces est L_1-L_2 . Les flèches rouges désignent les faisceaux de lumière. L'épaisseur des flèches indique qualitativement leur intensité. (b) Le signal d'interférence est en bleu, et son enveloppe gaussienne est en rouge. Les deux pics à L_1 et à L_2 sont dus à la présence des interfaces S_1 et S_2 . La résolution axiale définie comme la FWHM des enveloppes gaussiennes est déterminée par la largeur du spectre de la source de lumière. L'amplitude des enveloppes gaussiennes est proportionnelle à la réflectivité des interfaces.

Bien que la résolution axiale soit théoriquement constante (Figure 2-2 (b)), la résolution latérale n'est maintenue qu'à l'intérieur de la profondeur de champ, qui est également appelée paramètre confocal (deux fois la portée de Rayleigh) :

$$z_R = 2\lambda_0/(\pi \cdot NA^2) . \quad (2-11)$$

Les équations 2-10 et 2-11 suggèrent qu'un objectif avec une grande NA mène à une excellente résolution latérale mais limite la profondeur de champ. Au contraire, un objectif avec une petite NA étend la profondeur de champ au détriment de la résolution latérale. Nous devons ainsi trouver un compromis entre la résolution latérale et la profondeur de champ selon les besoins de l'application. La plupart des systèmes commerciaux utilisent un objectif avec une petite NA afin d'avoir une résolution latérale relativement uniforme sur une distance de l'ordre de millimètre (Popescu et al., 2011). Au contraire, en microscopie à tomographie par cohérence optique, une excellente résolution latérale est généralement primordiale et un objectif avec une grande NA est donc préférable (Lefebvre, Castonguay, & Lesage, 2018; Srinivasan, Radhakrishnan, Jiang, Barry, & Cable, 2012). Pour surmonter cette limitation intrinsèque, la focalisation dynamique a été proposée pour la TD-OCT. Cette technique consiste à déplacer le focus du faisceau lumineux dans la direction axiale en synchronisant le déplacement du bras de référence afin d'assurer la superposition du « gate » de cohérence avec le focus (Cobb, Liu, & Li, 2005; Lexer et al., 1999; Pircher, Götzinger, & Hitzenberger, 2006; Qi et al., 2004). La résolution latérale peut ainsi être maintenue sur toute la profondeur de l'image. De plus, la focalisation dynamique préserve également la sensibilité le long de la profondeur (Su et al., 2015).

2.2.3 OCT dans le domaine de Fourier

Comme susmentionné, il existe une autre famille de systèmes OCT, l'OCT dans le domaine de Fourier (FD-OCT), qui a été rapportée pour la première en 1995 (A.F. Fercher, Hitzenberger, Kamp, & El-Zaiat, 1995) et a rapidement trouvé ses applications médicales quelques années plus tard (Häusler & Lindner, 1998; Maciej Wojtkowski, Leitgeb, Kowalczyk, Bajraszewski, & Fercher, 2002). Contrairement à la TD-OCT, la FD-OCT ne déplace pas son bras de référence pendant l'acquisition des A-lines. Le profil de réflectance en profondeur est encodé dans le patron d'interférence qui est en fonction de la longueur d'onde. La FD-OCT peut être davantage divisée en deux sous-catégories selon la configuration du système, OCT dans le domaine spectral (SD-OCT), et OCT à source à balayage (SS-OCT) (Bouma, Yun, Vakoc, Suter, & Tearney, 2009). La SD-OCT enregistre le pattern d'interférence avec un spectromètre de façon parallèle (Figure 2-3 (a)), tandis que la SS-OCT acquiert l'interférogramme en fonction du temps avec un laser

accordable qui balaie rapidement la longueur d'onde sur une large bande (Figure 2-3 (b)). L'acquisition d'une A-line entière en parallèle sans déplacer le bras de référence distingue la FD-OCT de la TD-OCT. Cette caractéristique lui procure aussi des avantages sans précédent par rapport à la vitesse d'imagerie et la sensibilité par rapport à la TD-OCT (de Boer, Leitgeb, & Wojtkowski, 2017; R. Leitgeb, Hitzenberger, & Fercher, 2003; Yaqoob, Wu, & Yang, 2005).

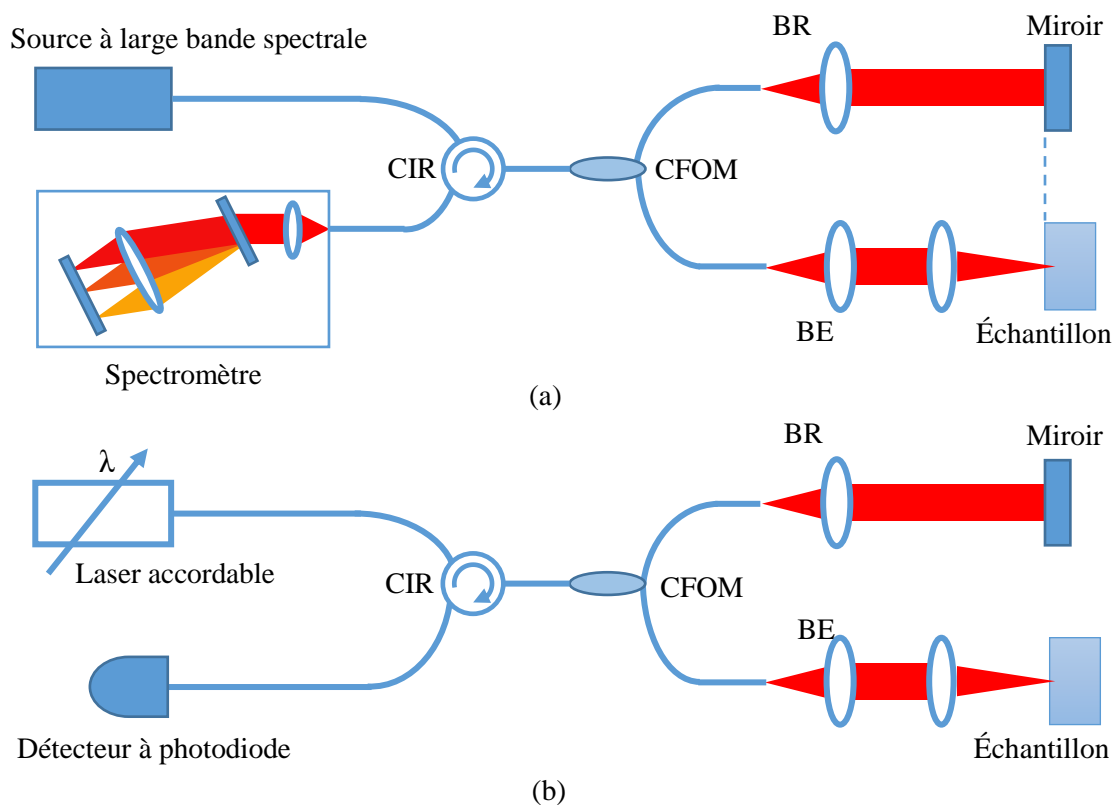


Figure 2-3 : (a) Schéma de la configuration typique du système SD-OCT à fibres optiques. L'ensemble de l'échantillon est normalement placé plus loin que le miroir de référence pour éviter l'ambiguïté associée à la transformée de Fourier. (b) Schéma du système SS-OCT à fibres optiques. En réalité, la détection équilibrée est souvent employé en SS-OCT à la place d'un simple photodiode afin d'avoir un meilleur SNR (Podoleanu, 2000; Rollins & Izatt, 1999). CIR : circulateur, CFOM : coupleur à fibre optique monomode, BR : bras de référence, BE : bras d'échantillon.

Il faut noter que les principes derrière SD-OCT et SS-OCT sont très similaires. Mais étant donné que les systèmes OCT construits pour les projets de cette thèse se basent tous sur SD-OCT, on utilise donc la configuration de la SD-OCT pour expliquer la théorie de la FD-OCT. On va d'abord regarder le cas le plus simple : l'échantillon s'agit d'un miroir dont la réflectivité est 1 et le coupleur à fibre optique monomode utilisé est 50:50. Le miroir de référence réfléchit 100% de la lumière. À supposer que la dispersion dans les deux bras est négligeable, les composantes spectrales de la lumière réfléchie par les deux bras peuvent être exprimées comme tel :

$$E_R(k) = E_0(k)\exp(i(kl_R - kct)) \quad (2-12)$$

$$E_S(k) = E_0(k)\exp(i(kl_S - kct)) \quad (2-13)$$

où $E_0(k)$, $E_R(k)$ et $E_S(k)$ dénotent respectivement l'amplitude du champ électrique d'incidence sur les miroirs dans les deux bras, le champ électrique retourné par le bras de référence et par le bras d'échantillon. Dans les équations 2-12 et 2-13, k désigne le nombre d'onde, l_R et l_S représentent la longueur du bras de référence et du bras d'échantillon, et c est la vitesse de la lumière. Le photocourant en fonction du nombre d'onde est écrit comme suit :

$$I(k) = |E_R(k) + E_S(k)|^2. \quad (2-14)$$

$I(k)$ est ainsi équivalent à l'interférogramme spectral enregistré par le spectromètre. En substituant les équations 2-12 et 2-13 dans l'équation 2-14, on obtient

$$I(k) = 2|E_0(k)|^2 + 2|E_0(k)|^2 \cos(2\Delta l \cdot k). \quad (2-15)$$

Où Δl égale $l_S - l_R$ et le facteur 2 devant Δl est dû au aller-retour de la lumière. Le premier terme représentant la densité spectrale de puissance de la lumière est indépendant de la position des miroirs dans les deux bras, tandis que le deuxième terme résultant de l'interférence des deux faisceaux de lumière contient l'information sur la différence de marche entre les chemins optiques des deux rayons qui est directement associée à la position des deux miroirs. À priori, la densité spectrale de puissance peut être mesurée en bloquant le bras d'échantillon. Le premier terme peut ainsi s'enlever par une soustraction (Figure 2-4 (b)), et le signal modulant dans le deuxième terme, $|E_0(k)|^2$, peut aussi se faire disparaître par une division, ce qui ne laisse que le signal porteur sinusoïdal, $\cos(2\Delta l \cdot k)$

(Figure 2-4 (c)). On peut voir que plus le miroir d'échantillon est éloigné du miroir de référence, plus la fréquence du signal d'interférence est élevée. On peut enfin obtenir Δl en prenant la transformée de Fourier inverse (TFI) de $\cos(2\Delta l \cdot k)$ (Figure 2-4 (d)). Sachant que la valeur absolue de la TFI d'une fonction réelle est symétrique autour de 0 et que le signal d'interférence enregistré par le spectromètre est réel, on n'est pas capable de distinguer entre les différences de marche positive et négative entre les deux chemins optiques (Figure 2-4 (d) et (e)). Par conséquent, les images obtenues avec la SD-OCT conventionnelle contiennent non seulement l'objet à imager mais aussi son « reflet », qui sont symétriques par rapport au miroir de référence (position zéro). Ce problème s'aggrave encore lorsqu'un échantillon avec une certaine épaisseur est imagé au lieu d'un simple miroir. Car si la position zéro se trouve à l'intérieur de l'échantillon, des structures des deux côtés de la position zéro seront superposées sur l'image. Pour éviter cette ambiguïté, l'ensemble de l'échantillon est généralement délibérément placé en dehors du miroir de référence (Figure 2-3 (a)), et la moitié de l'image qui est le « reflet » de l'objet sera écartée après la reconstruction. C'est une pratique largement adoptée par la communauté. Mais certaines applications exigent une profondeur d'imagerie plus grande que celle prescrite par le spectromètre dans un système SD-OCT conventionnelle (L'estimation de la profondeur d'imagerie selon les spécifications du spectromètre en SD-OCT sera expliqué plus tard dans ce chapitre). Ce problème peut être résolu en mesurant la phase du signal d'interférence spectrale pour restituer le signal complexe (Adolf F. Fercher, Leitgeb, Hitzinger, Sattmann, & Wojtkowski, 1998; M. Wojtkowski, Kowalczyk, Leitgeb, & Fercher, 2002), une technique appelée « full range complex OCT » en anglais. La TFI du signal complexe d'interféromètre retrouve la vraie structure de l'objet à imager sans son « reflet », ce qui permet de doubler la profondeur d'imagerie par rapport à la SD-OCT conventionnelle. Les approches et les algorithmes mis en place sont essentiellement basés sur des interféromètres à décalage de phase en introduisant un décalage de phase connu entre des A-lines consécutives dans le bras de référence (Baumann, Pircher, Götzinger, & Hitzinger, 2007; Götzinger, Pircher, Leitgeb, & Hitzinger, 2005; Rainer A. Leitgeb, Hitzinger, Fercher, & Bajraszewski, 2003). En SD-OCT, la sensibilité décroît avec la profondeur (de Boer, Leitgeb, et al., 2017; Yun, Tearney, Bouma, Park, & de Boer, 2003). Vu que la technique de « full range complex OCT » différencie la position positive et

négative par rapport au miroir de référence, l'échantillon peut être placé autour de la position zéro pour profiter au maximum de la zone où la sensibilité est la plus élevée. L'inconvénient de cette technique est que des composants supplémentaires seront normalement exigés, p. ex., actionneur piézoélectrique, modulateur acousto-optique (Baumann et al., 2007). De plus, sa vitesse d'acquisition est réduite dû au fait qu'il nécessite l'acquisition de plusieurs A-lines pour une position latérale.

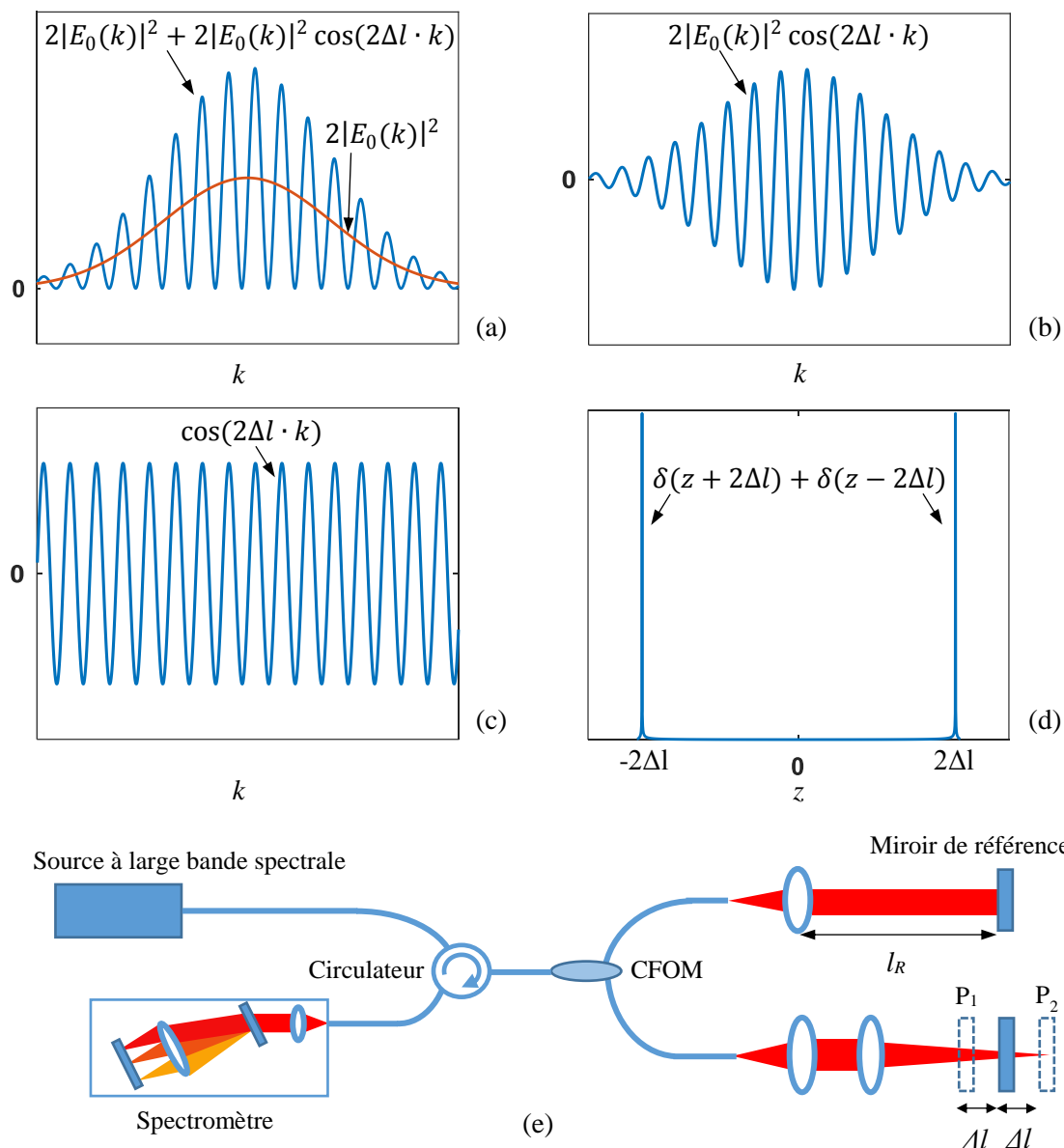


Figure 2-4 : (a) La courbe rouge représente la densité spectrale de puissance de la source lumineuse. On suppose qu'elle suit une distribution gaussienne. La courbe

bleue désigne le signal détecté par le spectromètre, qui est constitué d'une composante DC et une composante AC. (b) Signal d'interférence après enlever la composante DC. (c) Signal d'interférence dont l'amplitude est démodulée. (d) Transformée de Fourier inverse de la fonction sinusoidale montrée sur (c). La différence de longueur entre les bras de référence et d'échantillon, Δl , peut ainsi être calculée. (e) schéma simplifié d'un système SD-OCT conventionnelle. l_R est la longueur du bras de référence. P_1 désigne la position du miroir d'échantillon qui se trouve à la gauche du miroir de référence. La longueur du bras d'échantillon est donc $l_R - \Delta l$. P_2 désigne la position du miroir d'échantillon qui se trouve à la droite du miroir de référence. La longueur du bras d'échantillon dans ce cas-là égale $l_R + \Delta l$. Tous les deux cas donnent la même fréquence angulaire, $2\Delta l$, pour le signal d'interférence.

Ensuite, on peut étendre cet exemple très simplifié où l'échantillon ne s'agit que d'un miroir à un cas un peu plus réaliste où l'échantillon contient plusieurs réflecteurs partiellement réfléchissants (Figure 2-5(a)). En supposant que la densité spectrale de puissance de la source suit la loi uniforme, on peut enlever la partie DC et le terme de modulation de la partie AC dans l'équation 2-15. Des rayons de lumière réfléchi par le miroir de référence et par chacun des réflecteurs produisent un patron d'interférence (Figure 2-5(b)). Le signal lu par le spectromètre est la somme des patrons d'interférence individuels (Figure 2-5(c)). Enfin, la TFI du signal d'interférence global retrouve la position relative des réflecteurs par rapport au miroir de référence (Figure 2-5(c)). Des tissus biologiques peuvent être considérés comme étant constitués de plein de micro-diffuseurs/micro-réflecteurs avec de différentes réflectances. Avec le même raisonnement illustré dans la Figure 2-5, la structure du tissu en fonction de la profondeur peut être reconstruite en prenant la TFI du signal d'interférence global. L'équation 2-15 présentée plus haut décrit l'interférogramme spectral pour un cas très particulier où l'échantillon s'agit d'un miroir. Mais elle n'est plus applicable lorsque le miroir est remplacé par un tissu biologique. L'équation généralisée de l'interférogramme spectral est exprimée comme suit (L. V. Wang & Wu, 2007):

$$I(k) = |E_0(k)|^2 + |E_0(k)|^2 \int_{-\infty}^{+\infty} r_S(l_S) \cos(2(l_S - l_R) \cdot k) dl_S$$

$$+|E_0(k)|^2 \left| \int_{-\infty}^{+\infty} r_S(l_S) \exp(i2l_S \cdot k) dl_S \right|^2, \quad (2-16)$$

où l_R et l_S dénotent respectivement la longueur des bras de référence et d'échantillon. La réflectivité r_S dans l'échantillon en fonction de l_S est également prise en compte dans cette équation. Les deux premiers termes de cette équation sont analogues à ceux de l'équation 2-15 : le premier terme s'agit d'une composante DC qui est l'intensité de la lumière réfléchie par le miroir de référence, et le deuxième terme désigne l'interférence croisée entre la lumière retournée par le bras de référence et le bras d'échantillon. En théorie, des rayons de lumière réfléchis par de différents réflecteurs à différentes profondeurs à l'intérieur de l'échantillon peuvent interférer aussi. C'est d'où provient le troisième terme, le terme d'auto-interférence. Cependant, la lumière réfléchie par l'échantillon est généralement beaucoup plus faible que la lumière retournée par le bras de référence. Donc, en pratique, le bruit issu de l'auto-interférence peut souvent être négligé.

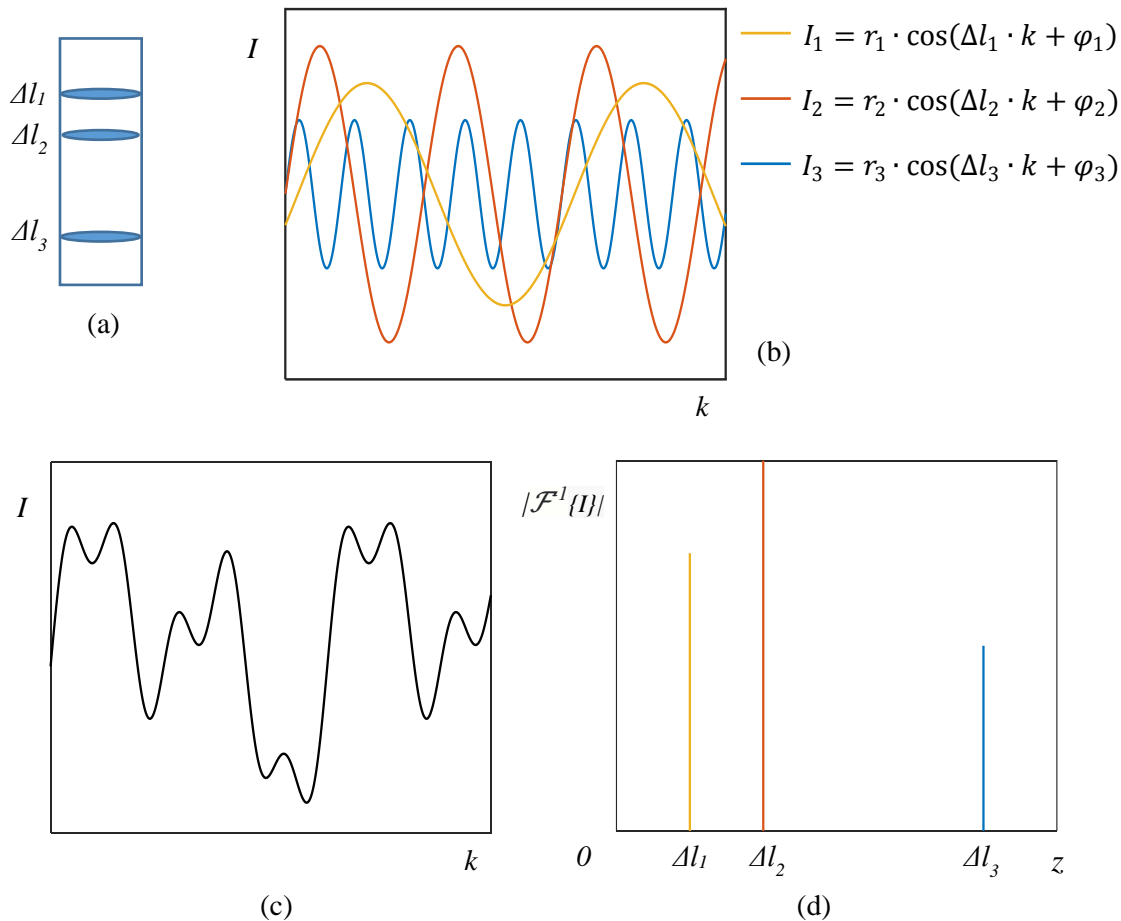


Figure 2-5 : (a) Échantillon contenant trois réflecteurs. Les trois réflecteurs se trouvent Δl_1 , Δl_2 et Δl_3 plus loin que le miroir de référence respectivement. (b) Patrons d'interférence individuels produits chacun des réflecteur et le miroir de référence. (c) Patron d'interférence global enregistré par le spectromètre, qui est la somme des patrons d'interférence individuels. (d) TFI du signal d'interférence montré sur (c).

Théoriquement, la résolution axiale de la SD-OCT ne dépend que sur la largeur de la bande spectrale et la longueur d'onde centrale de la source comme en TD-OCT, qui est définie par l'équation 2-9. Mais il faut noter que dans le cas où la bande du spectromètre est plus étroite que celle de la source, le premier deviendra le goulot d'étranglement pour la résolution axiale. Le choix de spectromètre détermine également la profondeur d'imagerie en SD-OCT comme mentionné plus haut. Un spectromètre possède seulement un nombre fini d'élément de détection, et ainsi, la résolution spectrale est limitée. Supposons que la

largeur de bande spectrale d'un spectromètre est de $\Delta\lambda$, et elle est échantillonnée par N pixels avec des incréments de longueur d'onde égaux, ce qui donne un intervalle d'échantillonnage égal à $\Delta\lambda/N$. Selon le théorème de Nyquist-Shannon, la profondeur maximale de la FD-OCT est définie par

$$l_{max} = \frac{1}{4} \lambda_0^2 / \left(\frac{\Delta\lambda}{N}\right), \quad (2-17)$$

où λ_0 est la longueur d'onde centrale du spectromètre (Maciej Wojtkowski et al., 2002).

Comme en TD-OCT, la résolution latérale en FD-OCT est aussi dictée par l'objectif, qui se dégrade rapidement hors de la portée de Rayleigh. La technique de focalisation dynamique durant l'acquisition des A-lines utilisée en TD-OCT n'est pas faisable en FD-OCT, car les informations sur la structure en profondeur sont enregistrées simultanément en FD-OCT. Une alternative intuitive est de répéter l'acquisition des images transversales (2D) ou volumique (3D) avec la lumière focalisée à différentes profondeurs à l'intérieur de l'échantillon et ensuite fusionner les zones au focus de ces images (Huber, Wojtkowski, Fujimoto, Jiang, & Cable, 2005; Su et al., 2015), une méthode qui a également été démontrée en TD-OCT (W. Drexler et al., 1999). Mais cette approche augmente considérablement le temps d'acquisition et la quantité de données générées. L'extension de la profondeur de foyer peut aussi être une solution pour augmenter la profondeur de champ. Cela peut être réalisé par l'utilisation du faisceau de Bessel au lieu du faisceau gaussien (Curatolo et al., 2016; R. A. Leitgeb, Villiger, Bachmann, Steinmann, & Lasser, 2006; Tamborski et al., 2016). Pourtant, le contraste de l'image obtenue avec un faisceau de Bessel est largement inférieur à celle obtenue avec un faisceau gaussien dans les mêmes conditions d'imagerie (Curatolo et al., 2016). De plus, l'effet de lobes secondaires causé par le faisceau de Bessel est important. Des techniques similaires ont aussi été appliquées en OCT endoscopique en modifiant la sonde à fibre optique dans le bras d'échantillon afin de produire un focus étendu ou multi-focus dans l'échantillon (Lorenser, Yang, & Sampson, 2012; Standish et al., 2010; Yin et al., 2016). Mais la construction de ces sondes endoscopiques miniaturisée reste toujours complexe et difficile. D'autres approches pour rehausser la résolution latérale hors du focus comprennent des méthodes de refocalisation numérique (Ralston, Marks, Scott Carney, & Boppart, 2007; Yasuno et al., 2006; Yu et al., 2007) et des méthodes de suréchantillonnage (Bousi, Zouvani, & Pitris, 2017; Shen, Lu,

Baig, & Wang, 2017). Ces méthodes de correction de défocalisation nécessitent une stabilité de phase durant l'acquisition, et son post-traitement est souvent complexe et lourd.

Pour expliquer la théorie de la SD-OCT, nous avons supposé que le spectromètre échantillonne linéairement dans l'espace k . Pourtant, en réalité, le spectromètre n'est pas parfaitement linéaire en nombre d'onde. Nous devons ainsi faire la calibration pour le spectromètre. La méthode de calibration utilisée est basée sur la phase de l'interférogramme (Makita, Fabritius, & Yasuno, 2008a). Nous avons mis un miroir (avec une seule surface réfléchissante) dans le bras d'échantillon, et la différence de longueur entre les deux bras était Δl_1 . Le signal peut être exprimé comme suit,

$$I_1[k(\xi_i)] \propto \cos(2k(\xi_i)\Delta l_1 + \Delta\phi(k)), \quad (2-18)$$

où k est le nombre d'onde et ξ_i est la position du pixel dans le spectromètre. $\Delta\phi$ est une différence de phase introduite par la différence dans la longueur du chemin optique, et elle varie en fonction du nombre d'onde. Ensuite, nous avons éloigné le miroir d'une distance d . La différence de longueur entre les deux bras est devenue $\Delta l_1 + d$. Le signal peut être exprimé comme suit :

$$I_2[k(\xi_i)] \propto \cos(2k(\xi_i) \cdot (\Delta l_1 + d) + \Delta\phi(k)). \quad (2-19)$$

La différence de phase entre les deux signaux I_1 et I_2 est linéaire en nombre d'onde k :

$$\Delta\phi(\xi_i) \propto 2k(\xi_i) \cdot d. \quad (2-20)$$

La position de ξ_i par rapport à k peut ainsi être estimée, ce qui permet de rééchantillonner la frange d'interférence pour corriger l'effet non linéaire du spectromètre.

2.3 Extensions fonctionnelles de l'OCT

L'OCT est initialement inventée pour imager la structure de l'échantillon transparent ou translucide grâce à son inhomogénéité de l'indice de réfraction à l'intérieur. Mais les informations morphologiques fournies par des images structurelles ne représentèrent pas pleinement les propriétés du tissu. Au cours des années, une gamme d'extensions fonctionnelles basées sur l'OCT ont été développées pour étudier la dynamique du tissu, ce qui a multiplié les applications de l'OCT en recherche et en clinique. Les variantes fonctionnelles les plus importantes sont la Doppler OCT (DOCT) et l'angiographie par

OCT. DOCT se sert de l'effet Doppler pour calculer la vitesse des particules mobiles. C'est une technique convenable pour mesurer quantitativement le flux sanguin avec une haute résolution spatiale (Z. Chen & Zhang, 2008). Quant à l'angiographie par OCT, elle fait ressortir les vaisseaux en séparant le signal dynamique et le signal provenant du tissu statique (de Carlo, Romano, Waheed, & Duker, 2015). Ces deux extensions fonctionnelles peuvent être réalisées directement avec les données acquises avec les systèmes OCT conventionnels. On va les discuter plus en détail plus loin dans ce chapitre. D'autres techniques d'imagerie fonctionnelle dérivées de l'OCT comprennent l'OCT sensible à la polarisation (PS-OCT), l'élastographie par OCT (OCE) et l'OCT spectroscopique (SOCT) (Kim, Brown, Maher, Levinson, & Wax, 2015). La PS-OCT généralement possède deux canaux qui capturent les deux polarisations orthogonales simultanément. Le contraste de polarisation offert par la PS-OCT peut servir à révéler la propriété de biréfringence de l'échantillon (de Boer, Hitzengerger, & Yasuno, 2017). L'OCE permet de mesurer le déplacement et l'élasticité du tissu de façon quantitative. Son principe est semblable à celui de l'élastographie ultrasonore et l'élastographie par IRM : un stimulus mécanique externe est introduit dans l'échantillon pendant l'acquisition des images de l'OCT (Larin & Sampson, 2017). La SOCT cherche à estimer l'absorption et la diffusion en fonction de la longueur d'onde en analysant la distribution temps-fréquence (Nam & Yoo, 2018). La SOCT permet de détecter la présence de certaines molécules (Xu, Ye, Marks, & Boppart, 2004) et d'extraire des paramètres fonctionnels, p. ex., saturation d'oxygène (Faber, Mik, Aalders, & van Leeuwen, 2005; Lu, Lee, Tsai, Wang, & Yang, 2008).

2.3.1 OCT Doppler

La DOCT est une technique qui combine l'effet Doppler avec l'OCT. Sa capacité à mesurer la vitesse d'écoulement du fluide dans un milieu fortement diffusant a été démontrée pour la première fois avec TD-OCT (Zhongping Chen, Milner, Dave, & Nelson, 1997), et cette technique a été rapidement mise au point pour quantifier le flux sanguin *in vivo* depuis (Z Chen et al., 1997; Izatt, Kulkarni, Yazdanfar, Barton, & Welch, 1997). Avec sa manière d'imagerie sans contact ni agent de contraste exogène, La DOCT est largement utilisée en ophtalmologie pour quantifier le débit sanguin dans les vaisseaux rétiniens et choroïdiens ainsi que détecter des anomalies pathologiques (Miura, Makita, Iwasaki, & Yasuno, 2012;

Szkulmowska, Szkulmowski, Szlag, Kowalczyk, & Wojtkowski, 2009; Y. Wang, Bower, Izatt, Tan, & Huang, 2007; Y. Wang, Fawzi, Tan, Gil-Flamer, & Huang, 2009). Un autre domaine d'application important pour la DOCT est l'imagerie cérébrale. La quantification du débit sanguin cérébral par la DOCT nous aide à mieux comprendre la fonction hémodynamique dynamique du cerveau et les maladies cérébrovasculaires (P. Shin, Choi, Joo, & Oh, 2018; Srinivasan et al., 2013, 2009; Yu, Nguyen, Liu, Choi, & Chen, 2010).

Le principe de la DOCT peut être illustré avec le cas le plus simple, une particule en mouvement. Si la particule à imager dans le bras d'échantillon se déplace à une vitesse v_S dont la direction est θ par rapport à l'axe axial, le signal enregistré subira un décalage fréquentiel, f_D , à cause de l'effet Doppler :

$$f_D = 2v_S \cos \theta / \lambda_0, \quad (2-21)$$

où λ_0 est la longueur d'onde centrale de la lumière dans l'échantillon (Zhongping Chen et al., 1997). Donc, en TD-OCT, le signal d'interférence en présence d'une particule en mouvement est décrit par l'équation suivante :

$$I(t) \propto 2E_{R0}E_{S0} \cdot \exp\left(-\frac{\Delta l^2}{2\sigma_l^2}\right) \cdot \cos(2k_0\Delta l_0 + 2k_0(v_R + v_S \cos \theta) \cdot t). \quad (2-22)$$

Étant donné que la vitesse de déplacement du miroir de référence, v_R , est connu, la vitesse axiale de la particule en mouvement peut être estimée après calculer la fréquence porteuse du signal. La transformée de Fourier à court terme (TFCT) est une approche intuitive pour analyser la fréquence locale. C'est-à-dire que la transformée de Fourier s'effectue à l'intérieur d'une fenêtre qui glisse à travers chaque frange d'interférence originale (sans la démodulation) afin de construire le spectrogramme (Zhongping Chen et al., 1997; Izatt et al., 1997). Un grand inconvénient de la TFCT pour reconstruire l'image Doppler est qu'il existe un compromis entre la résolution axiale et la sensibilité en vitesse, car ces deux paramètres sont tous dépendants sur la taille de la fenêtre glissante de la TFCT. Par exemple, si une plus grande fenêtre de la TFCT est choisie, la sensibilité en vitesse va augmenter au détriment de la résolution axiale de l'image Doppler.

Afin de découpler la résolution axiale et la sensibilité en vitesse, une nouvelle procédure de détection a été introduite, la DOCT résolue en phase (PR-DOCT), qui analyse le changement de phase causé par l'effet Doppler. Les premières démonstrations de PR-

DOCT ont été faites avec un système TD-OCT (Zhao, Chen, Ding, Ren, & Nelson, 2002; Zhao et al., 2000), et elle a montré une amélioration significative de la sensibilité en comparaison avec la méthode de TFCT (Zhao et al., 2000). Les informations sur la phase sont accessibles en prenant la transformation de Hilbert du signal original (sans la démodulation) afin de trouver sa forme complexe. Le décalage Doppler peut être estimé à partir du changement de phase comme suit :

$$f_D = \Delta\varphi / (2\pi\Delta T), \quad (2-23)$$

où $\Delta\varphi$ est le changement de phase entre les A-lines successives et ΔT est l'intervalle temporel entre les A-lines successives. En comparant l'équation 2-21 avec l'équation 2-23, on obtient

$$v_s = \Delta\varphi\lambda_0 / (4\pi\Delta T \cos \theta). \quad (2-24)$$

Il faut noter que le changement de phase entre deux A-lines consécutives doit être restreint à l'intervalle $[-\pi, \pi]$ pour éviter l'ambiguïté dans l'interprétation de la vitesse. Autrement dit, la vitesse axiale de la particule en mouvement ne peut pas dépasser $\Delta\varphi\lambda_0 / (4\Delta T)$. Selon l'équation 2-24, la cadence du scan de A-line, $1/\Delta T$, détermine la vitesse maximale quantifiable et la vitesse minimale détectable. Il est ainsi important de bien choisir ce paramètre pour s'adapter à la vitesse à mesurer.

Après l'introduction de la FD-OCT, elle est rapidement devenue plus populaire que la TD-OCT pour effectuer la PR-DOCT grâce à sa grande vitesse d'acquisition et sa haute sensibilité (Rainer Leitgeb et al., 2002; J. Zhang & Chen, 2005). De plus, la FD-OCT a également facilité le processus de traitement de données pour la PR-DOCT, car le signal complexe peut être obtenu directement après la TFI de la frange d'interférence originale. Pour quantifier la vitesse absolue du mouvement, il est nécessaire de connaître l'angle θ , ce qui souvent n'est pas le cas pour l'imagerie in vivo. Des chercheurs ont proposé d'utiliser des méthodes de multiples rayons pour contourner ce problème (Davé & Milner, 2000; Pedersen, Huang, Shure, & Rollins, 2007; Werkmeister et al., 2008). Pourtant, ces méthodes nécessitent des modifications sur le système d'imagerie. L'estimation de l'angle θ directement à partir des images reconstruites avec des approches numériques est ainsi préférable en pratique (Makita, Fabritius, & Yasuno, 2008b; Srinivasan, Sakadžić, et al., 2010).

2.3.2 Angiographie par OCT

L'angiographie par OCT (A-OCT) est parfois traitée comme une branche ou une application de la DOCT (Rainer A. Leitgeb, Werkmeister, Blatter, & Schmetterer, 2014; Liu & Chen, 2013). Comme la DOCT, L'A-OCT est capable de séparer les vaisseaux d'avec les tissus statiques qui les entourent. Mais l'A-OCT généralement ne cherche pas à estimer le flux sanguin de façon quantitative. Son objectif est plutôt de reconstruire la vascularisation pour évaluer sa morphologie et son anatomie.

Les méthodes de l'A-OCT sont basées sur le fait que le signal provenant du tissu dynamique (p. ex., sang) présente une plus grande variance temporelle que celui qui provient du tissu statique (Baran & Wang, 2016). Des A-lines acquises à la même position ou des A-lines qui se chevauchent grandement sont analysées afin d'avoir des statistiques temporelles de chaque pixel. Comme en PR-DOCT, pour un système donné, l'intervalle temporel entre chaque deux A-lines consécutives acquises à la même position ou largement chevauchées détermine la sensibilité à la vitesse du flux sanguin, donc ce paramètre doit être choisi avec soin. Certains protocoles de scan optent pour un plus court intervalle dans le but d'imager des vaisseaux relativement plus larges avec une grande vitesse du flux sanguin dedans. Au contraire, si on veut identifier les petits vaisseaux comme capillaires, on utilise un plus long intervalle (An, Qin, & Wang, 2010; R. K. Wang & An, 2011). Mais il faut noter que, bien qu'un grand intervalle augmente la sensibilité en vitesse, il risque d'amplifier les artéfacts de mouvement liés aux respirations, pulsations cardiaques, etc. Des méthodes qui « réalignent » les A-lines pour minimiser les artéfacts de mouvement sont parfois une étape nécessaire avant la reconstruction des images tomographiques de la vascularisation (Kraus et al., 2012; Kume et al., 2006; J. Lee, Srinivasan, Radhakrishnan, & Boas, 2011; Makita, Hong, Yamanari, Yatagai, & Yasuno, 2006).

En FD-OCT, la TFI des franges d'interférence dans le domaine spectral génère les signaux OCT complexes, où les informations sur la phase sont disponibles. Le déplacement axial des particules induit un décalage de phase dû à l'effet Doppler, et leur mouvement latéral à travers le faisceau de lumière élargit le spectre Doppler (Proskurin, He, & Wang, 2003). Le changement de phase du signal au cours du temps ainsi indique la présence des érythrocytes en mouvement. Les méthodes basées sur la phase sont généralement sensibles

à l'artéfact de mouvement et nécessite une source de lumière avec une bonne stabilité de phase. Il existe aussi des méthodes qui se servent seulement de l'intensité ou des tavelures (encore appelées speckles en anglais) pour contraster les vaisseaux et les tissus statiques (Jonathan, Enfield, & Leahy, 2010; Mariampillai et al., 2010, 2008). Les vaisseaux peuvent souvent être identifiés par leur grande variance temporelle en intensité. Pourtant, si le mouvement des particules n'induit qu'un changement de phase, ces méthodes basées uniquement sur l'intensité seront moins efficaces. Enfin, des méthodes qui utilisent des signaux complexes ont été proposées (An et al., 2010; Srinivasan, Jiang, et al., 2010; R. K. Wang et al., 2007; R. K. Wang, Zhang, Li, & Song, 2017). Autrement dit, la phase ainsi que l'intensité sont toutes analysées pour faire ressortir les vaisseaux sanguins.

CHAPITRE 3 DÉVELOPPEMENT D'UN SYSTÈME D'IMAGERIE INTRAVASCULAIRE COMBINANT LA TOMOGRAPHIE PAR COHÉRENCE OPTIQUE ET L'IMAGERIE PAR FLUORESCENCE

Malgré des avancements diagnostiques et thérapeutiques majeurs au cours des dernières décennies, les maladies cardiovasculaires (CVD) restent toujours la principale cause de morbidité et de mortalité dans le monde. La plupart des maladies cardiovasculaires sont étroitement liées à l'athérosclérose, une maladie inflammatoire qui peut affecter toutes les artères du corps. La rupture des plaques d'athérosclérose et ses complications thrombotiques subséquentes déclenchent souvent l'apparition d'événements cliniques graves. L'objectif de ce travail était de développer un système d'imagerie intravasculaire combinant la tomographie par cohérence optique (OCT) et l'imagerie moléculaire par fluorescence, qui peut être utilisé pour détecter et caractériser l'athérosclérose coronarienne.

La tomographie par cohérence optique (OCT) intravasculaire est connue comme une méthode d'imagerie à haute résolution pour détecter les anomalies structurelles des parois artérielles causées par l'athérosclérose (Jang et al., 2002, 2005; Kubo et al., 2007). L'imagerie moléculaire par fluorescence offre un aperçu unique de la physiopathologie de l'athérosclérose grâce à sa capacité à cibler divers biomarqueurs dans la progression de l'athérosclérose (Hilderbrand & Weissleder, 2010; Sanz & Fayad, 2008; Vinegoni et al., 2011). Dans ce chapitre, nous rapportons un système intravasculaire qui combine la tomographie par cohérence optique (OCT) et l'imagerie par fluorescence. Une nouvelle technique de déclenchement rapide a été utilisée pour augmenter la sensibilité aux signaux de fluorescence. Elle a permis d'appliquer un filtrage dans le domaine temporel aux photons entrants grâce à un détecteur de photons qui peut être activé et désactivé rapidement (100 – 200 ps). Les parcours optiques de l'OCT et de l'imagerie par fluorescence proche infrarouge (NIRF) ont été combinés en utilisant un coupleur de fibre double-gaine (DCF). Le cœur monomode du DCF limite la dispersion de la lumière de l'OCT, et la gaine interne multimode offre une haute efficacité de collection de photons fluorescents. Le petit diamètre (125 μm) et la grande flexibilité du DCF permettent au

cathéter de contourner les courbes et les angulations pour atteindre les segments distaux des artères coronaires. Dans les sections suivantes, nous allons décrire plus en détail le design optique, la conception du cathéter, le programme d'acquisition et les expériences *ex vivo*.

3.1 Aperçu du système

Le schéma du système d'imagerie intravasculaire à double modalité est présenté dans la Figure 3-1. Le sous-système d'imagerie OCT en domaine spectral a été construit sur un interféromètre standard avec un coupleur à fibre optique 90/10 (Thorlabs, États-Unis). Des diodes superluminescentes (SLD) (LS2000C, Thorlabs, États-Unis) sont utilisées pour fournir une source de lumière de très faible cohérence temporelle avec une longueur d'onde centrale à 1310 nm et une largeur de bande de 200 nm. Le signal interférométrique de retour est détecté par un spectromètre de 2048-pixels ayant une largeur de bande de 150 nm (1235 – 1385 nm) (Cobra 1300, Wasacht Photonics, États-Unis), et acquis par une carte d'acquisition d'images (National Instruments, États-Unis). Le spectromètre est calibré avec la méthode proposée par (Makita et al., 2008a). Étant donné que les composantes optiques utilisées et la quantité de fibre optique utilisée dans le bras d'échantillon et dans le bras de référence ne sont pas exactement identiques dans notre système, la dispersion de la lumière dans les deux bras, par conséquent, n'est pas égale. Cette différence de dispersion de la lumière dans les deux bras est compensée numériquement en utilisant la technique proposée par (Szkulmowski, Tamborski, & Wojtkowski, 2016).

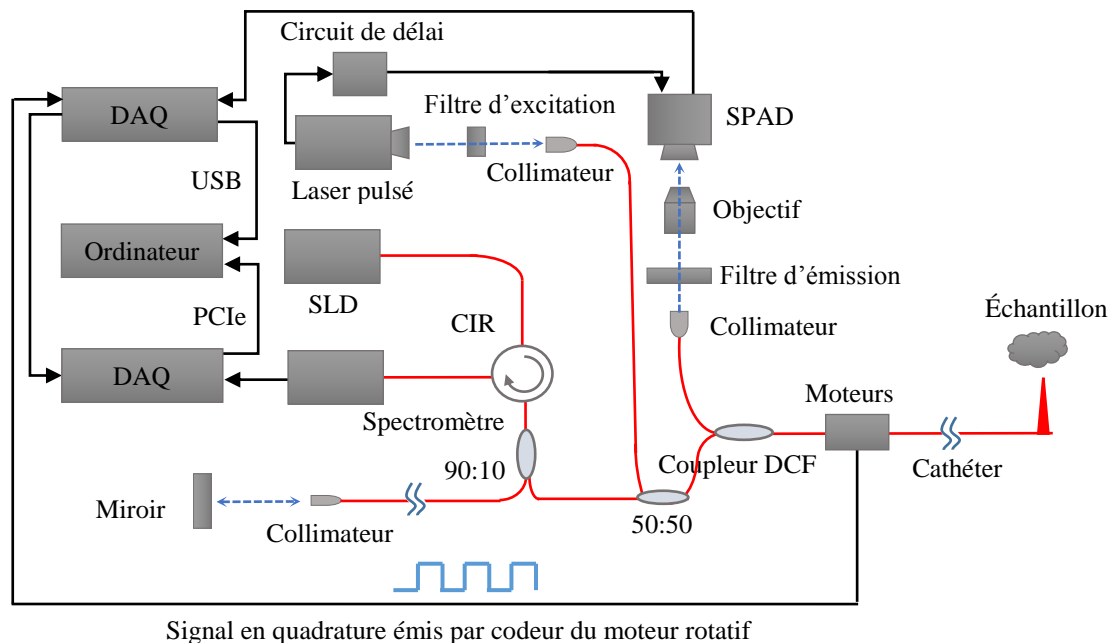


Figure 3-1 : Représentation schématique du système d'imagerie intravasculaire combinant l'OCT et l'imagerie par fluorescence. Les lignes noires représentent la connexion électrique, et les flèches indiquent la direction de la transmission des signaux électriques. Les lignes rouges représentent les fibres optiques, et les lignes bleues pointillées représentent la trajectoire optique à l'air libre dont les flèches indiquent la direction de la propagation de la lumière. Les signaux en quadrature en provenance du codeur du moteur rotatif sont envoyés à la carte DAQ USB-6351 et servent de signal de synchronisation. DAQ : carte d'acquisition, USB : universal serial bus, PCIe : Peripheral Component Interconnect Express, SLD : diode superluminescente, CIR : circulateur, 90:10 : coupleur à fibre optique 90/10, 50:50 : coupleur à fibre optique 50/50, SPAD : diode à avalanche monophotonique, DCF : fibre double-gaine.

L'approche conventionnelle de détection de photons en continue détecte non seulement les photons fluorescents d'intérêt mais aussi les photons non désirés provenant de la réflexion dans la voie optique, la fuite à travers les filtres, la diffusion Raman, l'autofluorescence dans les fibres optiques, la rétrodiffusion par les cellules sanguines, etc. Ces photons non désirés constituent un signal de fond significatif dans la détection de fluorescence, ce qui réduit la gamme dynamique effective et diminue le rapport signal sur bruit (SNR). Dans

notre système, nous avons mis en application une nouvelle technique, la détection de déclenchement rapide, pour l'imagerie par fluorescence. Un laser pulsé (Mai Tai, Spectra-Physics, États-Unis) est utilisé pour exciter le vert d'indocyanine (ICG). La fréquence de répétition du laser est de 80 MHz, et la longueur d'onde centrale est de 769 nm. Un module de diode à avalanche monophotonique (SPAD) à déclenchement rapide (SPADlab, Italie) est utilisé pour détecter les photons, et le nombre de photons est ensuite compté par une carte d'acquisition (National instrument, États-Unis). La sortie Trigger du laser après chaque pulse est envoyé vers l'entrée Trigger du module SPAD pour l'activer. Le délai entre le pulse de laser et l'activation du SPAD est contrôlé par un circuit électronique entre le laser et le module SPAD. Le circuit de délai sur mesure possède deux puces de délai programmables embarquées. Il peut être contrôlé par un ordinateur via une connexion USB. Ce circuit de délai est capable de générer un délai allant de 0 ns jusqu'à 20,47 ns avec une résolution de 10 ps, ce qui est bien vérifié à l'aide d'un oscilloscope. Le module SPAD peut être activé et désactivé rapidement jusqu'à 80 MHz, ce qui permet le filtrage temporel des photons entrants. Avec la détection de déclenchement rapide, le système est capable de rejeter la majorité des photons non désirés et de ne détecter que des photons fluorescents en ajustant le délai généré par le circuit de délai et la largeur de la fenêtre d'activation du détecteur SPAD. Dans un système de comptage de photons limité par le bruit de grenaille, le bruit de grenaille suit une statistique de Poisson : $\text{Bruit de grenaille} = \sqrt{\text{Nombre de photons}}$. Ainsi, le SNR peut être estimé par la formule, $(N_{pf})/\sqrt{(N_{pf} + N_b)}$, où N_{pf} et N_b représentent le nombre de photons fluorescents et le nombre de photons de fond respectivement. En excluant des photons non désirés avec la détection de déclenchement rapide, nous pouvons augmenter le SNR pour la détection de signal de fluorescence. Un exemple simplifié est illustré sur le diagramme dans la Figure 3-2. Des photons fluorescents d'intérêt et des photons non désirés arrivent au détecteur aux différents moments, et sont donc distinguables dans le temps. En ajustant la largeur de la fenêtre de détection du SPAD et le délai généré par le circuit de délai entre les pulses du laser et l'activation du détecteur, le système est théoriquement capable de filtrer des photons entrants dans le domaine temporel, écartant des photons de « background » non désirés et détectant des photons fluorescents d'intérêt.

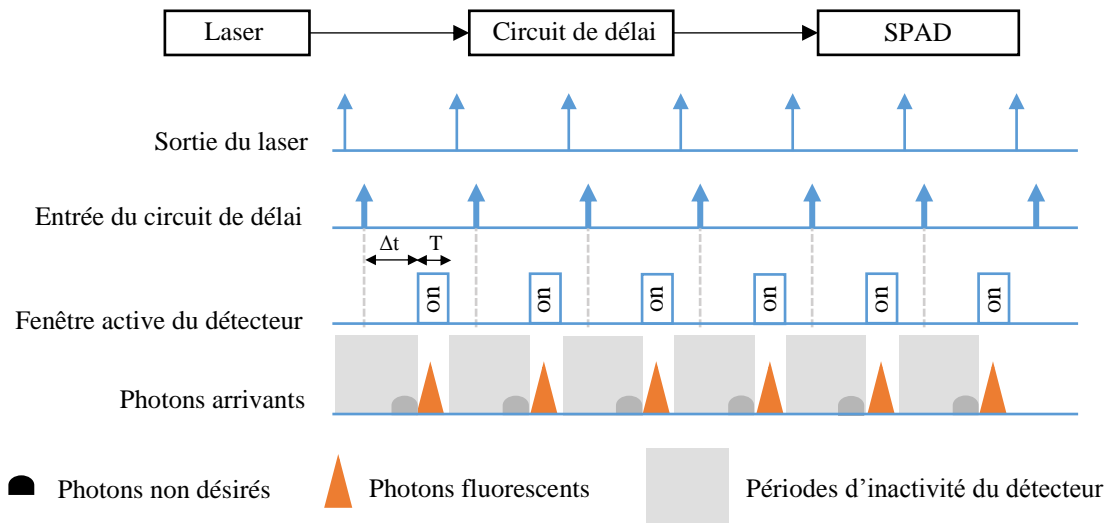


Figure 3-2 : Nouvelle technique de détection de déclenchement rapide qui filtre les photons non désirés. Le délai entre l'entrée « trigger in » du circuit de délai et la sortie « trigger out » du laser pulsé est fixé et dépend de la longueur du câble électrique. Le délai entre l'entrée « trigger in » du circuit de délai et l'activation de la fenêtre de détection du SPAD, Δt , est ajustable et contrôlé par le circuit de délai. T est la largeur de la fenêtre active du SPAD, qui est ajustable aussi. Dans un scénario idéal, les photons fluorescents et les photons non désirés arrivent à des moments différents. Les photons non désirés peuvent être filtrés et seulement les photons fluorescents sont détectés par le SPAD lorsque Δt et T sont bien ajustés.

Pour combiner le sous-système OCT et le sous-système de l'imagerie par fluorescence, la lumière d'excitation de fluorescence et la source de lumière OCT sont couplées dans le cœur monomode de la fibre double-gaine (DCF) du coupleur DCF via un coupleur à fibre optique 50/50 (Thorlabs, Etats-Unis) comme montré dans la Figure 3-1. La fibre DCF du coupleur DCF est ensuite connectée à un joint rotatif à fibre optique DCF (Princetel, Etats-Unis), qui fait tourner le cathéter pour acquérir des images fluorescence-OCT transversales de la paroi du vaisseau sanguin. Le cathéter lui-même est également fabriqué à la base d'un DCF. Le cœur monomode ($9 \mu\text{m}$) de la DCF envoie la lumière d'excitation à l'échantillon pour l'imagerie par fluorescence et pour l'OCT, et il est également utilisé pour collecter le signal OCT. La gaine interne ($105 \mu\text{m}$) de la DCF donne un moyen efficace pour collecter des photons fluorescents émis par le fluorochrome. La vue transversale de la fibre DCF est schématisée dans la Figure 3-3(b). Les photons constituant le signal pour l'imagerie par

fluorescence et pour l'OCT sont séparés au niveau du coupleur DCF (Castor Optics, Canada) avant qu'ils ne soient détectés par le SPAD et le spectromètre respectivement.

3.2 Conception du cathéter

L'épaisseur de la paroi des artères coronaires chez l'humain est généralement autour de 1 mm (Perry, Joseph, Chew, Aylward, & De Pasquale, 2013). Nous avons donc conçu une sonde optique dont la distance de travail est d'environ 2,2 mm et la longueur de Rayleigh est d'environ 1,8 mm dans l'air pour l'imagerie OCT. Cette sonde optique est la partie centrale de notre cathéter. Le schéma de conception du cathéter est présenté dans la Figure 3-3(a). La sonde optique est constituée d'une fibre DCF (Thorlabs, États-Unis) bien polie, d'un espace pour laisser diverger le faisceau laser et d'une lentille tige à gradient d'indice (GRIN) (Edmund Optics, États-Unis) d'un diamètre de 0,5 mm qui sert à focaliser le faisceau laser. Un prisme à angle droit de 0,5 mm recouvert d'aluminium (Edmund Optics, États-Unis) est fixé à l'extrémité distale de la sonde pour former une vue de côté. L'espace de divergence se trouvant entre l'extrémité de DCF et la lentille GRIN est fait d'un type d'adhésif optique transparent (Norland Products, États-Unis) afin de maximiser la transmission de la lumière. La longueur de cet espace de divergence est calculée préalablement avec OpticStudio (Zemax, États-Unis) et déterminée à 120 μm afin d'obtenir les caractéristiques désirées. L'adhésif liquide rempli dans l'espace de divergence se solidifie sous le rayonnement ultraviolet. L'assemblage de ces composantes optiques s'effectue sous un microscope avec une plateforme XYZ de haute précision (Thorlabs, États-Unis). Les vues de côté et de haut de cet assemblage optique, fibre DCF-adhésif optique-lentille GRIN-prisme, sont montées dans la Figure 3-3(c, d). La sonde optique fabriquée est insérée dans une gaine métallique mécanique (Asahi Intecc, États-Unis) afin d'assurer la rotation uniforme du cathéter à grande vitesse. Un tube métallique est utilisé comme structure de soutien pour protéger la jonction de la sonde et transférer la quantité de mouvement jusqu'à la pointe de la sonde optique (la lentille GRIN et le prisme). Tout l'assemblage est ensuite inséré dans un tube de protection en polyéthylène basse densité avec un diamètre extérieur de 1,3 mm. L'autre extrémité de la sonde optique est terminée par un connecteur fibre optique FC/APC pour pouvoir être connecté avec le joint rotatif à fibre optique DCF. Un cathéter fini est montré dans la Figure 3-3(f). La rotation du joint

rotatif à fibre optique est entraînée par un moteur à courant continu (DC) (Faulhaber, Allemagne) à l'aide d'un système de courroie et poulie. Un système de palier est ensuite utilisé pour transmettre le mouvement de rotation du joint rotatif à fibre optique vers le cathéter. En même temps, le cathéter est fixé sur une platine linéaire motorisée (Zaber Technologies, Canada) qui permet d'effectuer le retrait du cathéter. Les composantes pour réaliser le mécanisme de rotation et de retrait du cathéter sont montrées dans la Figure 3-3 (g). Un codeur rotatif est aussi installé sur le moteur DC pour avoir une information d'angle sur le cathéter. Le signal en quadrature délivré par le codeur rotatif sert de signal de synchronisation pour l'acquisition des images de fluorescence et d'OCT. Pour chaque rotation du cathéter, 1126 fronts montants vont être détectés dans le signal émis par le codeur. Chaque front montant peut déclencher via la carte DAQ USB-6351 l'acquisition d'un A-line pour l'OCT et le comptage des photons dans une position angulaire pour la NIRF (Figure 3-1). Ainsi un maximum de 1126 A-lines par rotation peut être acquis pour l'OCT, et un maximum de 1126 positions angulaires par rotation peut être enregistré pour l'imagerie par fluorescence. Le chronogramme de synchronisation pour l'acquisition d'images est illustré dans la Figure 3-4. Il faut aussi noter qu'il est possible pour notre système de déclencher l'acquisition de l'OCT et de la fluorescence à une cadence moins élevée. Autrement dit, on peut se servir d'une fraction de 1126 fronts montants par rotation pour synchroniser l'OCT et l'imagerie par la fluorescence.

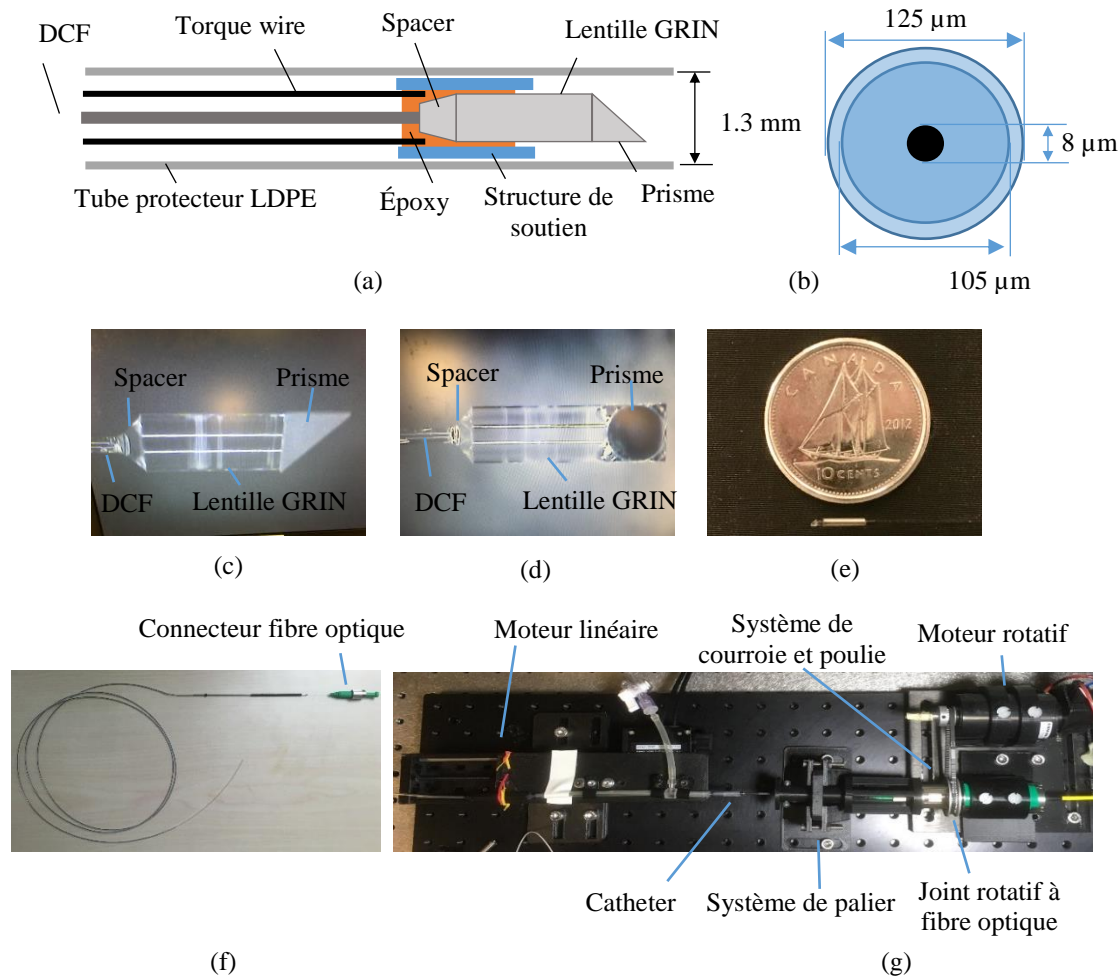


Figure 3-3 : Design du cathéter intravasculaire à double modalité. (a) Schéma détaillé du cathéter. Les dimensions des composantes ne correspondent pas à la proportion réelle. DCF : fibre double-gaine, GRIN : gradient d'indice, LDPE : polyéthylène à base densité. (b) Schéma transversal de la fibre optique DCF. Le cœur, la gaine interne et la gaine externe mesurent 8 μm , 105 μm et 125 μm respectivement. (c) Vue de côté de l'assemblage DCF-Spacer-Lentille GRIN-prisme sous un microscope. (d) Vue de haut de l'assemblage DCF-Spacer-Lentille GRIN-prisme sous un microscope. (e) Comparaison de taille entre un dix sous canadien et l'extrémité distale du cathéter sans le tube protecteur plastique. (f) Photo d'un cathéter fini. Une extrémité de la fibre optique est terminée par un connecteur fibre optique qui permet de raccorder le cathéter au joint rotatif à fibre optique. (g) Unité mécanique qui entraîne la rotation et effectue le retrait du cathéter.

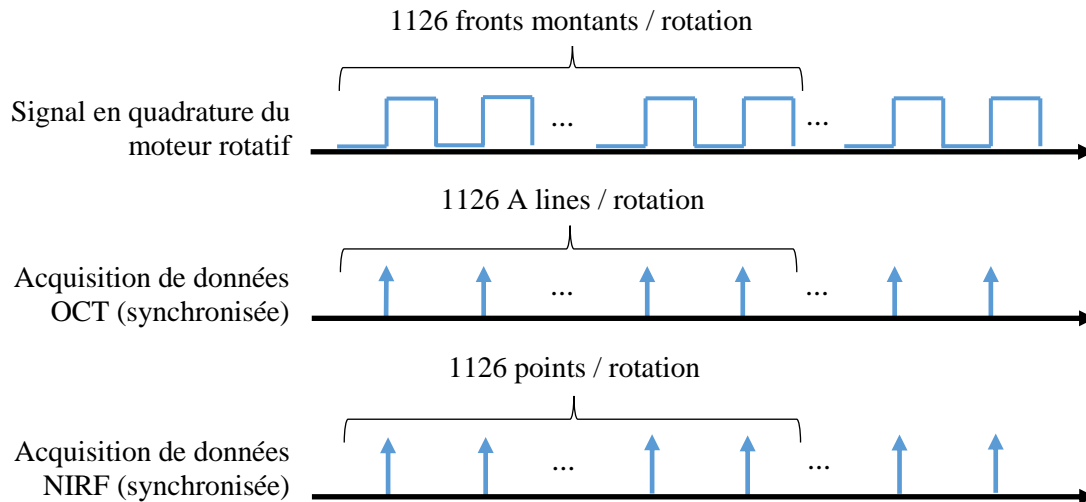


Figure 3-4 : Chronogramme de synchronisation pour le moteur rotatif et l'acquisition du signal OCT et fluorescence. Le codeur rotatif du moteur rotatif émet 1126 fronts montants par rotation, et chaque front montant correspond à une position angulaire du cathéter. La détection de chaque front montant déclenche l'acquisition d'un A-line pour l'OCT et d'un point pour la NIRF.

3.3 Programme d'acquisition

Notre logiciel d'acquisition est développé en langage C++, et son interface utilisateur est créée avec la plateforme QT. Notre système d'imagerie exige que plusieurs processus doivent se dérouler simultanément en parallèle, y compris l'acquisition de données OCT, l'enregistrement des données OCT, l'acquisition de données fluorescence, l'enregistrement des données fluorescence, le contrôle des moteurs linéaire et rotatif, l'affichage des images fluorescence/OCT en temps réel, etc. Le programme d'acquisition adopte ainsi l'architecture multithread afin de pouvoir exécuter tous ces processus simultanément et indépendamment (Figure 3-5). Lors de l'acquisition, la station de contrôle du système, soit l'ordinateur, communique avec la carte d'acquisition de données (NI USB-6351, National Instruments, États-Unis) et la carte d'acquisition d'images (NI PCIe-1429, National Instruments, États-Unis) en continu pour récupérer des données brutes à partir des mémoires tampon sur les cartes d'acquisition vers sa mémoire vive. Cette tâche est effectuée par le thread « acquisition de données OCT » et le thread « acquisition de données Fluo ». Ces données brutes résidant dans la mémoire vive de l'ordinateur sont par

la suite enregistrées sur un disque dur SSD de l'ordinateur par le thread « enregistrement de données OCT » et le thread « enregistrement de données Fluo ». Les images fluorescence-OCT peuvent être visualisées en temps réel si l'utilisateur le souhaite, malgré que la reconstruction des images OCT soit numériquement intensive. Pour y parvenir, les données brutes d'OCT sont envoyées au processeur graphique (GPU) (GeForce GTX 970, Nvidia, États-Unis) pour accélérer les calculs, étant donné que les opérations nécessitent d'énormes calculs et sont hautement parallèle. Ces calculs comprennent la multiplication de matrices, la transformée de Fourier, l'interpolation pour la conversion de coordonnées, etc. Les données traitées par le GPU sont ensuite retournées vers le thread principal (sur le CPU) pour l'affichage. L'image affichée est composée d'une image transversale de l'OCT et un anneau entourant l'image OCT qui indique le signal de fluorescence en fonction de l'angle. Un exemple est montré dans la Figure 3-8(c) et (d). Le thread, « contrôle du moteur linéaire », « surveille » constamment la platine linéaire motorisée. Lorsque le moteur linéaire arrive à une position prédéfinie par l'utilisateur, le thread « contrôle du moteur linéaire » émet un signal « arrêt » pour que tous les threads et le processus sur le GPU se terminent en même temps et sortent de la boucle de l'acquisition.

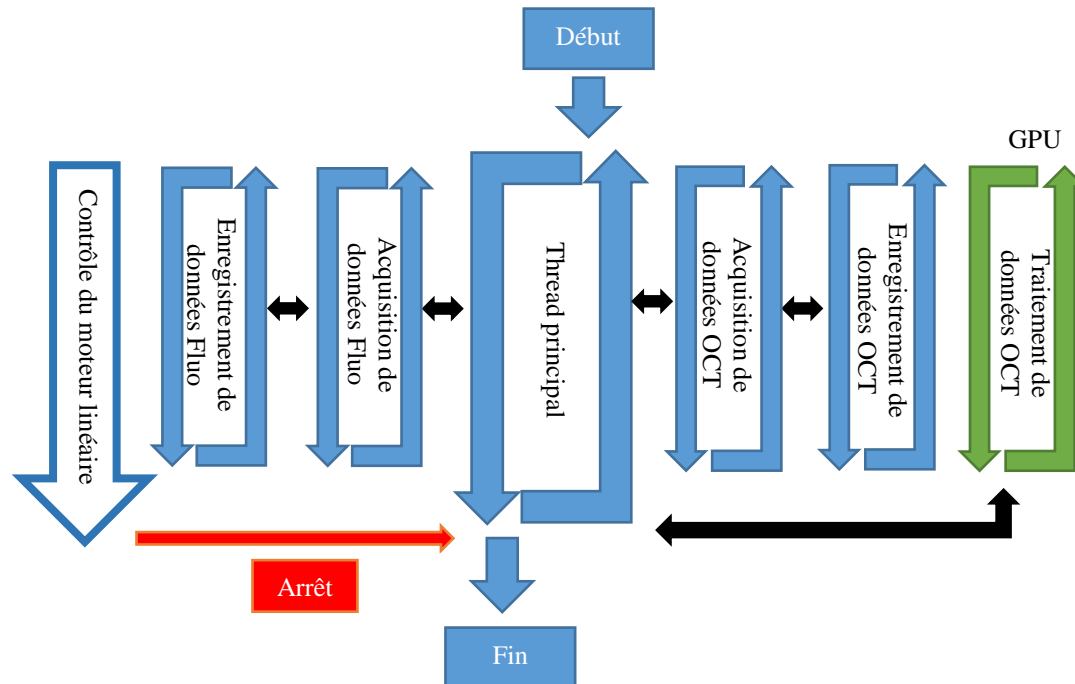


Figure 3-5 : Organigramme du programme d'acquisition d'une architecture multithread. Le programme est constitué de six threads effectuant des tâches en parallèles sur le CPU, (1) thread principal, (2) acquisition de données OCT, (3) enregistrement de données OCT, (4) acquisition de données fluorescence, (5) enregistrement de données fluorescence, et (6) contrôle du moteur linéaire. Un processus (en vert) pour traiter les données OCT se déroule en même temps sur le GPU pour accélérer les calculs. Il reçoit régulièrement les données brutes à partir du thread principal, ensuite reconstruit les images OCT et enfin renvoie les données traitées vers le thread principal pour la visualisation. Les flèches noires représentent le transfert de données entre les threads ou entre le CPU et le GPU. Le signal d'« arrêt » (en orange) est émis par le thread de contrôle du moteur linéaire en fin de l'acquisition lorsque le moteur arrive à la position prédéfinie par l'utilisateur. Tous les threads et le processus sur le GPU se terminent après la réception de ce signal d'arrêt.

3.4 Expériences Ex vivo

En imagerie par fluorescence, les valeurs optimales pour la largeur de la fenêtre de détection et pour le délai entre les pulses du laser et l'activation du SPAD doivent être

déterminées afin d'optimiser la détection des photons fluorescents d'intérêt. La durée de vie du fluorochrome ICG dans l'eau est inférieure à 1 ns (Gerega et al., 2011). Nous fixons donc la largeur de la fenêtre de détection du détecteur SPAD à la plus petite fenêtre active permise (= 3 ns) qui maintient encore la stabilité de détection des photons. Pour la raison que nous avons expliquée dans la section 3.1 ci-dessus, le délai entre les pulses du laser et l'activation du SPAD doit également être déterminé avant l'acquisition de données. Une expérience est conçue pour estimer ce paramètre. Une cuvette contenant la solution d'ICG (Sigma-Aldrich, États-Unis) a été placée devant le cathéter avec le cathéter restant immobile sans tourner comme montré dans la Figure 3-6 (a). Le délai généré par le circuit de délai est balayé de 0 à 20,47 ns avec un incrément de 0,2 ns à l'aide de notre programme de contrôle pour le circuit. Le temps d'intégration pour chaque délai est de 50 ms. Nous avons obtenu une courbe décrivant la relation entre le nombre de photons détectés et le délai généré par le circuit (Figure 3-6 (c)). Les photons détectés comprennent non seulement des photons fluorescents mais aussi des photons de « background » non désirés. Ensuite, nous avons remplacé la solution ICG par l'eau dans la cuvette (Figure 3-6 (b)), et répété la même procédure. Une deuxième courbe a été obtenue, qui représente le nombre de photons détectés en fonction du délai (Figure 3-6 (d)). Les photons détectés ne sont constitués que par des photons de « background », étant donné qu'il n'y a que de l'eau dans la cuvette. En soustrayant la deuxième courbe (Figure 3-6 (d)) de la première Figure 3-6 (c), on écarte les photons de « background » et gardons exclusivement les photons fluorescents provenant du fluorochrome ICG. Ainsi, la courbe décrivant le nombre de photons fluorescents émis par ICG en fonction du délai (Figure 3-6 (e)) peut être sortie. Cette courbe indique que le système détecte le plus de photons fluorescents avec un délai de 7 ns (ligne noire pointillée dans la Figure 3-6 (e)). Par conséquent, le délai imposé par le générateur de délai et la largeur de la fenêtre de la détection sont fixés à 7 ns et 3 ns respectivement préalablement à l'acquisition de données.

Comme nous avons expliqué dans la section 3.1, la technique de la détection de la fluorescence en mode de déclenchement rapide est censée avoir un meilleur SNR que la détection en mode continu. Des mesures ont ainsi été effectuées pour comparer la sensibilité des deux méthodes de détection en utilisant le même détecteur de photons SPAD qui permet les deux modes. La modalité d'imagerie OCT n'a pas été activée dans cette

expérience. Le faisceau laser d'excitation sort de l'ouverture du cathéter de manière perpendiculaire suite à une réflexion causée par un prisme à angle droit collé à l'extrémité de la sonde optique. La puissance du laser est fixée à 15 mW à la sortie du cathéter. L'extrémité distale du cathéter et une cuvette contenant la solution d'ICG sont immergées dans un liquide qui crée un milieu diffusant et absorbant pour la lumière. Cette solution aqueuse dans le bac contient 1% d'intralipide et 0,01% d'encre noire pour avoir des propriétés optiques similaires à celles du tissu biologique (coefficient de diffusion réduit, $\mu_s' = 10 \text{ cm}^{-1}$ et coefficient d'absorption, $\mu_a = 0,5 \text{ cm}^{-1}$) (Abran et al., 2014; Cubeddu, Pifferi, Taroni, Torricelli, & Valentini, 1997). Le cathéter et la cuvette sont fixés sur leurs supports et séparés l'un de l'autre d'une distance d . Cette distance de séparation peut être réglée précisément avec une platine de translation de haute précision. Le montage de l'expérience est montré dans la Figure 3-7 (a). Le cathéter tourne à une vitesse de 120 rotations par minute pendant l'acquisition. Les données de 50 rotations sont acquises pour chaque distance de séparation, d . Un signal d'exemple obtenu avec 5 rotations du cathéter est montré dans la Figure 3-7 (b), qui décrit la relation entre le nombre de photons détectés et la position angulaire du cathéter. Le SNR est défini comme le rapport entre l'amplitude du pic du signal fluorescence et l'écart type du signal de fond. Puisque chaque rotation du cathéter donne un SNR, nous avons 50 valeurs de SNR pour chaque distance, d . Pour chaque distance, nous avons fait deux acquisitions, l'une avec la détection en mode de déclenchement rapide et l'autre avec la détection en mode continu. Nous pouvons ainsi voir comment le SNR évolue avec la distance de séparation pour chaque mode de détection, et comparer leur sensibilité de détection. L'expérience a d'abord été faite avec une solution d'ICG de 1 μM , et ensuite avec une solution d'ICG de 100 nM.

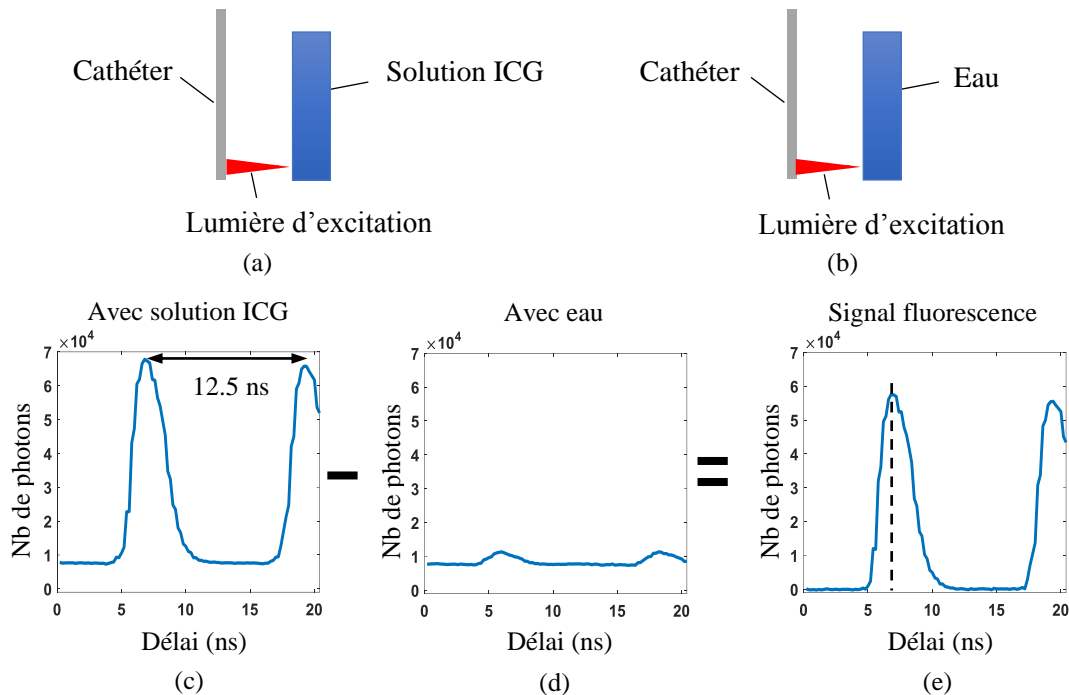


Figure 3-6 : Détermination du délai optimal pour la détection de la fluorescence en mode de déclenchement avec le système d'imagerie. (a) Le cathéter est installé en parallèle avec une cuvette remplie de solution ICG, et l'ouverture du cathéter donne sur la cuvette. Le cathéter ne tourne pas et reste immobile pendant cette expérience. Le délai généré par le circuit de délai est balayé de 0 à 20.47 ns. (b) Le positionnement du cathéter et de la cuvette est pareil que (a). La cuvette contient de l'eau au lieu de la solution ICG. (c) Le nombre de photons détectés en fonction du délai dans le cas (a). Des photons détectés comprennent des photons fluorescents émis par la solution ICG et d'autres photons de « background » qui arrive en même temps. Le laser pulsé fonctionne à une fréquence de répétition de 80 MHz, donc deux pics séparés d'un intervalle de 12.5 ns peuvent être observés dans un seul balayage. (d) Le nombre de photon détectés en fonction du délai dans le cas (b) quand la cuvette est remplie d'eau. Les photons détectés ne représentent que le signal de « background ». (e) Le nombre de photons fluorescents en fonction du délai, qui est obtenue en soustrayant (d) de (c). À un délai de 7 ns indiqué par la ligne noire pointillée, le nombre de photons fluorescents détectés par le détecteur SPAD en mode de déclenchement rapide qui est synchronisé avec le laser pulsé atteint le pic.

Dans une seconde expérience, un fantôme fabriqué à base de silicone est employé pour tester la performance de l'imagerie à double modalités de notre système intravasculaire dans des conditions plus réalistes. Pour fabriquer le fantôme, du silicone liquide (Dow Corning, États-Unis) est d'abord mélangé avec de la poudre de dioxyde de titane (TiO_2) et de l'encre noire. Le mélange est ensuite traité dans un bain à ultrason pour défaire les agglomérations de TiO_2 . Une chambre à vide est ensuite utilisée pour enlever les bulles d'air dans le mélange de silicone avant le procédé de solidification dans son moule. Le fantôme fini a un coefficient de diffusion réduit de 10 cm^{-1} et un coefficient d'absorption de $0,5 \text{ cm}^{-1}$. Le fantôme se caractérise par une structure cylindrique creuse au milieu pour insérer le cathéter, et deux tubes plastiques transparents encastrés dans la paroi, comme montré sur le dessin dans la Figure 3-8 (a). Un tube est en parallèle avec la direction longitudinale, et l'autre est incliné d'un angle de 5 degrés par rapport à l'axe longitudinal. Le premier tube est rempli d'une solution de 10% intralipide, et le deuxième tube est rempli d'un mélange liquide qui contient 10 % d'intralipide et 500 nM d'ICG. Le cathéter est inséré dans le fantôme par la lumière au milieu. Le fantôme et le cathéter sont tous immergés dans un bain d'eau. Pendant les acquisitions, le cathéter est tourné à une vitesse de 120 rotations par minute, et en même temps son extrémité distale se trouvant à l'intérieur du fantôme recule à l'aide de la platine linéaire motorisé à une vitesse de 1 mm/s. Le système est programmé de telle façon qu'il arrête l'acquisition automatiquement une fois que le stage linéaire finit de parcourir une certaine distance (= 40 mm dans notre expérience). Cette distance peut être facilement modifiée selon les besoins des utilisateurs. Les images des deux modalités d'imagerie peuvent être affichées à l'écran pour la visualisation en temps réel, et les données brutes sont enregistrées pour le traitement et l'analyse ultérieurs.

3.5 Résultat et discussion

Pour la mesure de la sensibilité à la fluorescence, 281 positions angulaires ont été enregistrées au lieu de 1126, ce qui équivaut à faire une somme de chaque 4 positions angulaires consécutives. Le SNR est calculé en divisant l'amplitude du signal par l'écart-type du signal de fond (Figure 3-7 (b)). Un SNR de 10 dB est choisi comme le seuil de sensibilité dans cette étude. Le résultat montre que, pour la solution ICG de $1 \mu\text{M}$, la

détection en mode de déclenchement a doublé le SNR pour les courtes distances ($<1,2$ mm) et a augmenté le SNR d'au moins 30% pour les grandes distances ($> 1,2$ mm) par rapport à la détection en mode continu (Figure 3-7 (c)). En utilisant le critère SNR choisi (10 dB), le mode continu était capable de détecter le signal de fluorescence de la solution ICG de 1 μ M jusqu'à 2,8 mm, tandis que le mode de déclenchement pouvait aller jusqu'à 3,45 mm avant que le SNR tombe en dessous du seuil de détection, ce qui correspond à un gain de plus de 23% en profondeur. Lorsque la solution ICG de 100 nM était utilisée, la détection en mode de déclenchement a doublé le SNR pour les petites distances (<1 mm) et a augmenté d'au moins 70% pour les grandes distances (> 1 mm). Pour l'inclusion d'ICG de 100 nM, le SNR était au-dessus de 10 dB jusqu'à 0,85 mm en utilisant la détection en mode continu, alors que cette distance augmente à 1,5 mm en utilisant la détection en mode de déclenchement, comme montré dans Figure 3-7 (d). Autrement dit, le mode de déclenchement a obtenu un gain de plus de 70% en profondeur.

Nous avons observé que le nombre de photons total détectés avec la détection en mode de déclenchement était toujours inférieur à celui avec la détection en mode continu à la même distance de séparation et pour la même puissance du laser. Celui est dû au fait que la plupart des photons de fond non désirés sont rejetés par le SPAD lorsqu'il est en mode de déclenchement et que la largeur de la fenêtre de détection active et le délai de détection sont bien ajustés. Le mode continu va subir une saturation du détecteur plus facilement que le mode de déclenchement suite à une augmentation de la puissance du laser, car les photons de fond vont également augmenter considérablement qui ne sont détectable que par la détection en mode continu. Autrement dit, la puissance du laser qui sature le détecteur en mode de déclenchement sera plus élevée que celle qui sature le détecteur en mode continu. Nous nous attendons ainsi à ce que l'augmentation de la puissance du laser augmente davantage le SNR pour la détection en mode de déclenchement.

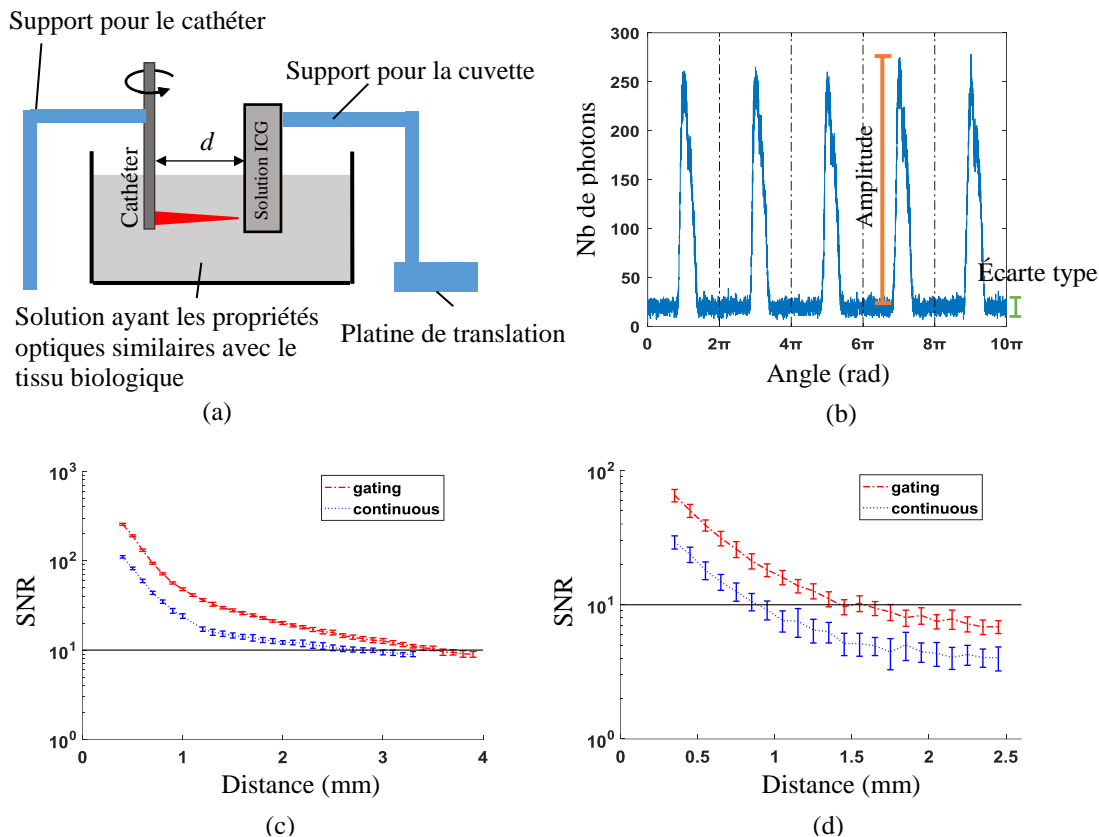


Figure 3-7 : Expériences *ex vivo* avec le fantôme pour comparer la sensibilité de la détection du signal fluorescence entre les deux techniques, soit la détection en mode continu et la détection en mode de déclenchement. (a) l'extrémité du cathéter et la moitié d'une cuvette remplie de solution ICG sont immergées dans une solution qui imite les propriétés optiques du tissu biologique. Le variable d est la distance qui sépare le cathéter et la cuvette de solution ICG. Le cathéter tourne à une vitesse de 120 rotations par seconde. (b) Exemple classique du signal de fluorescence obtenu avec la détection en mode de déclenchement dans cette expérience. Chaque intervalle de 2π (marqué par les lignes noires pointillées) correspond à une rotation du cathéter, et le pic du signal de fluorescence se répète ainsi tous les 2π . Cet extrait du signal est constitué de 5 rotations du cathéter. Le SNR de chaque rotation est calculé comme le rapport entre l'amplitude du pic (indiquée par la ligne orange) et l'écart type du signal de fond (indiqué par la ligne verte). (c) Le SNR mesuré pour la solution ICG de 1 μM en fonction de la distance avec les deux techniques de détection de fluorescence respectivement. (d) Le SNR mesuré pour la solution ICG

de 100 nM en fonction de la distance. La ligne rouge pointillée et la ligne bleue pointillée désignent la détection en mode de déclenchement et en mode continu respectivement. La ligne noire solide représente la valeur de SNR égale à 10 dB. L'axe Y est à l'échelle logarithmique. Les données sont indiquées comme moyenne \pm écart type.

La capacité de l'imagerie à double modalité de ce système a été validée à l'aide d'un fantôme imitant un vaisseau. L'acquisition d'images de fluorescence/OCT a d'abord été réalisée avec la détection en mode de déclenchement, et ensuite avec la détection en mode continu. Les exemples d'images fusionnées de l'OCT et de la fluorescence sont montrés dans La Figure 3-8 (b-c), dont le premier est obtenu avec la détection en mode de déclenchement et le deuxième est obtenu avec la détection en mode continu. Ces deux images de l'exemple sont acquises à la même position longitudinale. Toutes les deux inclusions contenant du liquide diffus (dans les directions de 1 et 7 heures) dans le fantôme sont détectées par l'OCT. Le contour de la lumière et les inclusions diffuses sont segmentés manuellement sur chaque image OCT, et puis les images segmentées sont empilées pour former un volume (Figure 3-8 (d)). L'anneau en couleur entourant l'image OCT représente le signal de fluorescence normalisé. Bien que l'inclusion fluorescente (dans la direction de 7 heures) soit identifiée par toutes les deux techniques de détection de photons, la cible fluorescente est plus visible sur l'image obtenue avec la détection en mode de déclenchement. Ces deux signaux de fluorescence normalisés en fonction de l'angle sont présentés dans la Figure 3-8 (e). Le SNR du mode de déclenchement est 2,5 fois plus élevé que celui du mode continu ($SNR_{\text{déclenchement}} = 45$, $SNR_{\text{continu}} = 18$). Puisque l'inclusion fluorescente dans le fantôme est inclinée de 5 degrés par rapport à l'axe longitudinal, la distance de séparation entre la cible fluorescente et le cathéter augmente pendant le recul du cathéter. La Figure 3-8 (f-g) montre les images de fluorescence 2D obtenues avec les deux techniques de détection de fluorescence en reculant le cathéter. Le signal de fluorescence diminue avec la distance de retrait dans tous les deux cas, mais l'image du mode continu est plus bruitée que celle du mode de déclenchement. Une comparaison quantitative du SNR entre les deux techniques de détection est donnée dans la Figure 3-8 (h). La détection en mode de déclenchement a augmenté le SNR de plus de deux fois et gagnait environ 30% de sensibilité en profondeur lorsque le seuil de SNR est fixé à 5.

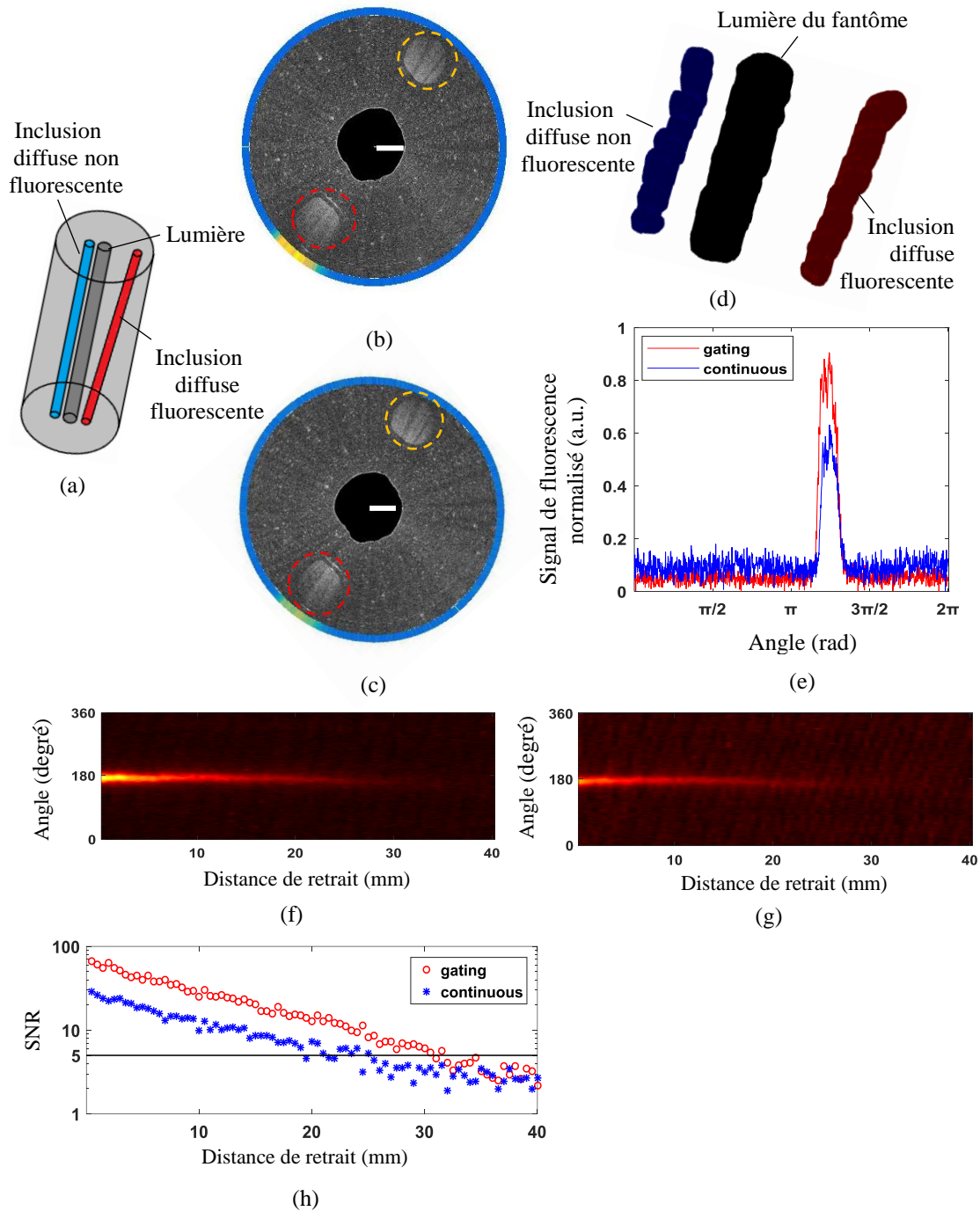


Figure 3-8 : (a) Dessin schématique du fantôme à base de silicone. Le fantôme cylindrique possède un canal cylindrique creux au milieu (cylindre gris foncé). Deux inclusions cylindriques (cylindres bleu et rouge) sont intégrées dans la paroi du fantôme au moment de la fabrication. L'inclusion bleue contient la solution d'intralipide, et l'inclusion rouge contient le mélange de solution ICG et intralipide.

La distance entre la lumière et l'inclusion rouge varie linéairement en fonction de la position longitudinale. (b) Image fusionnée de l'OCT et de la fluorescence. Le signal de fluorescence est détecté par la technique en mode de déclenchement. L'inclusion sans fluorochrome est encerclée par le cercle jaune pointillé, et l'inclusion avec ICG est encerclée par le cercle rouge pointillé. La barre d'échelle est de 1 mm. (c) Image fusionnée de l'OCT et de la fluorescence. Le signal de fluorescence est détecté par la technique en mode continu. (d) Image 3D de la lumière (structure noire) et des deux inclusions (structures bleue et rouge) dans le fantôme. La lumière et les inclusions sont segmentées manuellement sur les images OCT transversales à chaque position longitudinale et ensuite empilées ensemble. La distinction des deux inclusions est basée sur la présence ou l'absence du signal de fluorescence. (e) Signaux de fluorescence normalisés en fonction de l'angle, qui correspondent à (b) et (c) obtenus avec la détection en mode de déclenchement et en mode continu respectivement. (f) Image 2D de fluorescence obtenue par la détection en mode de déclenchement. (g) Image 2D de fluorescence obtenue par la détection en mode continu. Le signal le long de la position angulaire de 180 degrés provient de l'inclusion contenant la solution ICG. (h) Le SNR de la fluorescence en fonction de la distance de retrait du cathéter pour le mode de déclenchement (cercles en rouge) et le mode continu (étoiles en bleu). La ligne noire désigne la valeur de SNR égale à 5.

3.6 Conclusion

Un système d'imagerie intravasculaire à double modalité NIRF/OCT à base de cathéter est présenté dans ce chapitre. Une seule fibre optique a été utilisée dans le cathéter pour réaliser les deux techniques d'imagerie simultanément, ce qui a permis l'alignement parfait des images NIRF et OCT enregistrées en même temps. Une nouvelle technique de détection de la fluorescence, la détection de déclenchement rapide, a été exploitée, ce qui a augmenté de manière significative le SNR et la sensibilité en profondeur par rapport à la technique de détection de photons conventionnelle, la détection en continu. La performance de l'imagerie bimodale NIRF/OCT et le mécanisme de l'imagerie intravasculaire de notre système a été validée *in vitro* à l'aide d'un fantôme à base de silicone imitant les tissus

biologiques. Les travaux futurs devraient consister en des études *in vivo* visant à prouver sa capacité pour la détection et la caractérisation des plaques d'athérome en fournissant des informations anatomiques et moléculaires.

CHAPITRE 4 ARTICLE 1: IMPACT OF ATHEROSCLEROTIC DISEASE ON CEREBRAL MICROVASCULATURE AND TISSUE OXYGENATION IN AWAKE LDLR-/-HAPOB+/+ TRANSGENIC MICE

Cet article issu de la deuxième étude dans le cadre de la thèse a été publié en octobre 2019 dans la revue *Neurophotonics*. Un modèle de souris transgénique a été utilisé pour étudier l'impact systémique de l'athérosclérose sur le cerveau. Les différents aspects du cerveau de souris ont été examinés, y compris la réponse hémodynamique dans le cortex somatosensoriel à la stimulation de vibrisse, la morphologie et la fonction hémodynamique de la microvascularisation cérébrale et l'oxygénation du tissu cérébral.

Authors: Yuankang Lu,^a Cong Zhang,^b Xuecong Lu,^a Mohammad Moeini,^d Eric Thorin,^{b,c} and Frédéric Lesage^{a,b,1}

^aLaboratoire d'Imagerie optique et moléculaire, École Polytechnique de Montréal, 2900 Edouard Montpetit Blvd, Montréal (Québec), H3T 1J4, Canada

^bInstitut de Cardiologie de Montréal, 5000 Rue Bélanger, Montréal (Québec), H1T 1C8, Canada

^cFaculty of Medicine, Department of pharmacology and physiology, Université de Montréal, 2900 Edouard Montpetit Blvd, Montréal (Québec), H3T 1J4, Canada

^dBiomedical Engineering Department, Amirkabir University of Technology (Tehran Polytechnic), Tehran, Iran

4.1 Abstract

In this study, we explored cortical microvasculature changes during the progression of atherosclerosis using young and old transgenic atherosclerotic (ATX) mice with thinned-skull cranial window. In awake animals, exploiting intrinsic signal optical imaging (ISOI),

¹ Address all correspondence to Frédéric Lesage, E-mail: frederic.lesage@polymtl.ca

Doppler optical coherence tomography (OCT) and two-photon microscopy, we investigated how the progression of atherosclerotic disease affects the morphology and function of cortical microvasculature as well as baseline cerebral tissue oxygenation. Results show that aged ATX mice exhibited weaker hemodynamic response in the somatosensory cortex to whisker stimulation, and that the diameter of their descending arterioles and associated mean blood flow decreased significantly compared with the young ATX group. Data from two-photon phosphorescence lifetime microscopy indicated that old ATX mice had lower and more heterogeneous partial pressure of oxygen (PO_2) in cortical tissue than young ATX mice. In addition, hypoxic micropockets in cortical tissue were found in old, but not in young ATX mice. Capillary red blood cell (RBC) flux, RBC velocity, RBC velocity heterogeneity, hematocrit and diameter were also measured using line-scans with two-photon fluorescence microscopy. When compared to the young group, RBC flux, velocity and hematocrit decreased, and RBC velocity heterogeneity increased in old ATX mice, presumably due to disturbed blood supply from arterioles that were affected by atherosclerosis. Finally, dilation of capillaries in old ATX mice was observed, which suggests that capillaries play an active role to compensate oxygen deficit in brain tissue.

Key word: cortical microvasculature, intrinsic signal optical imaging, Doppler optical coherence tomography, two-photon microscopy

4.2 Introduction

Ischemic cerebrovascular diseases (CVD) and their complications are one of the leading causes of morbidity and mortality worldwide. Ischemic cerebrovascular events, such as ischemic stroke and transient ischemic attack (TIA) also frequently lead to vascular dementia and persistent cognitive impairment (Haffner, Malik, & Dichgans, 2016; Kalaria & Ballard, 2001; Mok et al., 2016; van Rooij et al., 2014). Studies have shown that atherosclerotic disease often plays a causative role in the onset of the ischemic CVDs (Arenillas, 2011; Banerjee & Chimowitz, 2017; Flaherty et al., 2013). It is well known that in the presence of elevated plasma low-density lipoprotein (LDL), plaques can build up inside extracranial and intracranial large arteries. As a consequence, the luminal stenosis reduces or even blocks blood supply to the brain, causing oxygen and energy

substrate deficiency in cerebral tissue(Ayata et al., 2013; Benfante et al., 1994; Ellulu et al., 2016; Koren-Morag, Tanne, Graff, & Goldbourt, 2002; Lindenstrøm, Boysen, & Nyboe, 1994). The impact of atherosclerotic disease on cerebral small vessels, however, still remains to be fully elucidated(Boesen, Singh, Menon, & Frayne, 2015; Falk, 2006; Schächinger & Zeiher, 2000).

Clinical neuroimaging, such as magnetic resonance imaging and computed tomography, evaluate cerebral small vessel disease (CSVD)–related ischemic parenchymal lesions rather than alterations of the cerebral microvasculature itself due to the limited spatial resolution of the imaging techniques and the small size of vessels(Blair, Hernandez, Thrippleton, Doubal, & Wardlaw, 2017; Heit & Wintermark, 2016; Pantoni, 2010; Wardlaw, Smith, & Dichgans, 2013). High resolution optical imaging techniques such as Intrinsic Signal Optical Imaging (ISOI), Optical Coherence Tomography (OCT) and two-photon microscopy combined with a genetically modified ATX mouse model thus provides an opportunity to investigate the effects of atherosclerotic disease on cerebral microvasculature(Desjardins, Berti, Pouliot, Dubeau, & Lesage, 2014; Moeini et al., 2018; Sakadžić et al., 2014; C. Zhang et al., 2017). In the present work, we used LDLR^{-/-}hApoB^{+/+} transgenic mice, which have LDL receptors deficiency and express the human apolipoprotein B-100 gene. Previous studies have reported that ATX mice at 3 months of age had no atherosclerotic lesions in the aorta, carotid arteries or cerebral arteries(Bolduc et al., 2011; Drouin, Bolduc, et al., 2011; Ramírez et al., 2011). Whereas, mice at 6 months of age and older developed extensive atherosclerosis. Learning capacity and cognitive functions were also found to decline significantly in one-year-old ATX mice(de Montgolfier, Pinçon, et al., 2019; Ramírez et al., 2011). Systemic chronic inflammation caused by atherosclerosis contributes to cerebral endothelial cell senescence and dysfunction, which further leads to blood-brain barrier (BBB) leakage and capillary micro-bleeding in ATX mice where atherosclerosis is fully developed(de Montgolfier, Pouliot, et al., 2019).

The objective of our study was to assess how cerebral hemodynamics, cerebral microvasculature and cerebral tissue oxygenation were affected by hyperlipidemia-associated atherosclerotic disease. To achieve this goal, multiple optical imaging techniques were used, including ISOI, spectral-domain Doppler OCT, two-photon

phosphorescence lifetime microscopy and line-scans with two-photon fluorescence excitation. ISOI was first used to evaluate the hemodynamic response in the somatosensory cortex to whisker stimulation. This parameter reflects the efficiency of blood flow regulation by cerebral vasculature to meet increased metabolic needs of the brain(Hillman, 2007). Doppler OCT was then performed to investigate possible structural and functional changes of descending arterioles as well as ascending venules related to atherosclerotic disease. Cerebral tissue oxygenation, a crucial parameter for brain function, can be disturbed by inadequate blood flow in microvasculature. We measured absolute cerebral tissue PO₂ using two-photon phosphorescence lifetime imaging coupled with the oxygen quenching phosphorescent dye PtP-C343 to assess the impact of changes in blood flow. Finally, we used two-photon fluorescence line-scans to investigate the impact of atherosclerotic disease and its progression on capillary properties.

4.3 Materials and methods

4.3.1 Animal preparation

The procedures and protocols were approved by the Animal Research Ethics Committee of the Montreal Heart Institute, and all animal experiments were performed in accordance with the Canadian Council on Animal Care recommendations. The animal model that we used in our study was the LDLR^{-/-}hApoB^{+/+} transgenic mice. They exhibit markedly high concentration of plasma LDL, and spontaneously develop atherosclerotic lesions on a chow diet after the age of 6 months(Daugherty, 2002; de Montgolfier, Pouliot, et al., 2019; Powell-Braxton et al., 1998; Sanan et al., 1998). They were categorized into two age groups: young ATX mice (3 months old) and old ATX mice (12 months old). To choose the cut-off age of 12 month, our rationale was as follow: ATX mice usually have shorter lifespan than wild type (WT) mice, thus making it difficult to study them at 24 months which is often considered to be the old age in WT mice. Furthermore, confounding effects from other morbidity factors could become too important in 24-month-old ATX mice. In our previous work(de Montgolfier, Pouliot, et al., 2019), where both ATX and WT mice at 12 months of age were used, we observed cognitive differences in the Morris Maze and decrease in brain perfusion. It was also shown that endothelial dysfunction was already

present in ATX mice at 12 months of age when compared to 3-month-old ATX mice(Drouin, Farhat, et al., 2011). Thus, the choice of 3-month-old and 12-month-old ATX mice allowed us to emphasize effects of atherosclerosis while minimizing the effects of ageing (though present).

8-10 days before measurements, a thinned-skull cranial window of 3 mm diameter was prepared over the left barrel cortex, and a titanium head bar was attached to the mouse skull. A detailed description of the surgical procedure can be found in our previous work(Moeini et al., 2018). During imaging sessions, the mouse head was fixed by the head bar onto a custom-built treadmill wheel, onto which limbs were free to move in order to reduce stress. Four fixation training sessions were required prior to image acquisition to habituate the mice to head restraint. All measurements were made in awake mice to eliminate the influence of anesthesia on vascular and neural physiology(Janssen et al., 2004; Kehl et al., 2002; Masamoto & Kanno, 2012).

4.3.2 Data acquisition and data analysis

4.3.2.1 Intrinsic signal optical imaging

ISOI was used to explore stimulus-evoked hemodynamic response. ISOI data were obtained from 9 young ATX mice and 8 old ATX mice by using a home-built ISOI system. Mouse whiskers were deflected at a rate of 10 Hz by a piezo-based mechanical whisker stimulator to induce increased neural activity in the somatosensory cortex. Each stimulation period lasted 5 seconds followed by a 15-second inter-stimulus interval and a randomized jitter interval of average 3 seconds. Stimulation was repeated 10 times. The imaging system used green and red LEDs to illuminate the somatosensory cortex and images were taken at a rate of 5 Hz for each color (10 Hz combined). Since oxygenated and deoxygenated haemoglobins have different extinction coefficients, relative changes in oxyhemoglobin (HbO₂), deoxyhemoglobin (HbR) and total hemoglobin (HbT) concentration in functional brain areas were calculated based on the images acquired with the two wavelengths following previous work(Dubeau, Ferland, Gaudreau, Beaumont, & Lesage, 2011). Animals were monitored for locomotion and whisker activity during

acquisitions. In some acquisitions, stimulations induced movement of the animal. Thus, multiple acquisitions were acquired and the ones minimizing movement were analyzed.

4.3.2.2 Spectral-domain Doppler OCT

A spectral-domain OCT operating in Doppler mode was used to image descending arterioles and ascending venules for which the direction of blood flow is mostly parallel to the light beam. Images were acquired from 5 young ATX mice and 5 old ATX mice with a home-built spectral-domain OCT system. The critical parts of the OCT system included superluminescent diode illumination (LS2000C, Thorlabs, USA) with a center wavelength at 1310 nm and a bandwidth of 200 nm, a custom-built spectrometer, a galvanometer scanner (GVS002, Thorlabs, USA) and a 5X infinity corrected objective (Thorlabs, USA). The axial and lateral resolution in biological tissue was $\sim 3.5 \mu\text{m}$ and $\sim 8.5 \mu\text{m}$ respectively (Moeini et al., 2018). A $900 \times 900 \mu\text{m}$ cortical area was scanned to get a 3D Doppler OCT volume. The 3D volume had 512 B-scans, and each B-scan was composed of 2048 A-lines. Adjacent A-lines were deliberately overlapped. The phase difference between two adjacent A-lines was computed to calculate the speed of blood flow in arterioles and venules (Rainer A Leitgeb et al., 2004). The A-line acquisition rate was set to 50 kHz, which enabled the system to detect blood flow speed between -13 mm/s and 13 mm/s along the direction of the incident beam. The scan was repeated 10 times in the same volume to enhance the signal to noise ratio (SNR). Following 3D Doppler volume reconstruction, arterioles and venules were segmented on *en face* slices at depths between $140 \mu\text{m}$ and $290 \mu\text{m}$ beneath the cortical surface. Slices shallower than $140 \mu\text{m}$ or deeper than $290 \mu\text{m}$ were discarded to exclude the pial vessels and capillaries. Detected descending arterioles and ascending venules had an elliptical appearance on *en face* images. The vessel lumen diameter was estimated from the minor axis while the blood flow was calculated by multiplying the area of the ellipse by the blood flow velocity along z-axis.

4.3.2.3 Two-photon phosphorescence lifetime imaging

A custom-built two-photon microscope was used for phosphorescence lifetime imaging. A detailed description of the imaging system can be found in our previous publication (Moeini

et al., 2018). Working with the PtP-C343 dye, phosphorescence lifetime imaging provided a way to quantify tissue oxygenation (PO_2) (Finikova et al., 2008). 9 young ATX mice and 7 old ATX mice were used in the measurement. Before PO_2 measurement, the PtP-C343 dye solution ($\sim 150 \mu\text{M}$ in ACSF) was injected into the mouse brain tissue through the thinned skull using a glass micropipette slowly pushed by a microsyringe pump injector (UMP3, World Precision, USA). Meanwhile, a FITC-Dextran solution (50 mg/ml in saline) was administered through the tail vein for cerebral angiography, which was used for the selection of region of interest (ROI) in phosphorescence lifetime imaging. 2D PO_2 grid measurements (20 pixels x 20 pixels) were taken in ROIs ($400 \mu\text{m} \times 400 \mu\text{m}$) at different depths beneath the cortical surface. The phosphorescent dye at each location of the grid was excited by an 80 MHz femtosecond laser oscillator gated on for 25 μs , and a 275 μs photon collection window was applied right after to obtain a time-resolved decay curve of the phosphorescent molecules. Absolute tissue PO_2 was thus calculated based on the exponential decay rate, namely the lifetime (Moeini et al., 2018). This excitation/relaxation cycle was repeated 3000 times for each location to increase the SNR. A baby monitor operating in the IR was used to monitor animal behavior during experiments. Further details about the imaging system components and the animal handling procedure can be found in (Moeini et al., 2018).

4.3.2.4 Two-photon fluorescence line-scans

The same two-photon microscopy system was used for fluorescence line-scans to investigate capillaries in 7 young ATX mice and 7 old ATX mice. In a separate session, FITC-Dextran solution (50 mg/ml in saline) was administered by intravenous injection as a contrast agent to label blood plasma. We first scanned a cortical area of $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ to obtain 2D *en face* fluorescence intensity images in the x-y plane. Once capillaries were identified, perpendicular and longitudinal scans of individual capillaries were conducted. Each line consisted of 100 sampling points and was scanned at a line rate of 800 Hz. 200 consecutive lines were stacked to form a spatiotemporal image of perpendicular or longitudinal scans (Figs 4a.2, 4b.2). RBCs appeared as dark streaks, while blood plasma appeared as bright streaks due to fluorescent FITC-Dextran solution. Parameters, including capillary diameter, RBC flux, RBC velocity, RBC velocity

heterogeneity and Hematocrit, were retrieved from the perpendicular and longitudinal line-scan images. Capillary diameter was determined as the full width at half maximum (FWHM) of the fitted Gaussian curve from the spatiotemporal image of perpendicular line-scans (Figure 4-4 (a.2)). RBC velocity is inversely proportional to the slope of the streaks on the spatiotemporal image of longitudinal line-scans (Figure 4-4 (b.2))(Desjardins, Berti, Lefebvre, Dubeau, & Lesage, 2014). RBC velocity heterogeneity was defined as the coefficient of variation of RBC velocity in every individual capillary. This parameter is assumed to be positively correlated with capillary transit time heterogeneity (CTTH), since capillary transit time (CTT) depends on RBC velocity. Capillary RBC flux was estimated by counting the number of RBCs passing by per second. Hematocrit in the investigated capillary was calculated using the equation, $Hct = RBC \text{ flux} \times RBC \text{ volume} / \text{capillary volumetric flow}$, with RBC volume estimated to be $55 \mu\text{m}$ (Moeini et al., 2018).

4.3.2.5 Statistics

Data are presented as mean \pm standard error of the mean (SEM) when parameters from the two groups of ATX mice are shown in the figures. Statistical comparisons between the two groups were performed using unpaired two-sample *t*-tests in Matlab (MathWorks, USA). The null hypothesis that there was no difference between the two groups is rejected if *p*-value was less than 0.01. The number of the young and the old ATX mice used for each imaging session is indicated above.

4.4 Results

4.4.1 Atherosclerosis is associated with reduced hemodynamic response

The hemodynamic response in the somatosensory cortex following whisker stimulation was measured using ISOI. Figure 4-1 (a-c) show typical images of HbO₂, HbR and HbT concentration changes due to stimulation. Images are shown at 3 seconds after the beginning of a whisker stimulation. HbO₂, HbR and HbT concentration changes were averaged across the entire somatosensory cortex to get the time courses (Figure 4-1 (d)). The peak value of the HbO₂ and HbT time series, and the inverted peak value of the HbR time series were used to quantify the hemodynamic response amplitude to whisker

stimulation. As seen in Figure 4-1 (e), the old ATX group had significantly smaller amplitude for ΔHbO_2 , ΔHbR and ΔHbT than the young ATX group. Hemodynamic responses were averaged to obtain group-averaged time evolutions of HbO_2 and HbR (Figure 4-1 (f)). The old ATX group showed a weaker response to whisker deflection than the young ATX group. Another observation was that the response undershoot in HbO_2 was present in young mice but disappeared in older mice. However, no obvious difference was found in the time delay between the two groups.

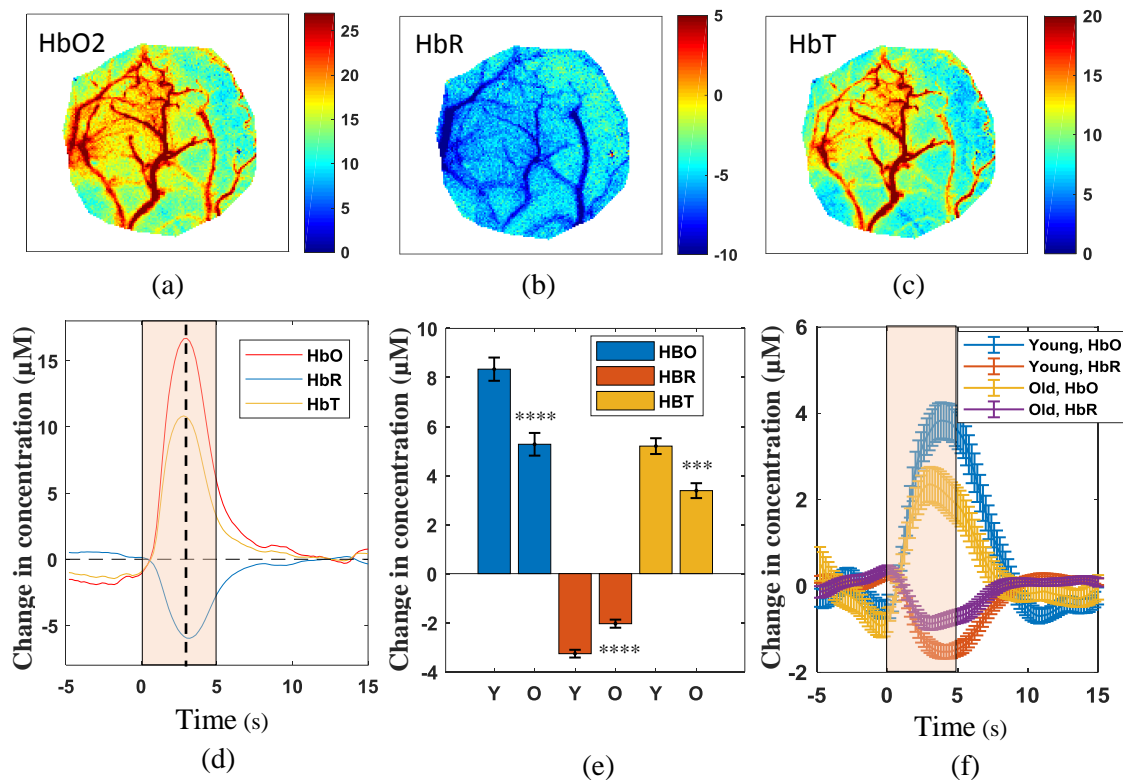


Figure 4-1 : ISOI used to measure hemodynamic response in somatosensory cortex following whisker stimulation. (a - c) Images of relative changes in HbO_2 , HbR and HbT acquired 3 seconds after the start of the stimulus. (d) A typical hemodynamic response obtained by averaging HbO_2 , HbR and HbT change across the somatosensory cortex for a representative mouse. The transparent orange zone represents the 5-second whisker stimulation. The dashed black line corresponds to the moment when images (a-c) were acquired. (e) Comparison of the peak value of HbO_2 , HbR and HbT concentration change after each stimulation. The young ATX mice had significantly higher peak values for ΔHbO_2 , ΔHbR and ΔHbT than the

old ATX mice. (f) Group-averaged time series of ΔHbO_2 and ΔHbR for the young and the old ATX mice. Data are shown as mean \pm SEM. Unpaired *t*-test were performed: **** $p < 0.0001$, *** $p < 0.001$. Y: young, O: old.

4.4.2 Atherosclerosis is associated with reduced basal blood flow and reduced arteriolar but not venular diameter

Using spectral-domain Doppler OCT, we investigated cerebral blood flow in single descending arterioles and ascending venules, which deliver oxygen-rich blood and collect oxygen-poor blood respectively. Figure 4-2 (a.1) shows a typical *en face* Doppler OCT image, which was acquired at a depth of 180 μm beneath the cortical surface. Detected arterioles and venules are encircled by red and blue lines in Figure 4-2 (a.2). Vessel diameter, blood velocity and blood flow for each identified vessel were calculated based on such segmented *en face* slices using a segmentation algorithm to avoid operator bias. The diameter and mean blood flow of descending arterioles in the old ATX mice decreased by 9.0% and 24.7% compared with the young ATX mice (Figure 4-2 (c, d)). Arteriolar diameter and arteriolar mean blood flow showed a decreasing trend with the depth in both groups of ATX mice (Figure 4-2 (g, h)). However, the old ATX group displayed significantly smaller arteriolar lumen size and arteriolar mean blood flow at all measured cortical depths when compared with the young ATX group, which suggests a systemic modulation to cerebral arterioles caused by atherosclerotic disease. Correlation between arteriolar mean blood flow and arteriolar diameter was examined using data obtained from both the young and the old ATX mice. A strong positive correlation was found with a correlation coefficient of 0.96 (Figure 4-2 (b)) suggesting that narrowed arterioles caused lower mean blood flow. Interestingly, for old ATX mice, arteriolar mean blood flow not only dropped more rapidly with depth than in the young ATX mice but saturated at a lower bound as if it reached a plateau. As depicted in Figure 4-2 (e, f), both diameter and mean blood flow of ascending venules showed no difference between the two groups of ATX mice.

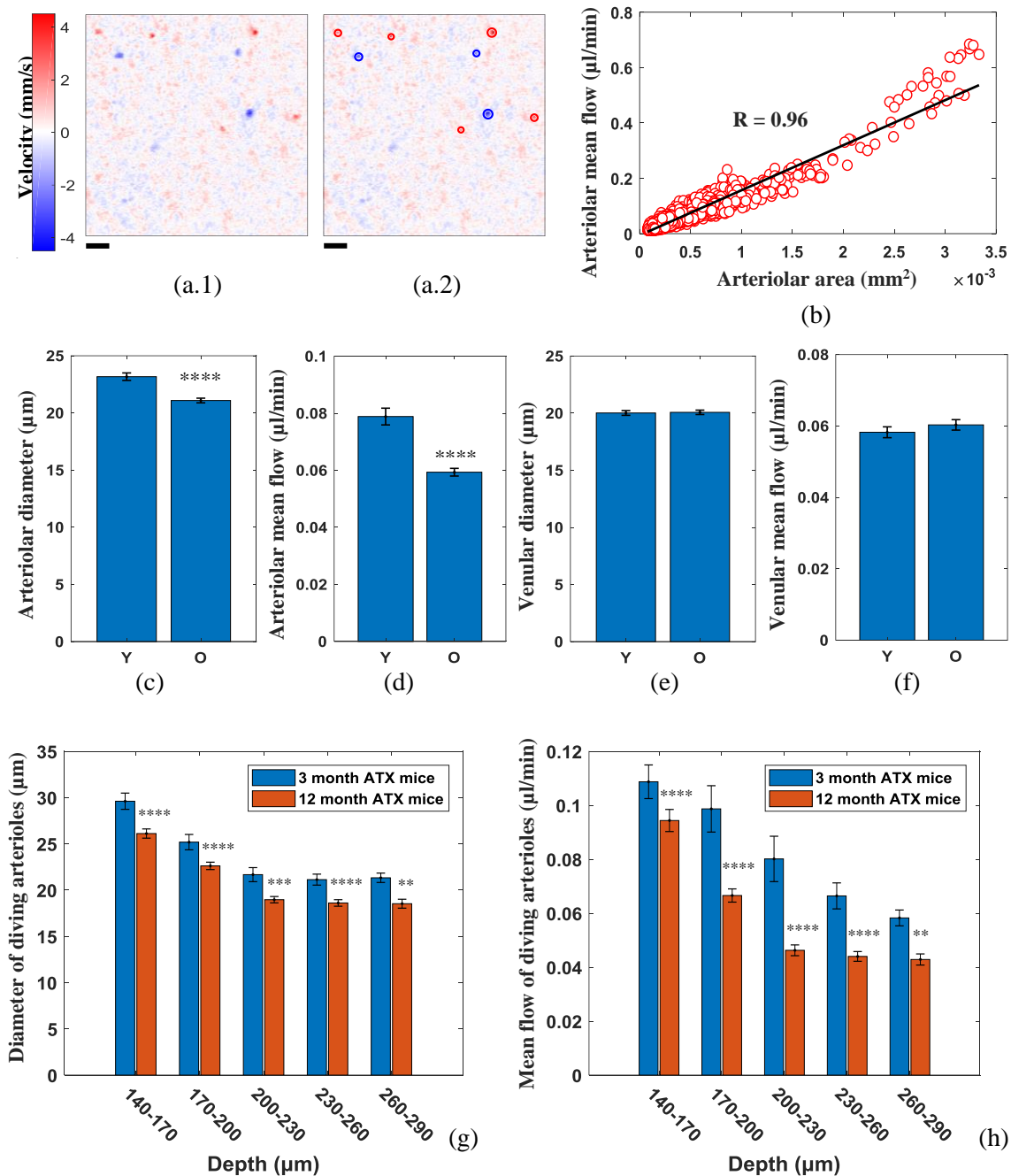


Figure 4-2 : Arteriolar and venular parameters obtained from Doppler OCT data. (a.1) An *en face* Doppler OCT image obtained at a depth of 180 μm beneath the cortical surface of a representative mouse. The scale bar is 100 μm . (a.2) The same Doppler OCT image with identified arterioles and venules encircled by red and blue circles respectively. (b) Correlation between arteriolar mean blood flow and arteriolar diameter. (c, d) Comparison of arteriolar diameter and mean blood flow

between the two ATX groups. The young ATX mice had significantly larger arteriolar diameter and significantly higher arteriolar mean blood flow than the old ATX mice. (e, f) Comparison of venular diameter and mean blood flow between the two groups of ATX mice. No significant difference was found for venules between the two groups. (g, h) The diameter and the mean blood flow of descending arterioles at 5 different depths for the young and the old ATX mice. Arteriolar diameter and mean blood flow at all range of depths decreased significantly in the old ATX mice when compared to the young ATX mice. Data are shown as mean \pm SEM. Unpaired *t*-test was performed: **** $p < 0.0001$, *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$. Y: young, O: old.

4.4.3 **Reduced blood flow is associated with reduced tissue PO₂ and pockets of hypoxia**

Two-photon phosphorescence lifetime imaging was used to investigate whether reduced blood flow affected cerebral tissue oxygenation through impaired oxygen delivery from microvasculature. In each mouse, tissue PO₂ data was acquired at 6 different depths ranging from 40 μm to 180 μm beneath the cortical surface. Figure 4-3 (b) shows the distribution of PO₂ values for the young and the old ATX group. The distribution of tissue PO₂ value for old ATX mice was shifted towards lower values when compared to young ATX mice. Focusing on the potential for hypoxia, we compared the frequency of samples with low PO₂ value (< 15 mmHg) between the two groups (inset of Figure 4-3 (b)). The percentage of low PO₂ points changed from 7.7% in young ATX mice to 12.6% in old ATX ones. Overall, the mean value of tissue PO₂ in the young ATX mice was 15% higher than that in the old ATX mice (Figure 4-3 (c)). Moreover, the old ATX group showed significantly higher spatial heterogeneity of tissue oxygenation suggesting capillary delivery heterogeneity (Figure 4-3 (d)). The analysis of cerebral tissue PO₂ vs. depth (limited to the depth that was accessible in this thin-skull preparation) showed a decreasing trend in both ATX groups, but the young ATX group had significantly higher tissue PO₂ at all depths (Figure 4-3 (e)). The decrease of cerebral tissue PO₂ and the increase of its spatial heterogeneity could cause low PO₂ sites to co-locate forming hypoxic micro-pockets. In order to seek for the presence of hypoxic micro-pockets, we defined them as regions

comprising at least 15 sampled points whose PO_2 value is lower than 5 mmHg. Figure 4-3 (a.2) shows an example of interpolated tissue PO_2 image with the presence of a hypoxic micro-pocket. In our study, hypoxic micro-pockets were found in 2 old ATX mice out of 7, while none of the 9 ATX young mice had hypoxic micro-pockets.

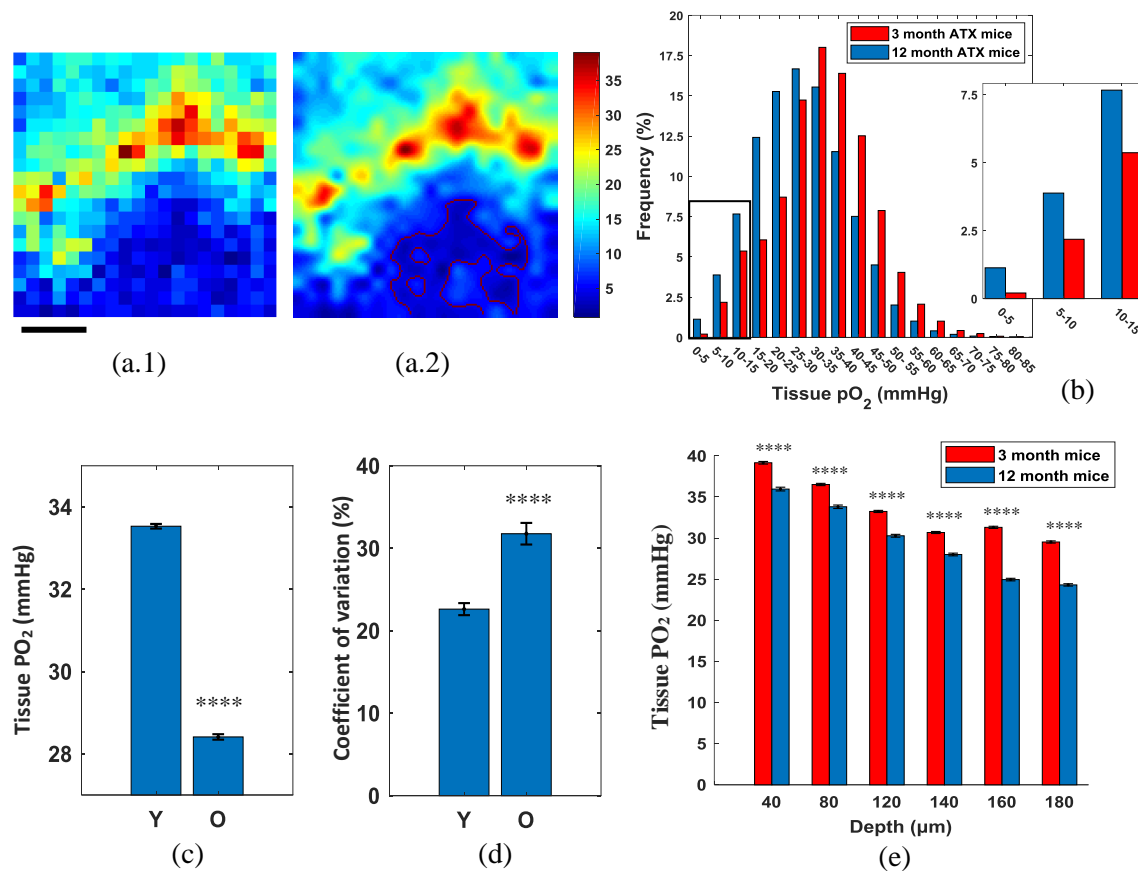


Figure 4-3 : Cerebral tissue PO_2 measurement with two-photon phosphorescence lifetime imaging. (a.1) A typical PO_2 grid (20 pixels x 20 pixels) covering a ROI of 400 μm x 400 μm . The scale bar is 100 μm . (a.2) The interpolated PO_2 image of the PO_2 grid (a.1). A hypoxic micro-pocket was identified and delimited by the red lines. (b) The distribution of cerebral tissue PO_2 for the two groups of ATX mice. The PO_2 distribution of old ATX mice was shifted towards lower PO_2 values when compared to the young ATX group. The inset shows that pixels with low PO_2 values were more frequently seen in old ATX mice than in young ATX mice. (c) Cerebral tissue PO_2 value in old ATX mice was significantly smaller than that in young ATX mice. (d) The old ATX mice showed a significantly higher spatial heterogeneity of cerebral tissue PO_2 value compared to young ATX mice. (e) The cerebral tissue PO_2 value in old ATX mice was significantly smaller than that in young ATX mice at all depths measured.

tissue PO₂ when compared to the young ATX group. The spatial heterogeneity was calculated for each PO₂ grid and was defined as the coefficient of variation of each PO₂ grid. (e) Tissue PO₂ values at different depths were analysed for the two groups of ATX mice. The decreasing trend of PO₂ relative to depth was found in both ATX groups. The old ATX group had significantly lower cortical tissue PO₂ at all investigated depths than the young ATX group. Data are shown as mean \pm SEM. Unpaired *t*-test was performed: *****p*<0.0001. Y: young, O: old.

4.4.4 Cerebral hypoperfusion and decreased tissue PO₂ is associated with capillary dilation

To better understand how atherosclerotic disease affects cerebral microvasculature, we further investigated capillaries, which bridge between descending arterioles and cerebral tissue in terms of gas and substance exchange. Even though capillaries are not anticipated to be directly affected by atherosclerotic lesions because of their simple wall structure, high circulating plasma lipids and pro-inflammatory factors associated with atherosclerotic disease can still cause deleterious effects on capillary endothelium as discovered in a previous *ex vivo* study (de Montgolfier, Pouliot, et al., 2019). In the current work, we were interested in the structural and functional changes of cerebral capillaries in an *in vivo* pro-atherogenic environment. By using two-photon fluorescence intensity imaging, reference 2D images were obtained onto which multiple capillaries were selected for subsequent two-photon line-scans (Figure 4-4 (a-b)). From the perpendicular and longitudinal spatiotemporal line-scan images, we were able to retrieve diameter, RBC flux, RBC velocity, RBC velocity heterogeneity and hematocrit for each capillary. Comparison of these capillary parameters between the young and the old ATX group is shown in Figure 4-4 (c-g). Changes in all parameters were statistically significant. RBC flux, RBC speed and hematocrit of the old ATX mice decreased significantly, whereas the value of capillary diameter and RBC velocity heterogeneity were found significantly greater compared to young ATX mice.

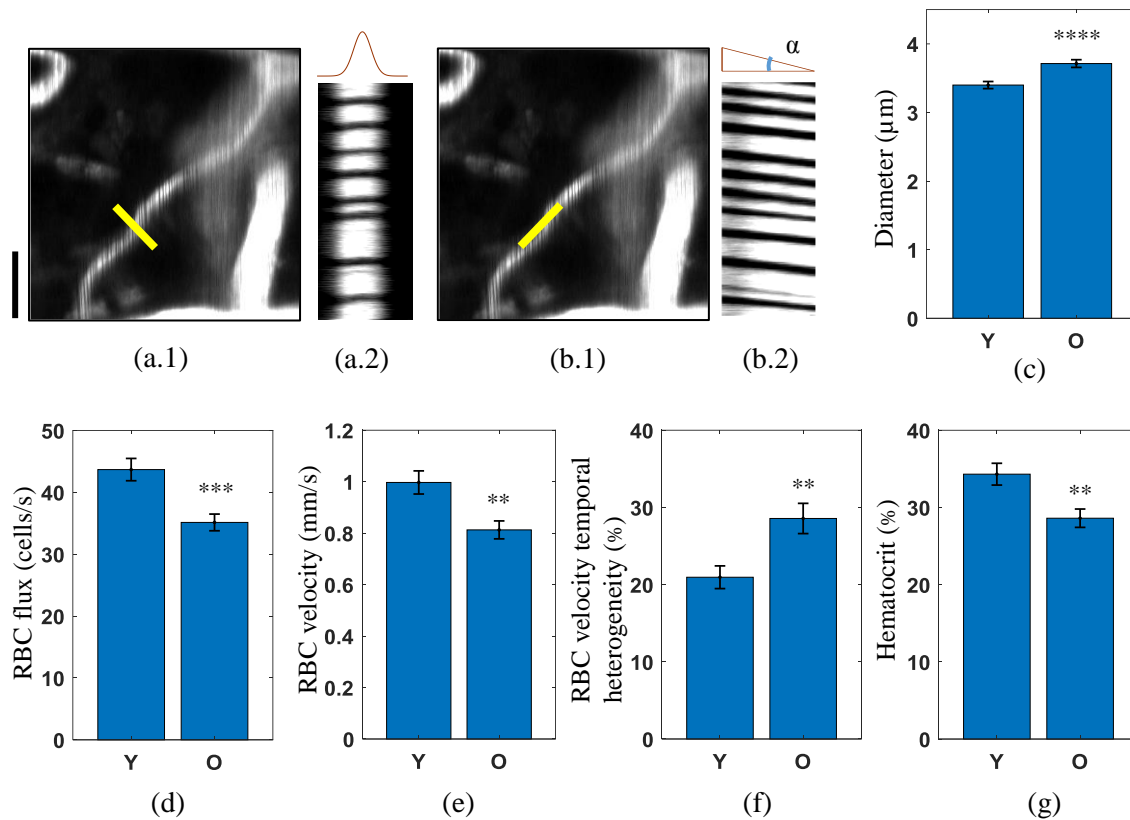


Figure 4-4 : Two-photon fluorescence line-scans to measure capillary parameters. (a.1, b.1) A two-photon fluorescence intensity image in the x-y plane with vessels appearing bright. The yellow line represents the laser scanning direction. Perpendicular line-scans were perpendicular to capillaries, and longitudinal line-scans were parallel to capillaries. The scale bar is $25 \mu\text{m}$. (a.2) A spatiotemporal image composed of 200 consecutive perpendicular scans. A Gaussian function was fitted to the intensity profile averaged from the 200 perpendicular scans to estimate the capillary lumen diameter. (b.2) A spatiotemporal image of longitudinal scans. The tilted dark streaks were due to the passage of RBCs in the capillary. RBC speed was calculated from the slope of the streaks, namely the tangent of the angle α . (c-g) Comparison of the capillary parameters, including diameter, RBC flux, RBC velocity, RBC velocity heterogeneity and hematocrit, between the young and the old ATX mice. RBC velocity heterogeneity is defined as the coefficient of variation of RBC velocity. RBC flux, RBC speed and hematocrit of old ATX mice were significantly lower when compared to young ATX mice. The values of capillary diameter and RBC velocity heterogeneity of old ATX mice were significantly higher than those of young ATX mice. Data are shown as mean \pm SEM. Unpaired t -test was performed: **** $p < 0.0001$, *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$. Y: young, O: old.

4.5 Discussion

As an organ consuming a high quantity of oxygen and energy substrates, the brain is vulnerable to hypoxia. The adequate oxygen supply to cerebral tissue, and its temporal and spatial regulation relies on a well-functioning cerebral vasculature. In the current work, we investigated the detrimental effects of atherosclerotic disease on cerebral microvasculature and cerebral tissue oxygenation using LDLR^{-/-}hApoB^{+/+} transgenic mice at 3 months of age, where no atherosclerotic lesions are found, and old mice at 12 months of age where atherosclerosis is fully developed. Four optical imaging techniques were employed to characterize the microvascular environment: (1) ISOI for monitoring hemodynamic response in somatosensory cortex to whisker stimulation; (2) Doppler OCT for estimating arteriolar and venular size and blood flow; (3) two-photon phosphorescence lifetime imaging for measuring cerebral tissue PO₂; (4) two-photon fluorescence line-scans to investigate capillaries. We used the thinned-skull window approach instead of open-skull technique to reduce inflammation and hemorrhage. As isoflurane, a commonly used anesthetic agent in animal studies for repeated experiments, modulates neural activity and has vasodilator effect (Matta, Ch, Heath, Tipping, & Summors, 1999; Schwinn, McIntyre, & Reves, 1990), all our experiments were conducted with awake mice to avoid associated confounds. During imaging sessions, resting states (of the order of minutes) and short bouts of locomotion (of the order of seconds) of the mice were observed to be interleaved. We monitored animals during imaging acquisition. OCT and two-photon images were acquired while the mice stayed still to avoid locomotion. Their stress and attention levels were however not monitored. These factors could have a potential impact on the measured cerebral hemodynamic parameters. As for our ISOI acquisition, whisker stimulation under awake condition caused increased animal locomotion. We took multiple recordings and selected the ones where locomotion was minimized. Furthermore, its effect on hemodynamic response in the barrel cortex has previously been found to be negligible (Takuwa et al., 2011).

Data from ISOI showed that hemodynamic responses in terms of HbO₂, HbR and HbT were significantly lower in the old ATX group than in the young ATX group. Group-averaged time series of HbO₂ and HbR concentration changes also confirmed that the old

ATX mice had much weaker hemodynamic response to whisker deflection than the young group. Whereas, the difference in time delay between the beginning of stimulation and the response was found quite similar in Fig.1f. If we assume that whisker stimulation resulted in comparable increase of oxygen metabolism in the somatosensory cortex in both ATX groups, the smaller increase of HbO₂ concentration and HbT concentration in the old ATX mice may indicate a less effective regulatory capacity for cerebral blood flow upon cortical activation. However, since neural activity was not measured in our study, we cannot conclude that the observed cerebral hemodynamic alteration in the 12-month-old ATX mice was completely due to atherosclerotic vascular disease. Since neurodegeneration and cerebrovascular disease are often intertwined(The Lancet Neurology, 2017), reduced neural response could also contribute to the decreased hemodynamic response.

Using Doppler OCT, we found that arteriolar blood flow and arteriolar lumen area were highly correlated. The data obtained from the young and the old ATX mice also suggest that the decrease of arteriolar diameter and the deterioration of arteriolar blood flow were associated with the presence of atherosclerosis. As atherosclerosis developed in old ATX mice, their arterioles, the primary sites for blood pressure and blood flow regulation, were affected, reducing their diameter, which is in accordance with the observation from an ex vivo study(Kraft et al., 2017). Our analysis of arteriolar diameter vs. depth also demonstrated that this reduction occurred not only in the proximal end branching off pial arteries but also in the deeper distal end with smaller lumen diameter. These diseased arterioles slowly lost the ability to supply an adequate quantity of oxygenated blood and to regulate the local blood flow. Drastically decreased oxygen supply to cerebral parenchyma by degenerated arterioles could eventually fail to meet the metabolic requirements of neurons. On the other hand, venules seemed not to be affected by atherosclerosis in terms of lumen size and mean blood flow. The fact that venules stayed intact may be explained by lack of smooth muscle cells in their tunica media and low local hemodynamic load(Rudijanto, 2007; H. Zhang et al., 2004).

Oxygen molecules diffuse from arterioles and capillaries to interstitial fluid, and neurons and glial cells extract oxygen directly from interstitial fluid(Sakadžić et al., 2014). The oxygen level in the surrounding media is thus crucial for these nerve and glial cells. By using two-photon microscopy with the phosphorescent dye PtP-C343, we found that the

old ATX mice had significantly lower tissue PO₂ value and significantly higher tissue PO₂ heterogeneity compared with the young ATX mice. This finding indicates that atherosclerosis-related vascular disease modulates the balance between oxygen supply and oxygen consumption, which could lead to hypoxic environment in cerebral tissue and may cause irreversible damages to neurons (J. M. Lee, Grabb, Zipfel, & Choi, 2000; Moeini et al., 2018; Taoufik & Probert, 2008). Even without acute ischemic events, such chronic hypoxia in the brain can have adverse effects on cognition (Bass et al., 2004; Drouin, Bolduc, et al., 2011; Row, 2007). Hypoxic micro-pockets with extremely low PO₂ values (< 5 mmHg) were identified in two old ATX mice. However, the direct impact of these hypoxic micro-pockets on local neurons and glia remains unclear, and the possible causative role in hypoxic micro-pocket formation played by structural and functional alteration and thrombotic occlusions of nearby microvasculature still needs to be further studied (Cruz Hernández et al., 2019).

Capillaries, as a critical component in oxygen delivery, were investigated by using two-photon fluorescence line-scan technique. The old ATX mice exhibited significant lower RBC flux, RBC speed and hematocrit compared with the young ATX mice. The decrease of capillary RBC flux and RBC speed in the old ATX mice coincided with the decrease of their arteriolar blood flow. Meanwhile, the old ATX mice showed significantly higher RBC velocity heterogeneity than the young ATX group. A high RBC velocity heterogeneity value suggests a disturbed capillary flow pattern, which has been proven to limit the efficacy of oxygen extraction and impairs oxygen supply to brain tissue (Angleys, Østergaard, & Jespersen, 2015; Lückner, Secomb, Weber, & Jenny, 2018). Thus, alteration of these capillary properties (RBC flux, RBC velocity, RBC velocity heterogeneity and hematocrit) along with degeneration of parenchymal arterioles probably resulted in the poor cerebral oxygenation in the old ATX mice (Bragin, Statom, Hagberg, & Nemoto, 2015; Lückner, Secomb, Weber, & Jenny, 2017; Sakadžić et al., 2014). Interestingly, capillary diameter of the old ATX group was found significantly larger than that of the young ATX group. Our *in vivo* finding is in concordance with a previous *ex vivo* study which associated larger capillary lumen diameter with atherosclerosis-susceptible transgenic mice with hyperlipidemia based on histological analysis (Süle et al., 2009). It has been demonstrated that cerebral blood flow is not solely controlled by arterioles, and

regulation can also occur at capillary level by pericytes (Attwell et al., 2010; Hall et al., 2014; Itoh & Suzuki, 2012b). The observed capillary dilation in the old ATX mice could thus be a coping mechanism of cerebral microvasculature to partially compensate oxygen supply decrease in the presence of atherosclerotic vascular disease in order to meet the metabolic requirements of the brain. In addition, capillary dilation also increases its permeability to solutes, which makes oxygen diffusion into surrounding tissue easier (Claesson-Welsh, 2015). Even though atherosclerosis-related capillary dilation may help mitigate cerebral hypoperfusion and hypoxia in resting state, blood flow regulation capacity at capillary level could decrease when a large number of neurons are activated by stimulations and a substantial amount of oxygen is needed. Furthermore, capillary dilation in old ATX mice may aggravate BBB disruption and impair its barrier functions, causing micro-hemorrhages in the cortex (de Montgolfier, Pouliot, et al., 2019).

One of the limitations of our work is that the aging effect was not taken into account in our interpretation when we made comparisons between 3-month-old and 12-month-old ATX mouse groups. Previous studies of behavioral/cognitive tests (social exploration, open field, water maze and novel object recognition) on wild type (WT) mice indicated that most of the cognitive functions were preserved in old healthy mice (21 months) compared with young healthy ones (3 months) despite the aging process (Wolf et al., 2017). However, not showing significant drop in cognitive functions in old WT mice does not mean that the cerebral vasculature of aged mice remained intact. According to a recent publication, aging does modify capillary functions (RBC flux, RBC speed and hematocrit) and tissue oxygenation (Moeini et al., 2018). But the effects seen here at 12 months were larger and are hypothesized to be due to atherosclerosis. It should also be noted that the two aforementioned studies used two distinct substrains of mice (C57BL/6JRccHsd and C57BL/6JOlaHsd). As a result, we cannot conclude that the negative impact was solely attributed to atherosclerosis. Aging, as one of the dominant risk factors for atherosclerotic lesion formation (Head, Daunert, & Goldschmidt-Clermont, 2017), may exacerbate cerebral vascular degeneration. Interestingly, the study from Moeini et al. reported that there were no significant changes on cerebral arteriolar diameter and hemodynamics among young, middle-aged and old WT mice (Moeini et al., 2018), which suggests that the

arteriolar deterioration in 12-month-old ATX mice seen in our study were likely caused by atherosclerotic disease.

4.6 Conclusion

In this paper, we demonstrated that atherosclerotic disease has detrimental effects on cerebral microvasculature and tissue oxygenation. Our data show that the decreased hemodynamic response to sensory stimulation is associated with the presence of atherosclerosis. While atherosclerotic disease develops, descending arterioles suffer from structural and functional degeneration, whereas ascending venules remain intact. During the progression of atherosclerosis, capillaries undergo RBC flux decrease and develop a more heterogeneous RBC speed pattern. Blood supply decrease from both arterioles and capillaries leads to cerebral tissue hypoxia. Meanwhile, capillary dilation occurs in old ATX mice, which partially compensates blood flow decrease caused by atherosclerotic disease.

4.7 Disclosures

The authors declare no competing financial interests.

4.8 Acknowledgment

This work was supported by Canadian Institutes of Health Research (CIHR).

4.9 References

- Abran, M., Cloutier, G., Cardinal, M.-H. R., Chayer, B., Tardif, J.-C., & Lesage, F. (2014). Development of a Photoacoustic, Ultrasound and Fluorescence Imaging Catheter for the Study of Atherosclerotic Plaque. *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, 8(5), 696–703. <https://doi.org/10.1109/TBCAS.2014.2360560>
- An, L., Qin, J., & Wang, R. K. (2010). Ultrahigh sensitive optical microangiography for in vivo imaging of microcirculations within human skin tissue beds. *Optics Express*, 18(8), 8220–8228. <https://doi.org/10.1364/OE.18.008220>
- Angels Font, M., Arboix, A., & Krupinski, J. (2010). Angiogenesis, Neurogenesis and Neuroplasticity in Ischemic Stroke. *Current Cardiology Reviews*, 6(3), 238–244. <https://doi.org/10.2174/157340310791658802>
- Angleys, H., Østergaard, L., & Jespersen, S. N. (2015). The Effects of Capillary Transit Time Heterogeneity (*CTH*) on Brain Oxygenation. *Journal of Cerebral Blood Flow*

- & *Metabolism*, 35(5), 806–817. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.254>
- Arenillas, J. F. (2011). Intracranial Atherosclerosis: Current Concepts. *Stroke*, 42(1, Supplement 1), S20–S23. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.597278>
- Attwell, D., Buchan, A. M., Charpak, S., Lauritzen, M., MacVicar, B. A., & Newman, E. A. (2010). Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*, 468(7321), 232–243. <https://doi.org/10.1038/nature09613>
- Ayata, C., Shin, H. K., Dileköz, E., Atochin, D. N., Kashiwagi, S., Eikermann-Haerter, K., & Huang, P. L. (2013). Hyperlipidemia disrupts cerebrovascular reflexes and worsens ischemic perfusion defect. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 33(6), 954–962. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.38>
- Banerjee, C., & Chimowitz, M. I. (2017). Stroke Caused by Atherosclerosis of the Major Intracranial Arteries. *Circulation Research*, 120(3), 502–513. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308441>
- Baran, U., & Wang, R. K. (2016). Review of optical coherence tomography based angiography in neuroscience. *Neurophotonics*, 3(1), 010902. <https://doi.org/10.1117/1.NPh.3.1.010902>
- Bass, J. L., Corwin, M., Gozal, D., Moore, C., Nishida, H., Parker, S., ... Kinane, T. B. (2004). The Effect of Chronic or Intermittent Hypoxia on Cognition in Childhood: A Review of the Evidence. *PEDIATRICS*, 114(3), 805–816. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-0227>
- Baumann, B. (2019). Optical Coherence Tomography for Brain Imaging (pp. 49–68). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9020-2_2
- Baumann, B., Pircher, M., Götzinger, E., & Hitzenberger, C. K. (2007). Full range complex spectral domain optical coherence tomography without additional phase shifters. *Optics Express*, 15(20), 13375. <https://doi.org/10.1364/OE.15.013375>
- Benfante, R., Yano, K., Hwang, L. J., Curb, J. D., Kagan, A., & Ross, W. (1994). Elevated serum cholesterol is a risk factor for both coronary heart disease and thromboembolic stroke in Hawaiian Japanese men. Implications of shared risk. *Stroke*, 25(4), 814–820. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8160226>
- Bezerra, H. G., Costa, M. A., Guagliumi, G., Rollins, A. M., & Simon, D. I. (2009). Intracoronary Optical Coherence Tomography: A Comprehensive Review. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 2(11), 1035–1046. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2009.06.019>
- Blair, G. W., Hernandez, M. V., Thrippleton, M. J., Doubal, F. N., & Wardlaw, J. M. (2017). Advanced Neuroimaging of Cerebral Small Vessel Disease. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, 19(7), 56. <https://doi.org/10.1007/s11936-017-0555-1>
- Boesen, M. E., Singh, D., Menon, B. K., & Frayne, R. (2015). A systematic literature review of the effect of carotid atherosclerosis on local vessel stiffness and elasticity. *Atherosclerosis*, 243(1), 211–222.

<https://doi.org/10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2015.09.008>

- Bolduc, V., Drouin, A., Gillis, M.-A., Duquette, N., Thorin-Trescases, N., Frayne-Robillard, I., ... Thorin, E. (2011). Heart rate-associated mechanical stress impairs carotid but not cerebral artery compliance in dyslipidemic atherosclerotic mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *301*(5), H2081–H2092. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00706.2011>
- Bouma, B. E., Yun, S.-H., Vakoc, B. J., Suter, M. J., & Tearney, G. J. (2009). Fourier-domain optical coherence tomography: recent advances toward clinical utility. *Current Opinion in Biotechnology*, *20*(1), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2009.02.007>
- Bousi, E., Zouvani, I., & Pitris, C. (2017). Lateral resolution improvement of oversampled OCT images using Capon estimation of weighted subvolume contribution. *Biomedical Optics Express*, *8*(3), 1319. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.001319>
- Bragin, D. E., Statom, G. L., Hagberg, S., & Nemoto, E. M. (2015). Increases in microvascular perfusion and tissue oxygenation via pulsed electromagnetic fields in the healthy rat brain. *Journal of Neurosurgery*, *122*(5), 1239–1247. <https://doi.org/10.3171/2014.8.JNS132083>
- Burrill, J., Dabbagh, Z., Gollub, F., & Hamady, M. (2007). Multidetector computed tomographic angiography of the cardiovascular system. *Postgraduate Medical Journal*, *83*(985), 698–704. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2007.061804>
- Calfon, M. A., Vinegoni, C., Ntziachristos, V., & Jaffer, F. A. (2010). Intravascular near-infrared fluorescence molecular imaging of atherosclerosis: toward coronary arterial visualization of biologically high-risk plaques. *Journal of Biomedical Optics*, *15*(1), 11107. Retrieved from http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=20210433&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3188610/pdf/JPBOPFO-000015-011107_1.pdf
- Carmichael, S. T. (2006). Cellular and molecular mechanisms of neural repair after stroke: Making waves. *Annals of Neurology*, *59*(5), 735–742. <https://doi.org/10.1002/ana.20845>
- Chen, Z., & Zhang, J. (2008). Doppler Optical Coherence Tomography (pp. 621–651). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-77550-8_21
- Chen, Z, Milner, T. E., Srinivas, S., Wang, X., Malekafzali, A., van Gemert, M. J., & Nelson, J. S. (1997). Noninvasive imaging of in vivo blood flow velocity using optical Doppler tomography. *Optics Letters*, *22*(14), 1119–1121. <https://doi.org/10.1364/ol.22.001119>
- Chen, Zhongping, Milner, T. E., Dave, D., & Nelson, J. S. (1997). Optical Doppler tomographic imaging of fluid flow velocity in highly scattering media. *Optics Letters*, *22*(1), 64. <https://doi.org/10.1364/OL.22.000064>
- Chiribiri, A., Botnar, R. M., & Nagel, E. (2013). Magnetic resonance coronary angiography: where are we today? *Current Cardiology Reports*, *15*(2), 328. <https://doi.org/10.1007/s11886-012-0328-0>

- Choi, W. J., Li, Y., & Wang, R. K. (2019). Monitoring Acute Stroke Progression: Multi-Parametric OCT Imaging of Cortical Perfusion, Flow, and Tissue Scattering in a Mouse Model of Permanent Focal Ischemia. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 38(6), 1427–1437. <https://doi.org/10.1109/TMI.2019.2895779>
- Cicinelli, P., Pasqualetti, P., Zaccagnini, M., Traversa, R., Oliveri, M., & Rossini, P. M. (2003). Interhemispheric Asymmetries of Motor Cortex Excitability in the Postacute Stroke Stage. *Stroke*, 34(11), 2653–2658. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000092122.96722.72>
- Claesson-Welsh, L. (2015). Vascular permeability--the essentials. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 120(3), 135–143. <https://doi.org/10.3109/03009734.2015.1064501>
- Cobb, M. J., Liu, X., & Li, X. (2005). Continuous focus tracking for real-time optical coherence tomography. *Optics Letters*, 30(13), 1680. <https://doi.org/10.1364/OL.30.001680>
- Cruz Hernández, J. C., Bracko, O., Kersbergen, C. J., Muse, V., Haft-Javaherian, M., Berg, M., ... Schaffer, C. B. (2019). Neutrophil adhesion in brain capillaries reduces cortical blood flow and impairs memory function in Alzheimer's disease mouse models. *Nature Neuroscience*, 22(3), 413–420. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0329-4>
- Cubeddu, R., Pifferi, A., Taroni, P., Torricelli, A., & Valentini, G. (1997). A solid tissue phantom for photon migration studies. *Physics in Medicine and Biology*, 42(10), 1971–1979. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/42/10/011>
- Curatolo, A., Munro, P. R. T., Lorensen, D., Sreekumar, P., Singe, C. C., Kennedy, B. F., & Sampson, D. D. (2016). Quantifying the influence of Bessel beams on image quality in optical coherence tomography. *Scientific Reports*, 6(1), 23483. <https://doi.org/10.1038/srep23483>
- Danad, I., Fayad, Z. A., Willemink, M. J., & Min, J. K. (2015). New Applications of Cardiac Computed Tomography. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 8(6), 710–723. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2015.03.005>
- Daugherty, A. (2002). Mouse Models of Atherosclerosis. *The American Journal of the Medical Sciences*, 323(1), 3–10. <https://doi.org/10.1097/00000441-200201000-00002>
- Davé, D. P., & Milner, T. E. (2000). Doppler-angle measurement in highly scattering media. *Optics Letters*, 25(20), 1523–1525. <https://doi.org/10.1364/ol.25.001523>
- de Boer, J. F., Hitzengerger, C. K., & Yasuno, Y. (2017). Polarization sensitive optical coherence tomography – a review [Invited]. *Biomedical Optics Express*, 8(3), 1838. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.001838>
- de Boer, J. F., Leitgeb, R., & Wojtkowski, M. (2017). Twenty-five years of optical coherence tomography: the paradigm shift in sensitivity and speed provided by Fourier domain OCT [Invited]. *Biomedical Optics Express*, 8(7), 3248–3280. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.003248>
- de Carlo, T. E., Romano, A., Waheed, N. K., & Duker, J. S. (2015). A review of optical coherence tomography angiography (OCTA). *International Journal of Retina and Vitreous*, 1(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s40942-015-0005-8>

- de Montgolfier, O., Pinçon, A., Pouliot, P., Gillis, M.-A., Bishop, J., Sled, J. G., ... Thorin, É. (2019). High Systolic Blood Pressure Induces Cerebral Microvascular Endothelial Dysfunction, Neurovascular Unit Damage, and Cognitive Decline in Mice. *Hypertension*, 73(1), 217–228. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12048>
- de Montgolfier, O., Pouliot, P., Gillis, M.-A., Ferland, G., Lesage, F., Thorin-Trescases, N., & Thorin, É. (2019). Premature vascular aging in LDLr^{-/-}:hApoB^{+/+} mice drives disruption of the neurovascular unit leading to cognitive decline. *GeroScience*, (in press).
- Desjardins, M., Berti, R., Lefebvre, J., Dubeau, S., & Lesage, F. (2014). Aging-related differences in cerebral capillary blood flow in anesthetized rats. *Neurobiology of Aging*, 35(8), 1947–1955. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2014.01.136>
- Desjardins, M., Berti, R., Pouliot, P., Dubeau, S., & Lesage, F. (2014). Multimodal study of the hemodynamic response to hypercapnia in anesthetized aged rats. *Neuroscience Letters*, 563, 33–37. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2014.01.027>
- Devor, A., Sakadzic, S., Saisan, P. A., Yaseen, M. A., Roussakis, E., Srinivasan, V. J., ... Boas, D. A. (2011). “Overshoot” of O₂ is required to maintain baseline tissue oxygenation at locations distal to blood vessels. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(38), 13676–13681. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1968-11.2011>
- Doesch, C. (2014). Diagnosis and management of ischemic cardiomyopathy: Role of cardiovascular magnetic resonance imaging. *World Journal of Cardiology*, 6(11), 1166. <https://doi.org/10.4330/wjc.v6.i11.1166>
- Drexler, W., Morgner, U., Kärtner, F. X., Pitris, C., Boppart, S. A., Li, X. D., ... Fujimoto, J. G. (1999). In vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Optics Letters*, 24(17), 1221. <https://doi.org/10.1364/OL.24.001221>
- Drexler, Wolfgang, Morgner, U., Ghanta, R. K., Kärtner, F. X., Schuman, J. S., & Fujimoto, J. G. (2001). Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography. *Nature Medicine*, 7(4), 502–507. <https://doi.org/10.1038/86589>
- Drouin, A., Bolduc, V., Thorin-Trescases, N., Bélanger, É., Fernandes, P., Baraghis, E., ... Thorin, E. (2011). Catechin treatment improves cerebrovascular flow-mediated dilation and learning abilities in atherosclerotic mice. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 300(3), H1032-43. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00410.2010>
- Drouin, A., Farhat, N., Bolduc, V., Thorin-Trescases, N., Gillis, M.-A., Villeneuve, L., ... Thorin, E. (2011). Up-regulation of thromboxane A₂ impairs cerebrovascular eNOS function in aging atherosclerotic mice. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 462(3), 371–383. <https://doi.org/10.1007/s00424-011-0973-y>
- Dubeau, S., Ferland, G., Gaudreau, P., Beaumont, E., & Lesage, F. (2011). Cerebrovascular hemodynamic correlates of aging in the Lou/c rat: A model of healthy aging. *NeuroImage*, 56(4), 1892–1901.

<https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2011.03.076>

- Ellulu, M. S., Patimah, I., Khaza'ai, H., Rahmat, A., Abed, Y., & Ali, F. (2016). Atherosclerotic cardiovascular disease: a review of initiators and protective factors. *Inflammopharmacology*, *24*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10787-015-0255-y>
- Emini Veseli, B., Perrotta, P., De Meyer, G. R. A., Roth, L., Van der Donckt, C., Martinet, W., & De Meyer, G. R. Y. (2017). Animal models of atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology*, *816*, 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.05.010>
- Erdener, Ş. E., Tang, J., Sajjadi, A., Kılıç, K., Kura, S., Schaffer, C. B., & Boas, D. A. (2019). Spatio-temporal dynamics of cerebral capillary segments with stalling red blood cells. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *39*(5), 886–900. <https://doi.org/10.1177/0271678X17743877>
- Faber, D. J., Mik, E. G., Aalders, M. C. G., & van Leeuwen, T. G. (2005). Toward assessment of blood oxygen saturation by spectroscopic optical coherence tomography. *Optics Letters*, *30*(9), 1015–1017. <https://doi.org/10.1364/ol.30.001015>
- Falk, E. (2006). Pathogenesis of Atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, *47*(8 Supplement), C7 LP-C12. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.09.068>
- Fan, Y., Shen, F., Frenzel, T., Zhu, W., Ye, J., Liu, J., ... Yang, G.-Y. (2010). Endothelial progenitor cell transplantation improves long-term stroke outcome in mice. *Annals of Neurology*, *67*(4), 488–497. <https://doi.org/10.1002/ana.21919>
- Fercher, A.F., Hitzinger, C. K., Kamp, G., & El-Zaiat, S. Y. (1995). Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry. *Optics Communications*, *117*(1–2), 43–48. [https://doi.org/10.1016/0030-4018\(95\)00119-S](https://doi.org/10.1016/0030-4018(95)00119-S)
- Fercher, Adolf F., Leitgeb, R., Hitzinger, C. K., Sattmann, H., & Wojtkowski, M. (1998). Complex spectral interferometry OCT. In G. B. Altshuler, S. Andersson-Engels, R. Birngruber, P. Bjerring, A. F. Fercher, H. J. Geschwind, ... H. J. C. M. Sterenberg (Eds.), *Complex spectral interferometry OCT* (Vol. 3564, pp. 173–178). International Society for Optics and Photonics. <https://doi.org/10.1117/12.339152>
- Finikova, O. S., Lebedev, A. Y., Aprelev, A., Troxler, T., Gao, F., Garnacho, C., ... Vinogradov, S. A. (2008). Oxygen Microscopy by Two-Photon-Excited Phosphorescence. *ChemPhysChem*, *9*(12), 1673–1679. <https://doi.org/10.1002/cphc.200800296>
- Flaherty, M. L., Kissela, B., Khoury, J. C., Alwell, K., Moomaw, C. J., Woo, D., ... Kleindorfer, D. (2013). Carotid artery stenosis as a cause of stroke. *Neuroepidemiology*, *40*(1), 36–41. <https://doi.org/10.1159/000341410>
- Fluri, F., Schuhmann, M. K., & Kleinschnitz, C. (2015). Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Design, Development and Therapy*, *9*, 3445–3454. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S56071>
- Foley, J. R. J., Plein, S., & Greenwood, J. P. (2017). Assessment of stable coronary artery disease by cardiovascular magnetic resonance imaging: Current and emerging techniques. *World Journal of Cardiology*, *9*(2), 92–108.

<https://doi.org/10.4330/wjc.v9.i2.92>

- Frangi, A. F., Niessen, W. J., Vincken, K. L., & Viergever, M. A. (1998). Multiscale vessel enhancement filtering (pp. 130–137). Springer, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/BFb0056195>
- Fujimoto, J. G., Pitris, C., Boppart, S. A., & Brezinski, M. E. (2000). Optical coherence tomography: an emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 2(1–2), 9–25. <https://doi.org/10.1038/sj.neo.7900071>
- Garcia-Garcia, H. M., Costa, M. A., & Serruys, P. W. (2010). Imaging of coronary atherosclerosis: intravascular ultrasound. *European Heart Journal*, 31(20), 2456–2469. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq280>
- García-García, H. M., Mintz, G. S., Lerman, A., Vince, D. G., Margolis, M. P., van Es, G.-A., ... Serruys, P. W. (2009). Tissue characterisation using intravascular radiofrequency data analysis: recommendations for acquisition, analysis, interpretation and reporting. *EuroIntervention : Journal of EuroPCR in Collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology*, 5(2), 177–189. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20449928>
- Gerega, A., Zolek, N., Soltysinski, T., Milej, D., Sawosz, P., Toczyłowska, B., & Liebert, A. (2011). Wavelength-resolved measurements of fluorescence lifetime of indocyanine green. *Journal of Biomedical Optics*, 16(6), 067010. <https://doi.org/10.1117/1.3593386>
- Good, D. C. (1990). *Cerebrovascular Disease*. (W. HK, H. WD, & H. JW, Eds.), *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations* (3rd ed.). Boston: Butterworths. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21250219>
- Götzinger, E., Pircher, M., Leitgeb, R. A., & Hitzenberger, C. K. (2005). High speed full range complex spectral domain optical coherence tomography. *Optics Express*, 13(2), 583. <https://doi.org/10.1364/OPEX.13.000583>
- Gould, I. G., Tsai, P., Kleinfeld, D., & Linninger, A. (n.d.). The capillary bed offers the largest hemodynamic resistance to the cortical blood supply. <https://doi.org/10.1177/0271678X16671146>
- Hadjistassou, C., Bejan, A., & Ventikos, Y. (2015). Cerebral oxygenation and optimal vascular brain organization. *Journal of the Royal Society, Interface*, 12(107). <https://doi.org/10.1098/rsif.2015.0245>
- Haffner, C., Malik, R., & Dichgans, M. (2016). Genetic factors in cerebral small vessel disease and their impact on stroke and dementia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 36(1), 158–171. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.71>
- Hakon, J., Quattromani, M. J., Sjölund, C., Tomasevic, G., Carey, L., Lee, J.-M., ... Bauer, A. Q. (2018). Multisensory stimulation improves functional recovery and resting-state functional connectivity in the mouse brain after stroke. *NeuroImage: Clinical*, 17, 717–730. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.11.022>

- Hall, C. N., Reynell, C., Gesslein, B., Hamilton, N. B., Mishra, A., Sutherland, B. A., ... Attwell, D. (2014). Capillary pericytes regulate cerebral blood flow in health and disease. *Nature*, *508*(7494), 55–60. <https://doi.org/10.1038/nature13165>
- Hannah, R., & Max, R. (2017). Causes of death. Published online at OurWorldInData.org. Retrieved from <https://ourworldindata.org/causes-of-death>
- Hara, Y. (2015). Brain Plasticity and Rehabilitation in Stroke Patients. *Journal of Nippon Medical School*, *82*(1), 4–13. <https://doi.org/10.1272/jnms.82.4>
- Harrison, T. C., Silasi, G., Boyd, J. D., & Murphy, T. H. (2013). Displacement of Sensory Maps and Disorganization of Motor Cortex After Targeted Stroke in Mice. *Stroke*, *44*(8), 2300–2306. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001272>
- Häusler, G., & Lindner, M. W. (1998). “Coherence Radar” and “Spectral Radar”—New Tools for Dermatological Diagnosis. *Journal of Biomedical Optics*, *3*(1), 21. <https://doi.org/10.1117/1.429899>
- Head, T., Daunert, S., & Goldschmidt-Clermont, P. J. (2017). The Aging Risk and Atherosclerosis: A Fresh Look at Arterial Homeostasis. *Frontiers in Genetics*, *8*, 216. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00216>
- Heit, J. J., & Wintermark, M. (2016). Perfusion Computed Tomography for the Evaluation of Acute Ischemic Stroke. *Stroke*, *47*(4), 1153–1158. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.011873>
- Hilderbrand, S. A., & Weissleder, R. (2010). Near-infrared fluorescence: application to in vivo molecular imaging. *Current Opinion in Chemical Biology*, *14*(1), 71–79. <https://doi.org/10.1016/J.CBPA.2009.09.029>
- Hillman, E. M. C. (2007). Optical brain imaging in vivo: techniques and applications from animal to man. *Journal of Biomedical Optics*, *12*(5), 051402. <https://doi.org/10.1117/1.2789693>
- Huang, D., Swanson, E., Lin, C., Schuman, J., Stinson, W., Chang, W., ... Et, A. (1991). Optical coherence tomography. *Science*, *254*(5035), 1178–1181. <https://doi.org/10.1126/science.1957169>
- Huber, R., Wojtkowski, M., Fujimoto, J. G., Jiang, J. Y., & Cable, A. E. (2005). Three-dimensional and C-mode OCT imaging with a compact, frequency swept laser source at 1300 nm. *Optics Express*, *13*(26), 10523. <https://doi.org/10.1364/OPEX.13.010523>
- Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME). (2018). Global Burden of Disease Collaborative Network. Global Burden of Disease Study 2016 (GBD 2016) Results. Retrieved from <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool>
- Itoh, Y., & Suzuki, N. (2012a). Control of brain capillary blood flow. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *32*(7), 1167–1176. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.5>
- Itoh, Y., & Suzuki, N. (2012b). Control of brain capillary blood flow. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *32*(7), 1167–1176. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.5>
- Izatt, J. A., Kulkarni, M. D., Yazdanfar, S., Barton, J. K., & Welch, A. J. (1997). In vivo

- bidirectional color Doppler flow imaging of picoliter blood volumes using optical coherence tomography. *Optics Letters*, 22(18), 1439–1441. <https://doi.org/10.1364/ol.22.001439>
- Jang, I.-K., Bouma, B. E., Kang, D.-H., Park, S.-J., Park, S.-W., Seung, K.-B., ... Tearney, G. J. (2002). Visualization of coronary atherosclerotic plaques in patients using optical coherence tomography: comparison with intravascular ultrasound. *Journal of the American College of Cardiology*, 39(4), 604–609. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01799-5](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01799-5)
- Jang, I.-K., Tearney, G. J., MacNeill, B., Takano, M., Moselewski, F., Iftima, N., ... Bouma, B. E. (2005). In Vivo Characterization of Coronary Atherosclerotic Plaque by Use of Optical Coherence Tomography. *Circulation*, 111(12), 1551–1555. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000159354.43778.69>
- Janssen, B. J. A., De Celle, T., Debets, J. J. M., Brouns, A. E., Callahan, M. F., & Smith, T. L. (2004). Effects of anesthetics on systemic hemodynamics in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 287(4), H1618–H1624. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01192.2003>
- Jickling, G. C., Liu, D., Ander, B. P., Stamova, B., Zhan, X., & Sharp, F. R. (2015). Targeting Neutrophils in Ischemic Stroke: Translational Insights from Experimental Studies. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35(6), 888–901. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.45>
- Jonathan, E., Enfield, J., & Leahy, M. J. (2010). Correlation mapping method for generating microcirculation morphology from optical coherence tomography (OCT) intensity images. *Journal of Biophotonics*, 4(9), n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/jbio.201000103>
- Kalaria, R. N. (2012). Cerebrovascular Disease and Mechanisms of Cognitive Impairment. *Stroke*, 43(9), 2526–2534. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.112.655803>
- Kalaria, R. N., & Ballard, C. (2001). Stroke and cognition. *Current Atherosclerosis Reports*, 3(4), 334–339. <https://doi.org/10.1007/s11883-001-0028-5>
- Kehl, F., Shen, H., Moreno, C., Farber, N. E., Roman, R. J., Kampine, J. P., & Hudetz, A. G. (2002). Isoflurane-induced cerebral hyperemia is partially mediated by nitric oxide and epoxyeicosatrienoic acids in mice in vivo. *Anesthesiology*, 97(6), 1528–1533. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12459681>
- Kim, J., Brown, W., Maher, J. R., Levinson, H., & Wax, A. (2015). Functional optical coherence tomography: principles and progress. *Physics in Medicine and Biology*, 60(10), R211–37. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/60/10/R211>
- Kini, A. S., Vengrenyuk, Y., Yoshimura, T., Matsumura, M., Pena, J., Baber, U., ... Narula, J. (2017). Fibrous Cap Thickness by Optical Coherence Tomography In Vivo. *Journal of the American College of Cardiology*, 69(6), 644–657. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.10.028>
- Kojima, T., Hirota, Y., Ema, M., Takahashi, S., Miyoshi, I., Okano, H., & Sawamoto, K. (2010). Subventricular Zone-Derived Neural Progenitor Cells Migrate Along a Blood Vessel Scaffold Toward the Post-Stroke Striatum. *STEM CELLS*, 28(3), N/A-N/A.

<https://doi.org/10.1002/stem.306>

- Koren-Morag, N., Tanne, D., Graff, E., & Goldbourt, U. (2002). Low- and High-Density Lipoprotein Cholesterol and Ischemic Cerebrovascular Disease. *Archives of Internal Medicine*, *162*(9), 993. <https://doi.org/10.1001/archinte.162.9.993>
- Kraft, P., Schuhmann, M. K., Garz, C., Jandke, S., Urlaub, D., Mencl, S., ... Schreiber, S. (2017). Hypercholesterolemia induced cerebral small vessel disease. *PLoS One*, *12*(8), e0182822. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182822>
- Kraus, M. F., Potsaid, B., Mayer, M. A., Bock, R., Baumann, B., Liu, J. J., ... Fujimoto, J. G. (2012). Motion correction in optical coherence tomography volumes on a per A-scan basis using orthogonal scan patterns. *Biomedical Optics Express*, *3*(6), 1182. <https://doi.org/10.1364/BOE.3.001182>
- Kubo, T., Imanishi, T., Takarada, S., Kuroi, A., Ueno, S., Yamano, T., ... Akasaka, T. (2007). Assessment of Culprit Lesion Morphology in Acute Myocardial Infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, *50*(10), 933–939. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.04.082>
- Kume, T., Akasaka, T., Kawamoto, T., Ogasawara, Y., Watanabe, N., Toyota, E., ... Yoshida, K. (2006). Assessment of Coronary Arterial Thrombus by Optical Coherence Tomography. *The American Journal of Cardiology*, *97*(12), 1713–1717. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.01.031>
- Larin, K. V., & Sampson, D. D. (2017). Optical coherence elastography – OCT at work in tissue biomechanics [Invited]. *Biomedical Optics Express*, *8*(2), 1172. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.001172>
- Lee, J. H., Han, D., Danad, I., Hartaigh, B. Ó., Lin, F. Y., & Min, J. K. (2016). Multimodality Imaging in Coronary Artery Disease: Focus on Computed Tomography. *Journal of Cardiovascular Ultrasound*, *24*(1), 7–17. <https://doi.org/10.4250/jcu.2016.24.1.7>
- Lee, J. M., Grabb, M. C., Zipfel, G. J., & Choi, D. W. (2000). Brain tissue responses to ischemia. *The Journal of Clinical Investigation*, *106*(6), 723–731. <https://doi.org/10.1172/JCI11003>
- Lee, J., Srinivasan, V., Radhakrishnan, H., & Boas, D. A. (2011). Motion correction for phase-resolved dynamic optical coherence tomography imaging of rodent cerebral cortex. *Optics Express*, *19*(22), 21258. <https://doi.org/10.1364/OE.19.021258>
- Lee, Y. T., Lin, H. Y., Chan, Y. W. F., Li, K. H. C., To, O. T. L., Yan, B. P., ... Tse, G. (2017). Mouse models of atherosclerosis: a historical perspective and recent advances. *Lipids in Health and Disease*, *16*(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0402-5>
- Lefebvre, J., Castonguay, A., & Lesage, F. (2018). Imaging whole mouse brains with a dual resolution serial swept-source optical coherence tomography scanner. In Q. Luo & J. Ding (Eds.), *Neural Imaging and Sensing 2018* (Vol. 10481, p. 12). SPIE. <https://doi.org/10.1117/12.2288521>
- Leitgeb, R. A., Villiger, M., Bachmann, A. H., Steinmann, L., & Lasser, T. (2006). Extended focus depth for Fourier domain optical coherence microscopy. *Optics*

Letters, 31(16), 2450. <https://doi.org/10.1364/OL.31.002450>

- Leitgeb, R., Hitzenberger, C., & Fercher, A. (2003). Performance of fourier domain vs time domain optical coherence tomography. *Optics Express*, 11(8), 889. <https://doi.org/10.1364/OE.11.000889>
- Leitgeb, Rainer A., Hitzenberger, C. K., Fercher, A. F., & Bajraszewski, T. (2003). Phase-shifting algorithm to achieve high-speed long-depth-range probing by frequency-domain optical coherence tomography. *Optics Letters*, 28(22), 2201. <https://doi.org/10.1364/OL.28.002201>
- Leitgeb, Rainer A., Werkmeister, R. M., Blatter, C., & Schmetterer, L. (2014). Doppler Optical Coherence Tomography. *Progress in Retinal and Eye Research*, 41, 26–43. <https://doi.org/10.1016/J.PRETEYERES.2014.03.004>
- Leitgeb, Rainer A., Schmetterer, L., Hitzenberger, C. K., Fercher, A. F., Berisha, F., Wojtkowski, M., & Bajraszewski, T. (2004). Real-time measurement of in vitro flow by Fourier-domain color Doppler optical coherence tomography. *OPTICS LETTERS*, 29(2). <https://doi.org/10.1364/OL.29.000171>
- Leitgeb, Rainer, Schmetterer, L. F., Wojtkowski, M., Hitzenberger, C. K., Sticker, M., & Fercher, A. F. (2002). Flow velocity measurements by frequency domain short coherence interferometry. In V. V. Tuchin, J. A. Izatt, & J. G. Fujimoto (Eds.) (Vol. 4619, p. 16). International Society for Optics and Photonics. <https://doi.org/10.1117/12.470477>
- Lexer, F., Hitzenberger, C. K., Drexler, W., Molebny, S., Sattmann, H., Sticker, M., & Fercher, A. F. (1999). Dynamic coherent focus OCT with depth-independent transversal resolution. *Journal of Modern Optics*, 46(3), 541–553. <https://doi.org/10.1080/09500349908231282>
- Lin, A., Rawal, S., Agid, R., & Mandell, D. M. (2018). Cerebrovascular Imaging: Which Test is Best? *Neurosurgery*, 83(1), 5–18. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyx325>
- Lindenstrøm, E., Boysen, G., & Nyboe, J. (1994). Influence of total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, and triglycerides on risk of cerebrovascular disease: the Copenhagen City Heart Study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 309(6946), 11–15. <https://doi.org/10.1136/bmj.309.6946.11>
- Liu, G., & Chen, Z. (2013). Advances in Doppler OCT. *Chinese Optics Letters : COL*, 11(1), 11702. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24443649>
- Lorenser, D., Yang, X., & Sampson, D. D. (2012). Ultrathin fiber probes with extended depth of focus for optical coherence tomography. *Optics Letters*, 37(10), 1616. <https://doi.org/10.1364/OL.37.001616>
- Lu, C.-W., Lee, C.-K., Tsai, M.-T., Wang, Y.-M., & Yang, C. C. (2008). Measurement of the hemoglobin oxygen saturation level with spectroscopic spectral-domain optical coherence tomography. *Optics Letters*, 33(5), 416–418. <https://doi.org/10.1364/ol.33.000416>
- Lücker, A., Secomb, T. W., Weber, B., & Jenny, P. (2017). The relative influence of hematocrit and red blood cell velocity on oxygen transport from capillaries to tissue.

- Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)*, 24(3). <https://doi.org/10.1111/micc.12337>
- Lücker, A., Secomb, T. W., Weber, B., & Jenny, P. (2018). The Relation Between Capillary Transit Times and Hemoglobin Saturation Heterogeneity. Part 1: Theoretical Models. *Frontiers in Physiology*, 9, 420. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00420>
- Makita, S., Fabritius, T., & Yasuno, Y. (2008a). Full-range, high-speed, high-resolution 1- μm spectral-domain optical coherence tomography using BM-scan for volumetric imaging of the human posterior eye. *Optics Express*, 16(12), 8406. <https://doi.org/10.1364/OE.16.008406>
- Makita, S., Fabritius, T., & Yasuno, Y. (2008b). Quantitative retinal-blood flow measurement with three-dimensional vessel geometry determination using ultrahigh-resolution Doppler optical coherence angiography. *Optics Letters*, 33(8), 836. <https://doi.org/10.1364/OL.33.000836>
- Makita, S., Hong, Y., Yamanari, M., Yatagai, T., & Yasuno, Y. (2006). Optical coherence angiography. *Optics Express*, 14(17), 7821. <https://doi.org/10.1364/OE.14.007821>
- Mancini, G. B. J., Gosselin, G., Chow, B., Kostuk, W., Stone, J., Yvorchuk, K. J., ... Zimmermann, R. (2014). Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Diagnosis and Management of Stable Ischemic Heart Disease. *Canadian Journal of Cardiology*, 30(8), 837–849. <https://doi.org/10.1016/J.CJCA.2014.05.013>
- Mariampillai, A., Leung, M. K. K., Jarvi, M., Standish, B. A., Lee, K., Wilson, B. C., ... Yang, V. X. D. (2010). Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Optics Letters*, 35(8), 1257. <https://doi.org/10.1364/OL.35.001257>
- Mariampillai, A., Standish, B. A., Moriyama, E. H., Khurana, M., Munce, N. R., Leung, M. K. K., ... Yang, V. X. D. (2008). Speckle variance detection of microvasculature using swept-source optical coherence tomography. *Optics Letters*, 33(13), 1530. <https://doi.org/10.1364/OL.33.001530>
- Masamoto, K., & Kanno, I. (2012). Anesthesia and the quantitative evaluation of neurovascular coupling. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 32(7), 1233–1247. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.50>
- Matta, B. F., Ch, M. B. B., Heath, K. J., Tipping, K., & Summors, A. C. (1999). Direct Cerebral Vasodilatory Effects of Sevoflurane and Isoflurane. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 91(3), 677–680. Retrieved from https://watermark.silverchair.com/0000542-199909000-00019.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485y sgAAAf0wggH5BgkqhkiG9w0BBwagggHqMIIB5gIBADCCAd8GCSqGS1b3DQE HATAeBglghkgBZQMEAS4wEQQMP0kSuibJdPyOrYdnAgEQgIIBsLmP-pZHoJaMERcQ9vjvdoHoeKKgzjF
- Matthews, S. D., & Frishman, W. H. (2017). A Review of the Clinical Utility of Intravascular Ultrasound (IVUS) and Optical Coherence Tomography (OCT) in the Assessment and Treatment of Coronary Artery Disease. *Cardiology in Review*, 1. <https://doi.org/10.1097/CRD.0000000000000128>

- Mintz, G. S., & Guagliumi, G. (2017). Intravascular imaging in coronary artery disease. *The Lancet*, *390*(10096), 793–809. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31957-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31957-8)
- Miura, M., Makita, S., Iwasaki, T., & Yasuno, Y. (2012). An Approach to Measure Blood Flow in Single Choroidal Vessel Using Doppler Optical Coherence Tomography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *53*(11), 7137. <https://doi.org/10.1167/iovs.12-10666>
- Moeini, M., Lu, X., Avti, P. K., Damseh, R., Bélanger, S., Picard, F., ... Lesage, F. (2018). Compromised microvascular oxygen delivery increases brain tissue vulnerability with age. *Scientific Reports*, *8*(1), 8219. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26543-w>
- Mok, V. C. T., Lam, B. Y. K., Wang, Z., Liu, W., Au, L., Leung, E. Y. L., ... Wong, A. (2016). Delayed-onset dementia after stroke or transient ischemic attack. *Alzheimer's & Dementia*, *12*(11), 1167–1176. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.05.007>
- Mostany, R., & Portera-Cailliau, C. (2008). A Craniotomy Surgery Procedure for Chronic Brain Imaging. *Journal of Visualized Experiments*, (12), e680. <https://doi.org/10.3791/680>
- Murphy, T. H., Li, P., Betts, K., & Liu, R. (2008). Two-Photon Imaging of Stroke Onset In Vivo Reveals That NMDA-Receptor Independent Ischemic Depolarization Is the Major Cause of Rapid Reversible Damage to Dendrites and Spines. *Journal of Neuroscience*, *28*(7), 1756–1772. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5128-07.2008>
- Murphy, Timothy H., & Corbett, D. (2009). Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(12), 861–872. <https://doi.org/10.1038/nrn2735>
- Nam, H. S., & Yoo, H. (2018). Spectroscopic optical coherence tomography: A review of concepts and biomedical applications. *Applied Spectroscopy Reviews*, *53*(2–4), 91–111. <https://doi.org/10.1080/05704928.2017.1324876>
- Ohab, J. J., Fleming, S., Blesch, A., & Carmichael, S. T. (2006). A Neurovascular Niche for Neurogenesis after Stroke. *Journal of Neuroscience*, *26*(50), 13007–13016. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4323-06.2006>
- Pantoni, L. (2010). *Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges*. *The Lancet Neurology* (Vol. 9). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70104-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70104-6)
- Park, C. S., & Payne, S. J. (2016). Modelling the effects of cerebral microvasculature morphology on oxygen transport. *Medical Engineering & Physics*, *38*(1), 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2015.09.004>
- Paschotta, R. (2008). numerical aperture. In *Encyclopedia of Laser Physics and Technology* (1st ed.). Wiley-VCH.
- Patel, K., Tarkin, J., Serruys, P. W., Tenekecioglu, E., Foin, N., Zhang, Y.-J., ... Bourantas, C. V. (2017). Invasive or non-invasive imaging for detecting high-risk coronary lesions? *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, *15*(3), 165–179. <https://doi.org/10.1080/14779072.2017.1297231>

- Pedersen, C. J., Huang, D., Shure, M. A., & Rollins, A. M. (2007). Measurement of absolute flow velocity vector using dual-angle, delay-encoded Doppler optical coherence tomography. *Optics Letters*, 32(5), 506–508. <https://doi.org/10.1364/ol.32.000506>
- Perez-de-Puig, I., Miró-Mur, F., Ferrer-Ferrer, M., Gelpi, E., Pedragosa, J., Justicia, C., ... Planas, A. M. (2015). Neutrophil recruitment to the brain in mouse and human ischemic stroke. *Acta Neuropathologica*, 129(2), 239–257. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1381-0>
- Perry, R., Joseph, M. X., Chew, D. P., Aylward, P. E., & De Pasquale, C. G. (2013). Coronary Artery Wall Thickness of the Left Anterior Descending Artery Using High Resolution Transthoracic Echocardiography - Normal Range of Values. *Echocardiography*, 30(7), 759–764. <https://doi.org/10.1111/echo.12136>
- Pierce, M. C., Strasswimmer, J., Hyle Park, B., Cense, B., & de Boer, J. F. (2004). Advances in Optical Coherence Tomography Imaging for Dermatology. *Journal of Investigative Dermatology*, 123(3), 458–463. <https://doi.org/10.1111/J.0022-202X.2004.23404.X>
- Pircher, M., Götzinger, E., & Hitzenberger, C. K. (2006). Dynamic focus in optical coherence tomography for retinal imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 11(5), 054013. <https://doi.org/10.1117/1.2358960>
- Podoleanu, A. G. (2000). Unbalanced versus balanced operation in an optical coherence tomography system. *Applied Optics*, 39(1), 173. <https://doi.org/10.1364/AO.39.000173>
- Popescu, D. P., Choo-Smith, L.-P., Fluerau, C., Mao, Y., Chang, S., Disano, J., ... Sowa, M. G. (2011). Optical coherence tomography: fundamental principles, instrumental designs and biomedical applications. *Biophysical Reviews*, 3(3), 155. <https://doi.org/10.1007/s12551-011-0054-7>
- Powell-Braxton, L., Véniant, M., Latvala, R. D., Hirano, K.-I., Won, W. B., Ross, J., ... Davidson, N. O. (1998). A mouse model of human familial hypercholesterolemia: Markedly elevated low density lipoprotein cholesterol levels and severe atherosclerosis on a low-fat chow diet. *Nature Medicine*, 4(8), 934–938. <https://doi.org/10.1038/nm0898-934>
- Pries, A. R., Secomb, T. W., & Gaehtgens, P. (1996). Relationship between structural and hemodynamic heterogeneity in microvascular networks. *The American Journal of Physiology*, 270(2 Pt 2), H545–53. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1996.270.2.H545>
- Proskurin, S. G., He, Y., & Wang, R. K. (2003). *Determination of flow velocity vector based on Doppler shift and spectrum broadening with optical coherence tomography. OPTICS LETTERS* (Vol. 28). Retrieved from https://www.osapublishing.org/DirectPDFAccess/EB8E493A-DD44-BECD-49F9C9E7583D0BF6_73307/ol-28-14-1227.pdf?da=1&id=73307&seq=0&mobile=no
- Puliafito, C. A., Hee, M. R., Lin, C. P., Reichel, E., Schuman, J. S., Duker, J. S., ... Fujimoto, J. G. (1995). Imaging of Macular Diseases with Optical Coherence

- Tomography. *Ophthalmology*, 102(2), 217–229. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(95\)31032-9](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(95)31032-9)
- Qi, B., Phillip Himmer, A., Maggie Gordon, L., Victor Yang, X. D., David Dickensheets, L., & Alex Vitkin, I. (2004). Dynamic focus control in high-speed optical coherence tomography based on a microelectromechanical mirror. *Optics Communications*, 232(1–6), 123–128. <https://doi.org/10.1016/J.OPTCOM.2004.01.015>
- Ralston, T. S., Marks, D. L., Scott Carney, P., & Boppart, S. A. (2007). Interferometric synthetic aperture microscopy. *Nature Physics*, 3(2), 129–134. <https://doi.org/10.1038/nphys514>
- Ramírez, C., Sierra, S., Tercero, I., Vázquez, J. A., Pineda, A., Manrique, T., & Burgos, J. S. (2011). ApoB100/LDLR-/- Hypercholesterolaemic Mice as a Model for Mild Cognitive Impairment and Neuronal Damage. *PLoS ONE*, 6(7), e22712. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022712>
- Rathod, K. S., Hamshere, S. M., Jones, D. A., & Mathur, A. (2015). Intravascular Ultrasound Versus Optical Coherence Tomography for Coronary Artery Imaging – Apples and Oranges? *Interventional Cardiology Review*, 10(1), 8. <https://doi.org/10.15420/icr.2015.10.1.8>
- Rezakhaniha, R., Agianniotis, A., Schrauwen, J. T. C., Griffa, A., Sage, D., Bouten, C. V. C., ... Stergiopoulos, N. (2012). Experimental investigation of collagen waviness and orientation in the arterial adventitia using confocal laser scanning microscopy. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 11(3–4), 461–473. <https://doi.org/10.1007/s10237-011-0325-z>
- Rollins, A. M., & Izatt, J. A. (1999). *Optimal interferometer designs for optical coherence tomography*. *OPTICS LETTERS* (Vol. 24). Retrieved from https://www.osapublishing.org/DirectPDFAccess/7C0FC061-A78E-C4A7-4F6AC3E45AE43855_37503/ol-24-21-1484.pdf?da=1&id=37503&seq=0&mobile=no
- Row, B. W. (2007). Intermittent Hypoxia and Cognitive Function: Implications from Chronic Animal Models (pp. 51–67). Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-0-387-75434-5_5
- Rudijanto, A. (2007). The role of vascular smooth muscle cells on the pathogenesis of atherosclerosis. *Acta Medica Indonesiana*, 39(2), 86–93. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17933075>
- Sakadžić, S., Mandeville, E. T., Gagnon, L., Musacchia, J. J., Yaseen, M. A., Yucel, M. A., ... Boas, D. A. (2014). Large arteriolar component of oxygen delivery implies a safe margin of oxygen supply to cerebral tissue. *Nature Communications*, 5(1), 5734. <https://doi.org/10.1038/ncomms6734>
- Sakadžić, S., Roussakis, E., Yaseen, M. A., Mandeville, E. T., Srinivasan, V. J., Arai, K., ... Boas, D. A. (2010). Two-photon high-resolution measurement of partial pressure of oxygen in cerebral vasculature and tissue. *Nature Methods*, 7(9), 755–759. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1490>
- Sakuma, H. (2011). Coronary CT versus MR Angiography: The Role of MR Angiography.

Radiology, 258(2), 340–349. <https://doi.org/10.1148/radiol.10100116>

- Sanan, D. A., Newland, D. L., Tao, R., Marcovina, S., Wang, J., Mooser, V., ... Hobbs, H. H. (1998). Low density lipoprotein receptor-negative mice expressing human apolipoprotein B-100 develop complex atherosclerotic lesions on a chow diet: no accentuation by apolipoprotein(a). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(8), 4544–4549. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.8.4544>
- Sanz, J., & Fayad, Z. A. (2008). Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature*, 451(7181), 953–957. <https://doi.org/10.1038/nature06803>
- Sato, Y., Nakajima, S., Shiraga, N., Atsumi, H., Yoshida, S., Koller, T., ... Kikinis, R. (1998). Three-dimensional multi-scale line filter for segmentation and visualization of curvilinear structures in medical images. *Medical Image Analysis*, 2(2), 143–168. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10646760>
- Schächinger, V., & Zeiher, A. M. (2000). Atherosclerosis-associated endothelial dysfunction. *Zeitschrift Für Kardiologie*, 89(21), IX70–IX74. <https://doi.org/10.1007/s003920070033>
- Schrandt, C. J., Kazmi, S. S., Jones, T. A., & Dunn, A. K. (2015). Chronic Monitoring of Vascular Progression after Ischemic Stroke Using Multiexposure Speckle Imaging and Two-Photon Fluorescence Microscopy. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35(6), 933–942. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.26>
- Schwinn, D. A., McIntyre, R. W., & Reves, J. G. (1990). Isoflurane-induced vasodilation: role of the alpha-adrenergic nervous system. *Anesthesia and Analgesia*, 71(5), 451–459. <https://doi.org/10.1213/00000539-199011000-00001>
- Shen, K., Lu, H., Baig, S., & Wang, M. R. (2017). Improving lateral resolution and image quality of optical coherence tomography by the multi-frame superresolution technique for 3D tissue imaging. *Biomedical Optics Express*, 8(11), 4887–4918. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.004887>
- Shih, L. C., Saver, J. L., Alger, J. R., Starkman, S., Leary, M. C., Vinuela, F., ... Kidwell, C. S. (2003). Perfusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging Thresholds Identifying Core, Irreversibly Infarcted Tissue. *Stroke*, 34(6), 1425–1430. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000072998.70087.E9>
- Shimamura, M., Nakagami, H., Shimizu, H., Wakayama, K., Kawano, T., Ikeda, Y., ... Morishita, R. (2018). Therapeutic Effects of Systemic Administration of the Novel RANKL-Modified Peptide, MHP1, for Ischemic Stroke in Mice. *BioMed Research International*, 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/4637084>
- Shin, E.-S., Garcia-Garcia, H. M., Ligthart, J. M. R., Witberg, K., Schultz, C., van der Steen, A. F. W., & Serruys, P. W. (2011). In vivo findings of tissue characteristics using iMap™ IVUS and Virtual Histology™ IVUS. *EuroIntervention*, 6(8), 1017–1019. <https://doi.org/10.4244/EIJV6I8A175>
- Shin, P., Choi, W., Joo, J., & Oh, W.-Y. (2018). Quantitative hemodynamic analysis of cerebral blood flow and neurovascular coupling using optical coherence tomography angiography. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 0271678X1877343.

<https://doi.org/10.1177/0271678X18773432>

- Srinivasan, V. J., Jiang, J. Y., Yaseen, M. A., Radhakrishnan, H., Wu, W., Barry, S., ... Boas, D. A. (2010). Rapid volumetric angiography of cortical microvasculature with optical coherence tomography. *Optics Letters*, 35(1), 43–45. <https://doi.org/10.1364/OL.35.000043>
- Srinivasan, V. J., Mandeville, E. T., Can, A., Blasi, F., Climov, M., Daneshmand, A., ... Ayata, C. (2013). Multiparametric, Longitudinal Optical Coherence Tomography Imaging Reveals Acute Injury and Chronic Recovery in Experimental Ischemic Stroke. *PLoS ONE*, 8(8), e71478. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071478>
- Srinivasan, V. J., Radhakrishnan, H., Jiang, J. Y., Barry, S., & Cable, A. E. (2012). Optical coherence microscopy for deep tissue imaging of the cerebral cortex with intrinsic contrast. *Optics Express*, 20(3), 2220. <https://doi.org/10.1364/OE.20.002220>
- Srinivasan, V. J., Sakadžić, S., Gorczynska, I., Ruvinskaya, S., Wu, W., Fujimoto, J. G., & Boas, D. A. (2009). Depth-resolved microscopy of cortical hemodynamics with optical coherence tomography. *Optics Letters*, 34(20), 3086–3088. <https://doi.org/10.1364/OL.34.003086>
- Srinivasan, V. J., Sakadžić, S., Gorczynska, I., Ruvinskaya, S., Wu, W., Fujimoto, J. G., & Boas, D. A. (2010). Quantitative cerebral blood flow with Optical Coherence Tomography. *Optics Express*, 18(3), 2477. <https://doi.org/10.1364/OE.18.002477>
- Standish, B. A., Lee, K. K. C., Mariampillai, A., Munce, N. R., Leung, M. K. K., Yang, V. X. D., & Vitkin, I. A. (2010). *In vivo* endoscopic multi-beam optical coherence tomography. *Physics in Medicine and Biology*, 55(3), 615–622. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/55/3/004>
- Statistique Canada. (2018). Tableau 102-0561 - Les principales causes de décès, population totale, selon le groupe d'âge. CANSIM (base de données). Retrieved from <https://www150.statcan.gc.ca/t1/tb11/en/tv.action?pid=1310039401>
- Su, J. P., Li, Y., Tang, M., Liu, L., Pechauer, A. D., Huang, D., & Liu, G. (2015). Imaging the anterior eye with dynamic-focus swept-source optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 20(12), 126002. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.12.126002>
- Süle, Z., Mracskó, É., Bereczki, E., Sántha, M., Csont, T., Ferdinandy, P., ... Farkas, E. (2009). Capillary injury in the ischemic brain of hyperlipidemic, apolipoprotein B-100 transgenic mice. *Life Sciences*, 84(25–26), 935–939. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2009.04.011>
- Szkulmowska, A., Szkulmowski, M., Szlag, D., Kowalczyk, A., & Wojtkowski, M. (2009). Three-dimensional quantitative imaging of retinal and choroidal blood flow velocity using joint Spectral and Time domain Optical Coherence Tomography. *Optics Express*, 17(13), 10584–10598. <https://doi.org/10.1364/oe.17.010584>
- Szkulmowski, M., Tamborski, S., & Wojtkowski, M. (2016). Spectrometer calibration for spectroscopic Fourier domain optical coherence tomography. *Biomedical Optics Express*, 7(12), 5042. <https://doi.org/10.1364/BOE.7.005042>

- Takuwa, H., Autio, J., Nakayama, H., Matsuura, T., Obata, T., Okada, E., ... Kanno, I. (2011). Reproducibility and variance of a stimulation-induced hemodynamic response in barrel cortex of awake behaving mice. *Brain Research*, *1369*, 103–111. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2010.11.007>
- Tamborski, S., Lyu, H. C., Dolezyczek, H., Malinowska, M., Wilczynski, G., Szlag, D., ... Szkulmowski, M. (2016). Extended-focus optical coherence microscopy for high-resolution imaging of the murine brain. *Biomedical Optics Express*, *7*(11), 4400. <https://doi.org/10.1364/BOE.7.004400>
- Taoufik, E., & Probert, L. (2008). Ischemic neuronal damage. *Current Pharmaceutical Design*, *14*(33), 3565–3573. <https://doi.org/10.2174/138161208786848748>
- The Lancet Neurology. (2017). Vascular disease and neurodegeneration: advancing together. *The Lancet Neurology*, *16*(5), 333. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30086-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30086-8)
- Thored, P., Wood, J., Arvidsson, A., Cammenga, J., Kokaia, Z., & Lindvall, O. (2007). Long-Term Neuroblast Migration Along Blood Vessels in an Area With Transient Angiogenesis and Increased Vascularization After Stroke. *Stroke*, *38*(11), 3032–3039. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.488445>
- van Rooij, F. G., Schaapsmeeders, P., Maaijwee, N. A. M., van Duijnhoven, D. A. H. J., de Leeuw, F.-E., Kessels, R. P. C., & van Dijk, E. J. (2014). Persistent Cognitive Impairment After Transient Ischemic Attack. *Stroke*, *45*(8), 2270–2274. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.005205>
- Vinegoni, C., Botnaru, I., Aikawa, E., Calfon, M. A., Iwamoto, Y., Folco, E. J., ... Jaffer, F. A. (2011). Indocyanine Green Enables Near-Infrared Fluorescence Imaging of Lipid-Rich, Inflamed Atherosclerotic Plaques. *Science Translational Medicine*, *3*(84), 84ra45–84ra45. <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.3001577>
- Walther, J., Gaertner, M., Cimalla, P., Burkhardt, A., Kirsten, L., Meissner, S., & Koch, E. (2011). Optical coherence tomography in biomedical research. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *400*(9), 2721–2743. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5052-x>
- Wang, R. K., & An, L. (2011). Multifunctional imaging of human retina and choroid with 1050-nm spectral domain optical coherence tomography at 92-kHz line scan rate. *Journal of Biomedical Optics*, *16*(5), 050503. <https://doi.org/10.1117/1.3582159>
- Wang, R. K., Jacques, S. L., Ma, Z., Hurst, S., Hanson, S. R., & Gruber, A. (2007). Three dimensional optical angiography. *Optics Express*, *15*(7), 4083. <https://doi.org/10.1364/OE.15.004083>
- Wang, R. K., Zhang, Q., Li, Y., & Song, S. (2017). Optical coherence tomography angiography-based capillary velocimetry. *Journal of Biomedical Optics*, *22*(6), 066008. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.22.6.066008>
- Wang, L. V., & Wu, H.-I. (2009). *Biomedical Optics*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9780470177013>
- Wang, L. V., & Wu, H. (2007). *Biomedical optics : principles and imaging*. Wiley-

Interscience.

- Wang, Y., Bower, B. A., Izatt, J. A., Tan, O., & Huang, D. (2007). In vivo total retinal blood flow measurement by Fourier domain Doppler optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, *12*(4), 041215. <https://doi.org/10.1117/1.2772871>
- Wang, Y., Fawzi, A., Tan, O., Gil-Flamer, J., & Huang, D. (2009). Retinal blood flow detection in diabetic patients by Doppler Fourier domain optical coherence tomography. *Optics Express*, *17*(5), 4061–4073. <https://doi.org/10.1364/oe.17.004061>
- Wardlaw, J. M., Smith, C., & Dichgans, M. (2013). *Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: insights from neuroimaging*. *The Lancet Neurology* (Vol. 12). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70060-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70060-7)
- Watson, B. D., Dietrich, W. D., Busto, R., Wachtel, M. S., & Ginsberg, M. D. (1985). Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Annals of Neurology*, *17*(5), 497–504. <https://doi.org/10.1002/ana.410170513>
- Werkmeister, R. M., Dragostinoff, N., Pircher, M., Götzinger, E., Hitzenberger, C. K., Leitgeb, R. A., & Schmetterer, L. (2008). Bidirectional Doppler Fourier-domain optical coherence tomography for measurement of absolute flow velocities in human retinal vessels. *Optics Letters*, *33*(24), 2967. <https://doi.org/10.1364/OL.33.002967>
- Wojtkowski, M., Kowalczyk, A., Leitgeb, R., & Fercher, A. F. (2002). Full range complex spectral optical coherence tomography technique in eye imaging. *Optics Letters*, *27*(16), 1415. <https://doi.org/10.1364/OL.27.001415>
- Wojtkowski, Maciej, Leitgeb, R., Kowalczyk, A., Bajraszewski, T., & Fercher, A. F. (2002). In vivo human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, *7*(3), 457. <https://doi.org/10.1117/1.1482379>
- Wolf, G., Lotan, A., Lifschytz, T., Ben-Ari, H., Kreisel Merzel, T., Tatarsky, P., ... Lerer, B. (2017). Differentially Severe Cognitive Effects of Compromised Cerebral Blood Flow in Aged Mice: Association with Myelin Degradation and Microglia Activation. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *9*, 191. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00191>
- Xu, C., Ye, J., Marks, D. L., & Boppart, S. A. (2004). Near-infrared dyes as contrast-enhancing agents for spectroscopic optical coherence tomography. *Optics Letters*, *29*(14), 1647–1649. <https://doi.org/10.1364/ol.29.001647>
- Yaqoob, Z., Wu, J., & Yang, C. (2005). Spectral domain optical coherence tomography: a better OCT imaging strategy. *BioTechniques*, *39*(6S), S6–S13. <https://doi.org/10.2144/000112090>
- Yasuno, Y., Sugisaka, J., Sando, Y., Nakamura, Y., Makita, S., Itoh, M., & Yatagai, T. (2006). Non-iterative numerical method for laterally superresolving Fourier domain optical coherence tomography. *Optics Express*, *14*(3), 1006. <https://doi.org/10.1364/OE.14.001006>
- Yin, B., Chu, K. K., Liang, C.-P., Singh, K., Reddy, R., & Tearney, G. J. (2016). μ OCT imaging using depth of focus extension by self-imaging wavefront division in a

- common-path fiber optic probe. *Optics Express*, 24(5), 5555. <https://doi.org/10.1364/OE.24.005555>
- Yu, L., Nguyen, E., Liu, G., Choi, B., & Chen, Z. (2010). Spectral Doppler optical coherence tomography imaging of localized ischemic stroke in a mouse model. *Journal of Biomedical Optics*, 15(6), 066006. <https://doi.org/10.1117/1.3505016>
- Yu, L., Rao, B., Zhang, J., Su, J., Wang, Q., Guo, S., & Chen, Z. (2007). Improved lateral resolution in optical coherence tomography by digital focusing using two-dimensional numerical diffraction method. *Optics Express*, 15(12), 7634. <https://doi.org/10.1364/OE.15.007634>
- Yun, S., Tearney, G., Bouma, B., Park, B., & de Boer, J. (2003). High-speed spectral-domain optical coherence tomography at 13 μm wavelength. *Optics Express*, 11(26), 3598. <https://doi.org/10.1364/OE.11.003598>
- Zagaynova, E., Gladkova, N., Shakhova, N., Gelikonov, G., & Gelikonov, V. (2008). Endoscopic OCT with forward-looking probe: clinical studies in urology and gastroenterology. *Journal of Biophotonics*, 1(2), 114–128. <https://doi.org/10.1002/jbio.200710017>
- Zeng, L., He, X., Wang, Y., Tang, Y., Zheng, C., Cai, H., ... Yang, G.-Y. (2014). MicroRNA-210 overexpression induces angiogenesis and neurogenesis in the normal adult mouse brain. *Gene Therapy*, 21(1), 37–43. <https://doi.org/10.1038/gt.2013.55>
- Zhang, A., Zhang, Q., Chen, C.-L., & Wang, R. K. (2015). Methods and algorithms for optical coherence tomography-based angiography: a review and comparison. *Journal of Biomedical Optics*, 20(10), 100901. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.10.100901>
- Zhang, C., Tabatabaei, M., Bélanger, S., Girouard, H., Moeini, M., Lu, X., & Lesage, F. (2017). Astrocytic endfoot Ca^{2+} correlates with parenchymal vessel responses during 4-AP induced epilepsy: An in vivo two-photon lifetime microscopy study. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 0271678X1772541. <https://doi.org/10.1177/0271678X17725417>
- Zhang, H., Sun, A., Shen, Y., Jia, J., Wang, S., Wang, K., & Ge, J. (2004). Artery interposed to vein did not develop atherosclerosis and underwent atrophic remodeling in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*, 177(1), 37–41. <https://doi.org/10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2004.06.019>
- Zhang, J., & Chen, Z. (2005). In vivo blood flow imaging by a swept laser source based Fourier domain optical Doppler tomography. *Optics Express*, 13(19), 7449–7457. <https://doi.org/10.1364/opex.13.007449>
- Zhao, Y., Chen, Z., Ding, Z., Ren, H., & Nelson, J. S. (2002). Real-time phase-resolved functional optical coherence tomography by use of optical Hilbert transformation. *Optics Letters*, 27(2), 98–100. <https://doi.org/10.1364/ol.27.000098>
- Zhao, Y., Chen, Z., Saxer, C., Xiang, S., de Boer, J. F., & Nelson, J. S. (2000). Phase-resolved optical coherence tomography and optical Doppler tomography for imaging blood flow in human skin with fast scanning speed and high velocity sensitivity. *Optics Letters*, 25(2), 114. <https://doi.org/10.1364/OL.25.000114>

CHAPITRE 5 ARTICLE 2: LONGITUDINAL OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY IMAGING OF TISSUE REPAIR AND MICROVASCULATURE REGENERATION AND FUNCTION AFTER TARGETED CEREBRAL ISCHEMIA

Cet article en lien avec le troisième objectif de cette thèse est soumis à la revue *Journal of Biomedical Optics* le 26 septembre 2019. Notre modèle de micro-infarctus a été créé par la photo-thrombose. Dans cette étude longitudinale, nous avons étudié le micro-infarctus cérébral et le rétablissement du cerveau post-AVC en utilisant la tomographie par cohérence optique. La réparation tissulaire, la réorganisation du réseau capillaire et le blocage des capillaires à la suite du micro-infarctus sont examinés.

Authors: Yuankang Lu,^a Xuecong Lu,^a Cong Zhang,^{a,c} Paul J. Marchand,^a Frédéric Lesage^{a,b,*}

^aLaboratoire d'Imagerie optique et moléculaire, École Polytechnique de Montréal, 2900 Edouard Montpetit Blvd, Montréal (Québec), Canada, H3T 1J4

^bInstitut de Cardiologie de Montréal, 5000 Rue Bélanger, Montréal (Québec), Canada, H1T 1C8

^cUniversité de Montreal, 2900 Edouard Montpetit Blvd, Montréal (Québec), Canada, H3T 1J4

5.1 Abstract

We investigated cerebral tissue repair and microvasculature regeneration and function after a targeted ischemic stroke. Following photo-thrombosis occlusion of microvasculature, chronic optical coherence tomography (OCT) based angiography was used to track ischemic tissue repair and microvasculature regeneration at 3 different cortical depths and up to 28 days in awake animals. Capillary network orientation analysis was performed to study the structural pattern of newly formed microvasculature. Based on time-resolved OCT-angiography, we also investigated capillary stalling, which is likely related to ischemic stroke-induced inflammation. Deeper cerebral tissue was found to have a larger

ischemic area than shallower regions at any time point during the course of post-stroke recovery, which suggests that cerebral tissue located deep in the cortex is more vulnerable. Regenerated microvasculature had a highly organized pattern at all cortical depths with a higher degree of structural reorganization in deeper regions. Additionally, capillary stalling event analysis revealed that cerebral ischemia augmented stalling events considerably. Since capillary stalling can significantly reduce the cerebral blood flow, targeting post-stroke capillary stalling could be useful in developing new therapeutic strategies for the treatment of stroke.

Keywords: OCT-angiography, photo-thrombosis, microvasculature, capillary stalling

5.2 Introduction

Stroke survivors are often left with serious, long-term disabilities, such as reduced mobility, declined cognition and impaired sensation, due to permanent neurological damage to the brain. Evidence from animal models and human subjects both show that the brain has a certain degree of spontaneous plasticity after stroke (Cicinelli et al., 2003; Harrison, Silasi, Boyd, & Murphy, 2013) and a maximal functional recovery can be achieved in a time-limited plastic window by harnessing neuroplasticity (Hara, 2015; Timothy H. Murphy & Corbett, 2009). The post-stroke neural network restoration was revealed to be tightly linked with angiogenesis (Angels Font, Arboix, & Krupinski, 2010). Newly formed vessels release signaling molecules to trigger the migration of newly born neurons into the ischemic region (Carmichael, 2006; Ohab, Fleming, Blesch, & Carmichael, 2006; Thored et al., 2007), suggesting a pivotal role of revascularization in stroke recovery.

A previous study using 2-photon microscopy underlined that the orientation of the capillary network surrounding the lesion became highly organized after the ischemic event (Schrandt, Kazmi, Jones, & Dunn, 2015). However, this vascular rearrangement could not be thoroughly examined, since the fluorescent dye leaking through the damaged blood-brain barrier (BBB) considerably compromised the 2-photon image quality. Optical coherence tomography (OCT), which provides a large field of view and an extended

imaging depth without the need for exogenous contrast agent, was also utilized to monitor the cerebral hemodynamic response and tissue property changes for the acute and chronic phases of stroke(Choi, Li, & Wang, 2019; Srinivasan et al., 2013). However, they did not look into whether these responses to cerebral ischemia were depth-specific despite studies showing that the oxygen environment is not homogeneous throughout the cortical depths(Devor et al., 2011; Sakadžić et al., 2010). OCT-based angiography was also recently extended to detecting capillary stalling events(Erdener et al., 2019), which are largely caused by leucocyte adhesion in capillary segments(Cruz Hernández et al., 2019). Thus, OCT-angiography can be used as an indirect method to investigate post-stroke inflammation in the newly formed microvessels.

A number of rodent stroke models have been developed to simulate human ischemic stroke in order to uncover the underlying physiological and molecular mechanisms and to test new therapeutic agents and rehabilitation strategies(Fluri et al., 2015; Hakon et al., 2018; T. H. Murphy, Li, Betts, & Liu, 2008; Shimamura et al., 2018; Zeng et al., 2014). In this study, we used a focal stroke model based on photo-thrombosis. We induced a targeted ischemic lesion in the mouse cortex. Post-stroke follow-up was performed over 28 days using longitudinal OCT imaging. Since OCT does not require imaging contrast agent, the damaged BBB will not affect the image quality. The ischemic lesion size was characterized from OCT-angiograms, and tissue damage at different cortical depths was compared. A capillary orientation analysis was developed to quantify post-stroke microvasculature reorganization. The progress of capillary network reorganization was tracked from the baseline till 28 days after the photo-thrombosis, and the correlation between microvasculature reorganization and depth was investigated. Capillary stalling events, assumed to be related to neutrophil adhesion(Cruz Hernández et al., 2019), were analysed for the baseline and the recovery phase (Day 28) based on time-resolved OCT-angiograms.

5.3 Methods

5.3.1 Animal preparation

The procedures and protocols were approved by the Animal Research Ethics Committee of the Montreal Heart Institute, and all animal experiments were performed in accordance

with the Canadian Council on Animal Care recommendations. Six C57BL/6J male mice, between 3-6 months of age, were used in our study. A craniotomy was performed over the left barrel cortex (0.5mm posterior to bregma, 3.5mm lateral to the midline) to implant a chronic cranial window for OCT imaging. A region of skull with a diameter of 3 mm was removed using a micro-drill after the scalp was retracted, and the dura was kept intact. The exposed brain surface was then covered with a stacked four-layer glass cover slip (3x3mm, 1x5mm diameter) and further sealed with dental acrylic cement to prevent infection and dehydration. A fixation bar was glued to the skull using the dental acrylic. Physiological parameters, including electrocardiography, respiration, heart rate and oxygen saturation of the isoflurane-anesthetized mouse were continuously monitored by a small animal physiological monitoring system (Labeo Technologies Inc. Canada), whose heated platform module also maintained the mouse body temperature at 37 °C.

OCT measurements were taken in awake resting mice to avoid the modulation of vascular and neural physiology (Janssen et al., 2004; Masamoto & Kanno, 2012) by anesthetics. During image recording sessions, the mice were placed on a free treadmill wheel with their head fixed on a metal frame by the surgically attached bar. Since OCT-angiography is phase-sensitive and that even sub-pixel motions will seriously affect the signal to noise ratio (SNR) of OCT-angiograms, it is important that the mice stay still during imaging sessions. Thus, training of the mice for head restraint prior to OCT measurements was required to habituate them to head fixation and reduce their stress. After a week of head-restraint training on the treadmill wheel, the mice were able to reach a resting state within five minutes after being fixed onto the setup. They were able to stay calm and still for periods of minutes separated by short bouts of locomotion. After the initial baseline measurement, the mice were still trained every day between imaging sessions to maintain their habituation to head restraint throughout the study. The mice were closely monitored for locomotion during image acquisitions.

5.3.2 Spectral-domain OCT Imaging system

Imaging of cortical structure and vasculature was performed with a home-build spectral-domain OCT. A broadband light source centered at 1310 nm from a superluminescent diode (SLD) (LS2000C, Thorlabs, USA) was split between the sample

arm and the reference arm by a 90:10 fiber optic coupler (TW1300R2A2, Thorlabs, USA). A long working distance objective (M Plan Apo NIR 10X, Mitutoyo, Japan) was installed at the end of the sample arm to focus the collimated light beam into tissue sample. The spectral interferogram was registered by a spectrometer (Cobra 1300-[1235-1385 nm], Wasatch Photonics, USA) and then digitized by a frame grabber (PCIe-1433, National Instruments, USA). Dispersion mismatch between the two arms was first carefully compensated with N-SF11 compensation glass (Edmund Optics, USA), and the small residual mismatch was then finely corrected with a numerical compensation technique (Szkulmowski et al., 2016). The axial resolution, defined as the full width half maximum (FWHM), was measured to be 2 pixels on the tomogram, which is equivalent to about 8.3 μm in biological tissues, and its lateral resolution in tissue was about 2.3 μm . In the sample arm, a dichroic filter was placed to transmit the infrared light used by OCT system and deflect the visible light for wide-field imaging. The wide-field imaging helped locate the region of interest (ROI) to be scanned by OCT. A detailed schematic drawing of the imaging system is shown in Figure 5-1. The sample arm was mounted on a motorized vertical translation stage (MLJ150/M, Thorlabs, USA) in order to adjust the depth of the imaging focal point in the mouse cortex. The treadmill wheel onto which the mouse was attached was fixed on a motorized XY linear translation stage (T-LSR, Zaber Technologies, Canada) for fine adjustment of the relative lateral position of the cranial window with respect to the light beam. The 3-axis motion control was integrated into our acquisition software.

5.3.3 Localized photo-thrombosis of cerebral microvasculature

The ischemic stroke model was created by using a photochemical reaction introduced by Watson (Watson, Dietrich, Busto, Wachtel, & Ginsberg, 1985). Mice were first intraperitoneally administered Rose Bengal (15 mg/mL, 0.2 ml), a photosensitive dye. A selected cortical region free of large vessels was irradiated by a focused green laser beam, since large-vessel thrombosis could lead to a less predictable and less controlled outcome. Under green light illumination, free radicals produced by Rose Bengal damage the endothelium of the microvasculature in the targeted region, which thereby triggers discoid platelet aggregation and leads to microvascular thrombotic occlusions. As the

microvasculature plays a critical role in cerebral oxygen supply and blood flow regulation (Hall et al., 2014; Itoh & Suzuki, 2012a; Moeini et al., 2018), the surrounding brain parenchyma of the clotted capillaries suffers from ischemia and even infarction. In this way, precise induction of a localized thrombotic lesion in the mouse cortex can be achieved. The whole process of photo-thrombosis was monitored using a home-built laser speckle imaging system.

5.3.4 Optical coherence tomography angiography

A 1 mm x 1 mm ROI was chosen with the photo-thrombosis-induced ischemic lesion located in the center. Volumetric scans of the cortex contained 450 B-frames, each of which was composed of 500 A-lines. Raw spectra were first resampled in k-space and then multiplied by a Hanning window before inverse Fourier transform was applied to obtain 3D complex-valued OCT structural images. B-scans were repeated twice at each position along the slow axis for angiography imaging. Global phase fluctuations (GPF) caused by sub-pixel motion within repeated B-frames were corrected based on the assumption that dynamic tissue only accounts for a very small percentage of brain tissue and that phase and intensity of light reflected from static tissue remain constant (J. Lee et al., 2011). Since light reflected by moving red blood cells (RBC) experiences a large phase shift and/or a big intensity change, the vessel network can be extracted based on the phase and intensity difference between GPF-corrected repeated B-frames (A. Zhang, Zhang, Chen, & Wang, 2015). The resulting 3D angiograms were filtered with a 3D Gaussian smoothing kernel with a standard deviation equal to 1 pixel in all three dimensions. A fast axis scan rate of 90 Hz was used, which resulted in an acquisition time of 10 seconds per volumetric scan. The ROI was scanned repeatedly 100 times for 16.7 minutes to get a series of OCT-angiograms. As short bouts of animal locomotion were inevitable during image acquisition, motion-artifact-corrupted volumes were removed, and the first 60 volumetric angiograms free of motion artifacts were kept for further analysis.

In order to extract information of the capillary network at multiple depths in the cortex, three time-resolved OCT-angiographies were performed in the same ROI with light beam being focused at three different cortical depths, namely 250 μm , 400 μm and 550 μm beneath the cortical surface. The shift of the axial focus position in the brain tissue was

achieved by the vertical translation of the objective lens in the sample arm mounted on the vertical translation stage.

The chronic study performed 6 OCT imaging sessions over 28 days. The baseline measurement was taken one day before photo-thrombosis. The second imaging session took place 3 days after the thrombotic lesion was induced in the mouse brain, and the following 4 measurements were made 8 days, 14 days, 21 days and 28 days respectively after the ischemic stroke event.

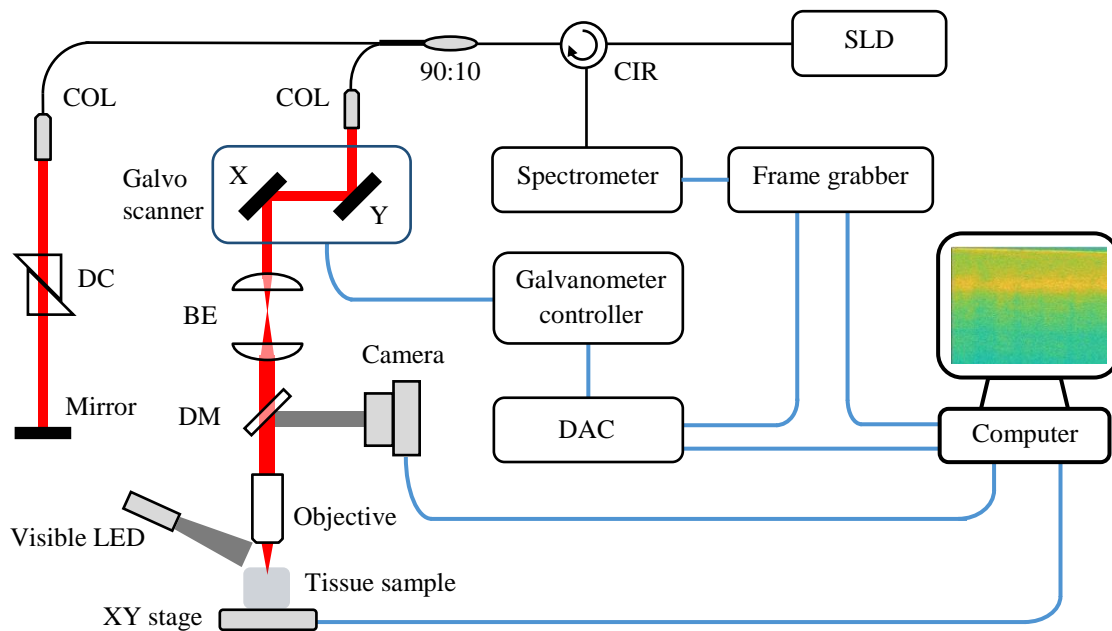


Figure 5-1: Schematic drawing of the OCT system. 1310 nm infrared light (the red beam) was emitted by a superluminescent diode and then split between the sample arm and the reference arm by a fiber optic coupler. The light beam in the sample arm was scanned across the field of view (FOV) using a 2D galvanometer system. The surface of the mouse cortex was illuminated by a second light source, a visible LED, for the purpose of wide-field imaging. The reflected visible light (the green beam) from the brain surface was deflected towards a CMOS camera by a dichroic mirror placed between the beam expander and the objective of the sample arm. The motorized vertical translation stage on which the sample arm was mounted is not shown on this drawing for the sake of the clarity of the figure. SLD: superluminescent diode, CIR: circulator, 90:10: fiber optic coupler, COL: collimator, X-Y: XY 2D galvo scanner, BE: beam expander, DM: dichroic

mirror, DC: dispersion compensator, DAC: data acquisition card, LED: light-emitting diode.

5.3.5 Capillary orientation analysis

The morphology of cerebral microvascular network and its hemodynamic function are tightly related (Park & Payne, 2016; Pries, Secomb, & Gaetgens, 1996). In our study, an image processing strategy was established to analyze the orientation of capillary segments. A preprocessing step of averaging 60 volumetric angiograms was taken to increase the SNR before images were further processed and analysed. The 3D angiogram was then flattened into an *en face* 2D plane along the z-direction around the focal plane (± 15 pixels) using the maximum intensity projection (MIP) (Figure 5-4 (a)). A tubeness filter (Sato et al., 1998) and a Frangi filter (Frangi, Niessen, Vincken, & Viergever, 1998) were sequentially applied to the MIP image to enhance the vessel structure and reduce the background signal from the parenchyma (Figure 5-4 (b)). Both filters are implemented in ImageJ (NIH, Maryland, USA). Local orientation and coherence were computed for each pixel of the filter-enhanced 2D *en face* angiogram based on its structure tensor using OrientationJ (Rezakhaniha et al., 2012), an ImageJ plug-in. The coherence value with a range between 0 and 1 indicates the degree of local isotropy. Highly oriented structures like capillaries tend to have high values on the coherence map, while isotropic regions like ischemic zones usually possess low coherence values. The output image of OrientationJ is encoded in HSV (hue, saturation, value) color space, with each of the three dimensions representing the orientation, coherence and input image brightness respectively (Figure 5-4 (d)). The local orientation of each pixel given by OrientationJ is relative to the X-axis (denoted by α in Figure 5-4 (c)), and the orientation to be quantified is with respect to the direction defined by the pixel itself and the center of the ischemic lesion (denoted by θ in Figure 5-4 (c)). In order to remove this pixel-specific angle offset (denoted by β in Figure 5-4 (c)), an orientation map was synthesized based on the relative position between each pixel and the infarct center (Figure 5-4 (e)). By subtracting the synthesized orientation map from the original one obtained with OrientationJ, a final orientation map can be restored with the hue value of each pixel being the angular orientation with respect to the vector pointing from the given pixel towards the ischemic center (Figure 5-4 (f)). A binary mask

for the capillary network can be generated by applying a threshold to the vessel-enhanced 2D angiogram. This mask was then multiplied with the final orientation map so that parenchymal tissue could be suppressed, and only capillary segments were included for the angular distribution analysis. Capillary segments with angular orientation of between ± 15 degrees ($\sim \pm 0.26$ rad) were considered to be aligned with the direction of the ischemic center.

5.3.6 Capillary stalling event analysis

The stalling event analysis was based on the time series of 60 OCT-angiograms, which were acquired sequentially in time. However, it should be noted that the 60 volumes were not necessarily evenly spaced in time. The animal's resting state was interrupted by short bouts of locomotion (lasting 3 - 10 frames), these motion-artefact-corrupted volumes were discarded, and the first 60 angiograms free of motion artifacts were used for stalling analysis. The volumetric angiograms within the depth of field, where capillaries were well resolved, were flattened into an *en face* 2D angiogram using MIP for the stalling event quantification. Stalled capillary segments were identified visually and stalling events were counted. When a capillary segment stalls, its intensity on the OCT-angiogram drops dramatically to the level of the background. The stalling event was thus defined as the complete disappearance of a whole capillary segment on the angiograms (Figure 5-6 (c-e)). Since the time interval between two consecutive volumes (in the 60-volume dataset) is large (≥ 10 s), which is determined by our imaging protocol, the detection of a stalled capillary segment on one frame only means that the RBC flow in that segment is interrupted at the very moment when the capillary is being scanned, and can hardly lead to the conclusion that the capillary segment is stalled for the whole 10 seconds during which the whole volume is being scanned. Thus, we use the term "stalling event counts". The stalling event density and stall incidence were investigated at three cortical depths for each mouse. The first parameter, stalling event density was calculated by the total number of identified stalling events on the 60 angiograms divided by the area of the vascularized region. Since very few capillaries were seen inside the ischemic lesion, this region was excluded for the calculation of the stalling event density. The stall incidence was defined as the ratio of the number of stalled capillary segments to the total number of capillary segments in the ROI.

5.4 Results

5.4.1 Deeper cerebral tissue is more affected by photo-thrombosis

To investigate the impact of photo-thrombosis on brain tissue, lesion area was quantified at different cortical depths using OCT imaging. The ischemic region showed a significant lower intensity than the surrounding normal tissue on the structural OCT image (Figure 5-3 (a)), suggesting that the tissue damage from cerebral ischemia led to a higher attenuation coefficient. The angiogram further enhanced the contrast between the ischemic lesion and its surrounding tissue (Figure 5-3 (b)). The cross-sectional images (Figure 5-3 (a-b)) showed that the ischemic region started from the depth of around 200 μm under the cortical surface and stretched down to the white matter. The lesion contour (indicated by an orange dashed line in Figure 5-3 (a-b)) had a semi-elliptical form. The transverse area of the lesion can be estimated from the MIPs of the angiograms as shown in Figure 5-2. The lesion size was quantified at three different depths, 250 μm , 400 μm and 550 μm beneath the brain surface. Since the lesion area was still large on Day 4 and the ROI didn't cover the entire lesion in some cases (as shown in Figure 5-2 (b)), the evaluation of lesion size was performed starting from Day 8 (when the ischemic area could be accurately measured). Case-by-case plots of lesion area evolution over time at the three aforementioned depths for 5 mice are shown in Figure 5-3 (e-g). The area of ischemic lesions diminished considerably over the course of 28 days compared with their initial size at all three depths for all mice. The lesion area was also compared between the depth of 400 μm and 250 μm (Figure 5-3 (c)), and between the depth of 550 μm and 400 μm (Figure 5-3 (d)). It can be seen in Figure 5-3 (c) that all the points are above the line defined by $y=x$, indicating that the lesion area at the depth of 400 μm was larger than that at the depth of 250 μm . The same observation can be made in Figure 5-3 (d) as well, meaning that ischemic lesions had a bigger area at the depth of 550 μm than at the depth of 400 μm . These two scatter plots show that the ischemic lesion area increased with depth.

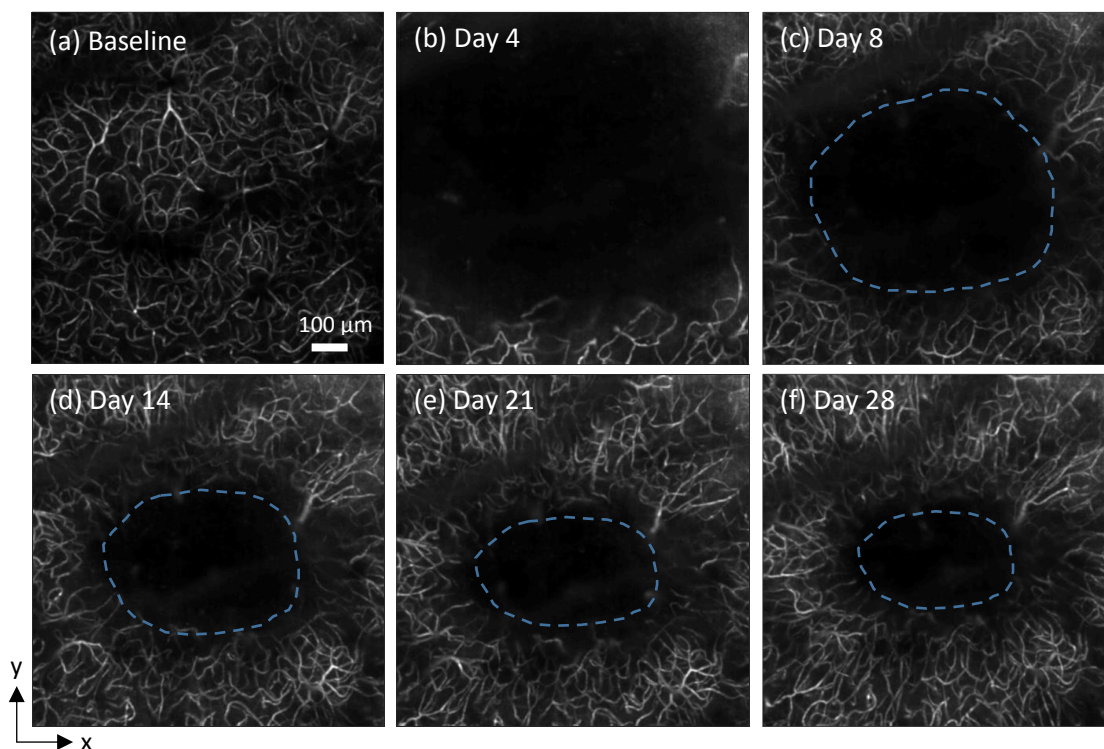


Figure 5-2 : Post-photo-thrombosis microvasculature regeneration and cerebral tissue recovery. (a-f) A series of en face MIP of 3D angiograms (400 μm beneath the cortical surface) acquired in an example mouse over the course of 28 days following the photo-thrombosis. Baseline data were acquired before the photo-thrombosis. Five follow-up OCT imaging sessions took place 4 days, 8 days, 14 days, 21 days and 28 days after the photo-thrombosis. The ischemic lesion is delimited by a blue dashed line. All images share the scale bar.

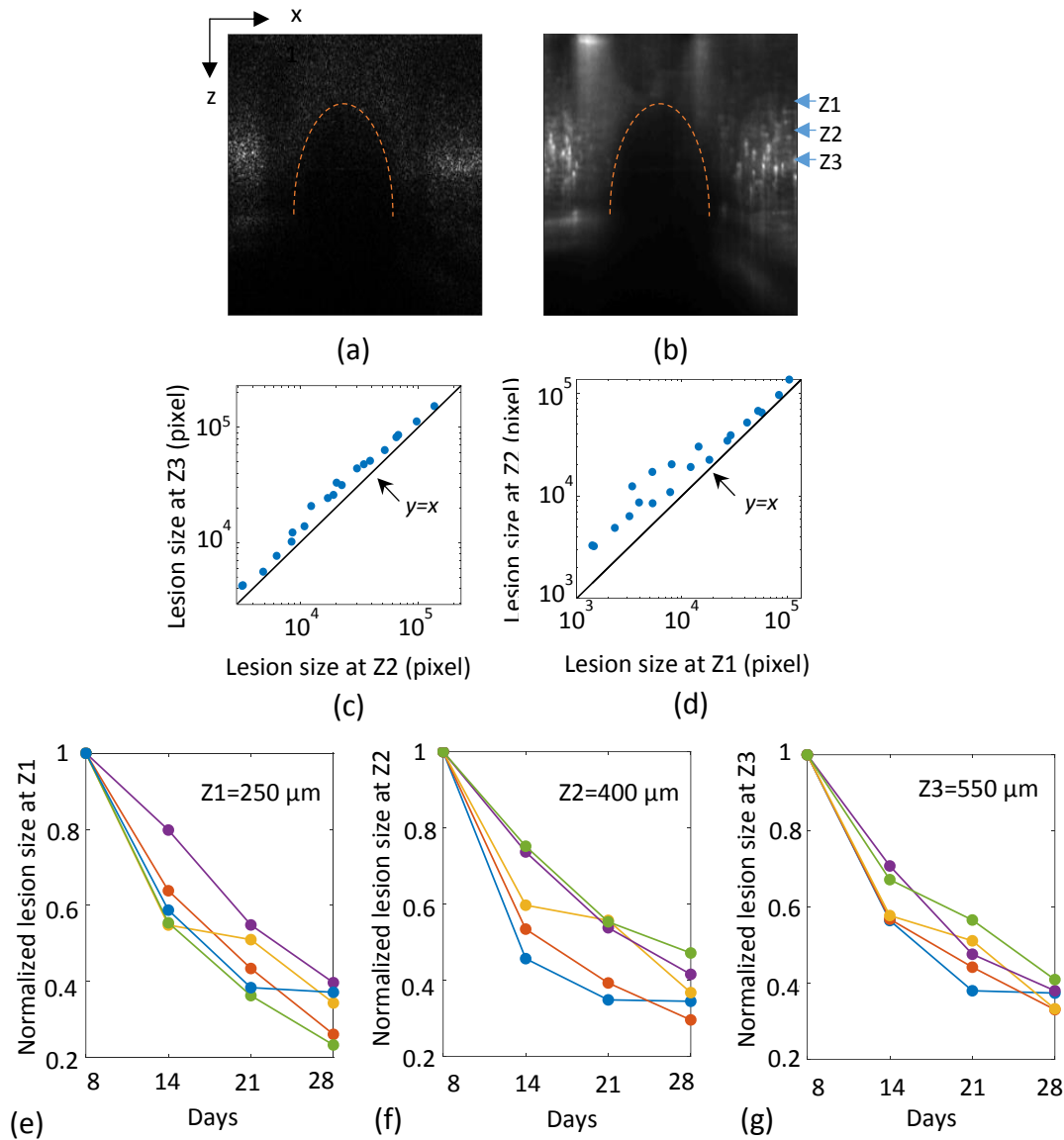


Figure 5-3 : (a) Cross-sectional structural image running through the middle of the ischemic lesion. The ischemic region delimited by the orange dashed arc shows much lower intensity compared with the surrounding normal tissue. (b) Cross-sectional angiographic image at the same lateral position as (a). No capillaries are observed inside the ischemic lesion (marked by the orange dashed arc), where the intensity is also significantly lower than the surrounding tissue. Z1 (=250 μm), Z2 (=400 μm) and Z3 (550 μm) are the axial positions where the lesion area was measured. (c) Scatter chart showing the area of ischemic lesions at Z2 and Z3. (d) Scatter plot displaying the area of ischemic lesions at Z1 and Z2. The values are

expressed in pixels. All the dots are located above the line $y=x$ in both (c) and (d). (e-g) Case-by-case plot of normalized lesion size at the depth of 250 μm , 400 μm and 550 μm over 28 days following the photo-thrombosis. The lesion size at each depth for each animal is normalized by its value of Day 8.

5.4.2 Photo-thrombosis-induced ischemic lesion causes microvasculature reorganization

The cerebral microvascular network is organized in a way that optimizes oxygen delivery to brain tissue (Hadjistassou, Bejan, & Ventikos, 2015). The ischemic lesion in a great need of oxygen supply had a visible impact on the surrounding capillary network organization, as can be seen from the series of 2D angiograms over time (Figure 5-2): regenerated capillaries tended to grow towards the ischemic region. This change in microvasculature organization can be quantified using the capillary orientation analysis strategy detailed in the Methods. An example of the quantification of microvasculature organization is presented in Figure 5-5 (a-d). The post-processed angiograms had an extra dimension, the color, which indicated the local angular orientation of the capillary segments. No predominant orientation/color was observed in this baseline angiogram (Figure 5-5 (a)), while in the angiogram of Day 28, the color of the microvasculature mostly lay in the spectrum between green and blue (Figure 5-5 (b)). The corresponding angular orientation distributions of the two example angiograms were then computed. The orientation of the capillary segments on the baseline angiogram was uniformly distributed over the interval $[-\pi/2, \pi/2]$ (Figure 5-5 (c)). Conversely, the distribution based on the angiogram of Day 28 was instead concentrated around 0 rad (Figure 5-5 (d)): the percentage of the capillary segments perpendicular to the direction of the ischemic center dropped by more than half, and the percentage of the capillary segments pointing towards the lesion center increased to twice its original value. The progression of microvasculature reorganization, which was quantified by the percentage of the capillary segments aligned with the direction of ischemic center (between $\pm 15^\circ$), was tracked at three different depths (250 μm , 400 μm and 550 μm beneath the cortical surface) in the cortex of 5 mice. The case-by-case plots show that the microvasculature reorganization progressed steadily over time at all three cortical depths (Figure 5-5 (e)). Furthermore, the degree of capillary reorganization was

associated with the cortical depth. As data from Day 28 shows, the group-averaged capillary orientation distribution in the deepest layer had the highest peak and the distribution at the shallowest layer had the lowest peak (Figure 5-5 (f)).

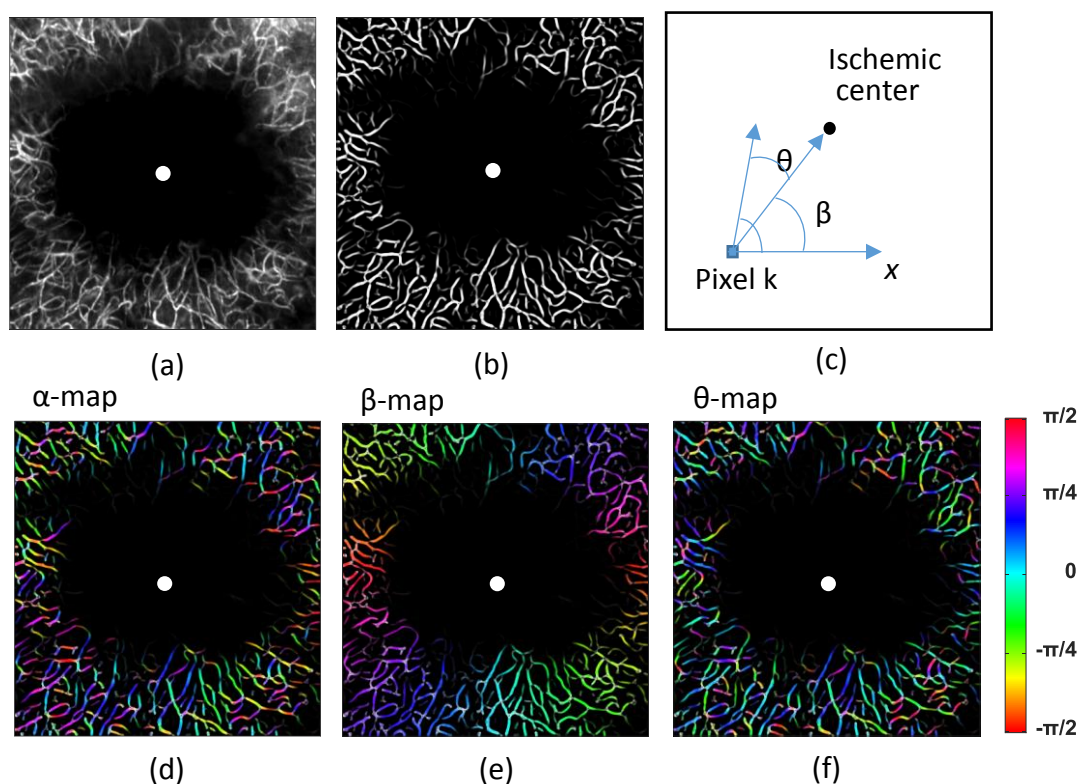
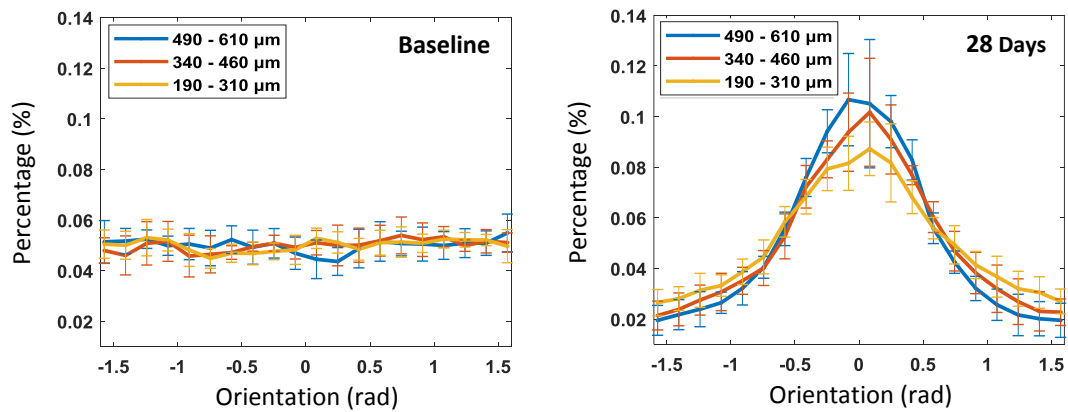
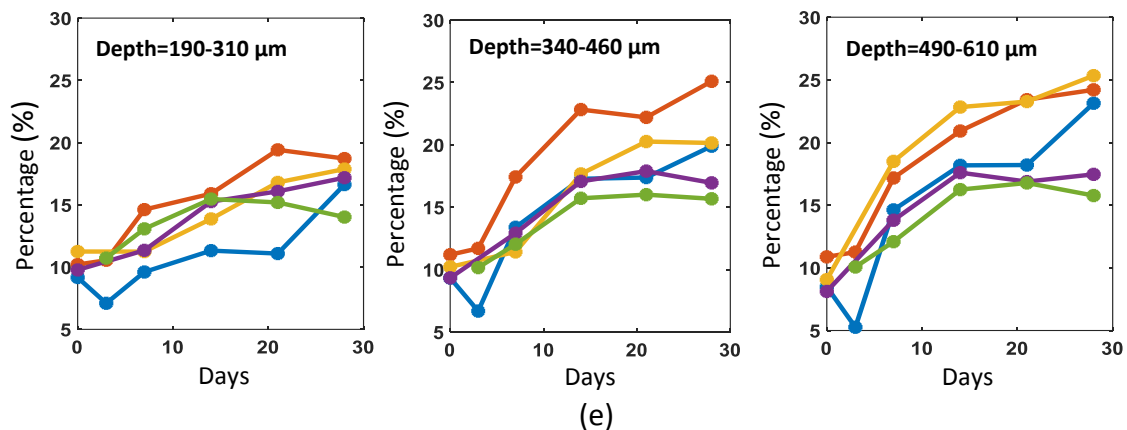
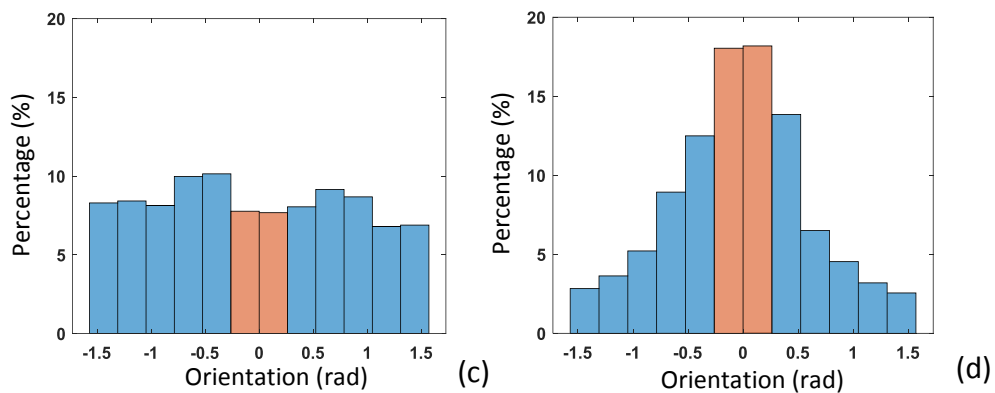
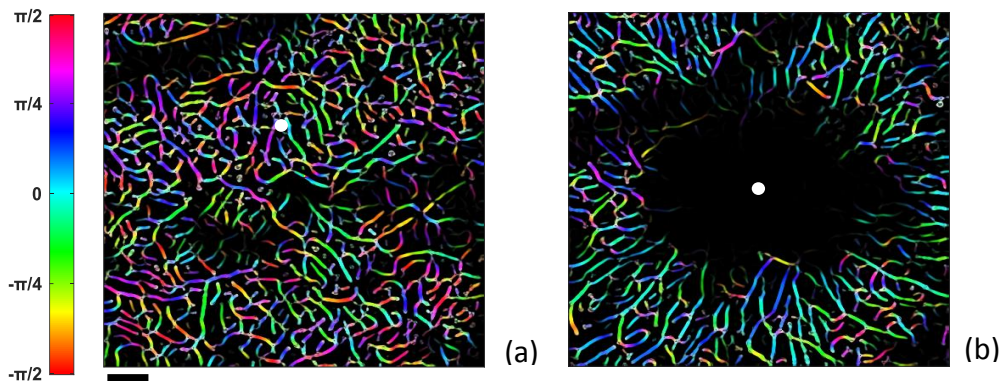


Figure 5-4 : Computation of capillary angular orientation map. (a) MIP of an angiogram (490 – 610 μm under the cortical surface) acquired from an example mouse 21 days after the photo-thrombosis. (b) Tubeness-filter and Frangi-filter enhanced angiogram. (c) The local orientation (α) of each pixel with respect to x -axis can be assessed using OrientationJ, a plugin running on ImageJ. The direction (β) of the vector pointing from a given pixel towards the ischemic center can be obtained as well. The local orientation (θ) of each pixel relative to the direction of the ischemic center can thus be estimated by the difference between α and β . (d) is the α -orientation map, (e) is the β -orientation map and (f) is the θ -orientation map, where the angle value (α , β or θ) is encoded in color. The θ -orientation map will be further utilized to analyse the local orientation distribution of capillary segments. The white dot in (a), (b), (d), (e) and (f) indicates the estimated ischemic center. (d), (e) and (f) share the same colorbar.



(f)

Figure 5-5 : Visualisation and quantification of capillary orientation. (a-b) Tubeness-filter and Frangi-filter enhanced MIP of capillary vasculature (at the depth of between 490 – 610 μm) acquired from an example mouse before and 28 days after the photo-thrombosis. The flattened angiograms are hue-saturation-brightness (HSB) color-coded with hue representing the capillary local orientation with respect to the direction pointing towards the white dot which coincides with the ischemic center. The images (a) and (b) are slightly shifted. The scale bar = 0.1 mm. (a) and (b) share the same scale bar and colorbar. (c) Distribution of capillary orientation from (a). The capillary orientation is uniformly distributed between $-\pi/2$ and $\pi/2$. (d) The distribution of capillary orientation derived from (b) displays a strong peak around 0 rad. The orange bins in the histograms (c-d) represent capillary segments whose orientation with respect to the ischemic center is within $[-\pi/12, \pi/12]$, and these capillary segments are considered to be aligned with the direction of the ischemic center. (e) Case-by-case plots of the evolution of the percentage of the capillary segments which were aligned with the direction of the ischemic center at 3 different depth ranges for the 5 mice during the course of 28 days. (f) Distribution of capillary angular orientation before and 28 days after the photo-thrombosis at the three aforementioned depths ranges. The data in (f) are presented as mean \pm standard deviation (STD).

5.4.3 Increased capillary stalling events in reorganized capillaries

Capillary stalling occurs when RBC flux is obstructed in capillary segments, which has been reported to be potentially caused by neutrophil adhesion (Cruz Hernández et al., 2019). We analysed capillary stalling events before and after photo-thrombosis in *de novo* vasculature. Baseline data from one mouse was corrupted and not used in this analysis. Since OCT-angiography is based on signals scattered by moving particles, stalled RBCs make capillaries disappear on OCT-angiograms. Capillary stalling events were thus detected by identifying the transition between the appearance and disappearance of capillary segments based on the time series of OCT-angiograms (Figure 5-6 (c-d)). Figure 5-6 (a) shows an example angiogram on which some of the stalled capillaries are indicated. The stalling event timeline of these capillaries throughout 60 frames was drawn (Figure

5-6 (b)). Stalling events and stalled capillary segments were counted on the time series of OCT-angiograms (MIP) acquired at the three aforementioned cortical depths for the baseline and for Day 28. Stalling event density, a measurement of stalling event number per unit area, approximately doubled at all three depths after the photo-thrombosis (Figure 5-7 (a)). Stall incidence also increased considerably at all the three depths on Day 28 compared with the baseline (Figure 5-7 (b)), indicating that new capillaries following ischemic injury were more likely to be stalled. Neither of these two parameters had a clear trend with the cortical depth neither before nor 28 days after the photo-thrombosis. The distribution of stalled capillary segments in terms of stalling event number was calculated for both the baseline and Day 28 (Figure 5-7 (c)). Before the photo-thrombosis, almost half of the stalled capillaries had ceased RBC flow only once. However, this proportion dropped to nearly a quarter on Day 28. Namely, repeated stalling events in the same capillary segments happened more often after the photo-thrombosis than the baseline.

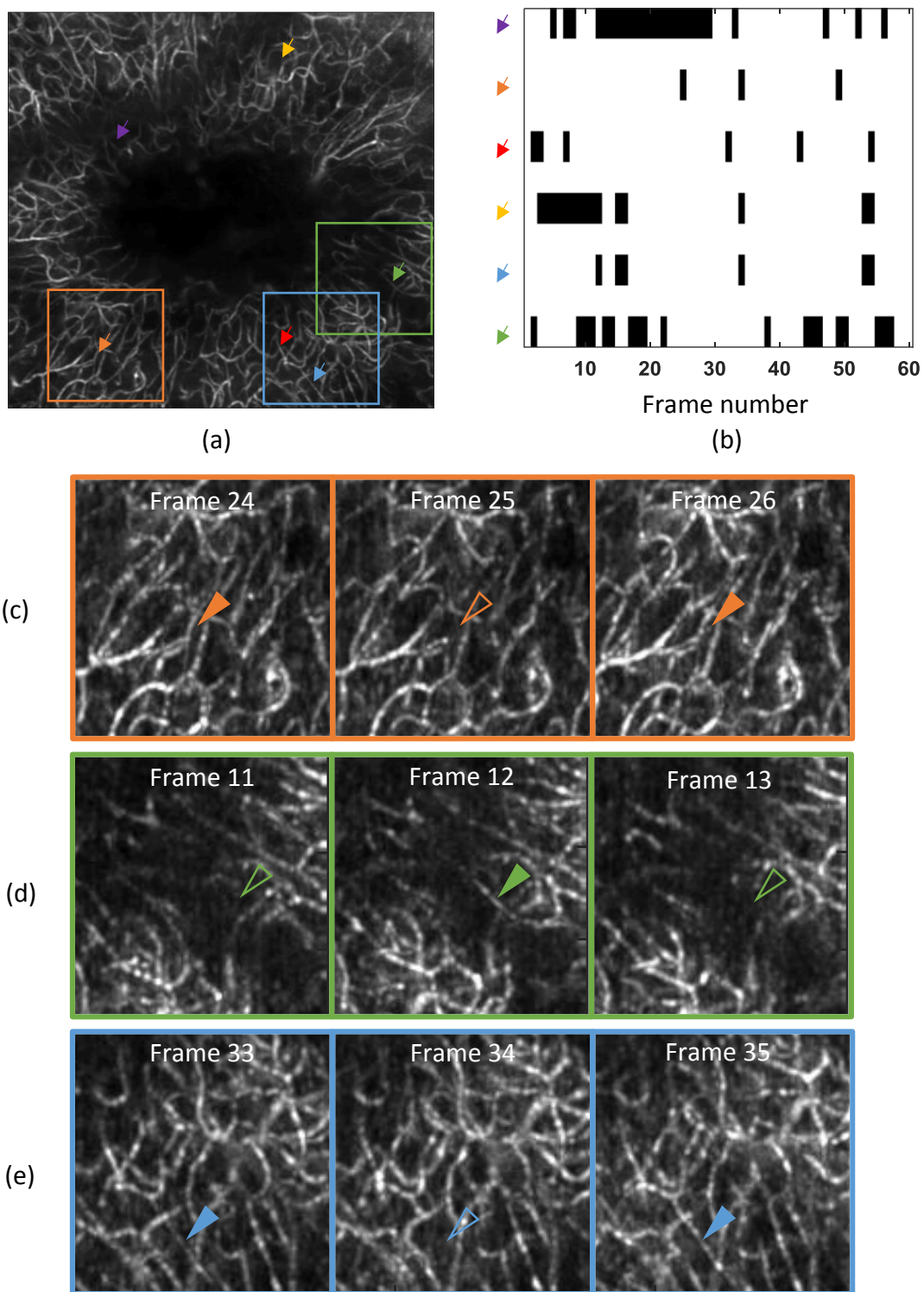


Figure 5-6 : Identification of stalled capillary segments from OCT-angiogram time series. (a) En face MIP of a 3D angiogram acquired in an example mouse 28 days after the photo-thrombosis. Six of the capillaries experiencing stalling events are

indicated by arrows of different colors. (b) Stalling event timeline throughout 60 frames for the six capillary segments, where stalling events are labeled as black spots. Each arrow represents one capillary segment, and their color matches with that of the arrows used in (a). (c-e) Zoomed-in ROI taken from (a). The capillaries undergoing stalling events are marked by arrowhead. Solid ones are used to indicate the moments when the capillary segments could be seen, and hollow ones are used to indicate the moments when the capillaries disappeared, namely that they were stalled.

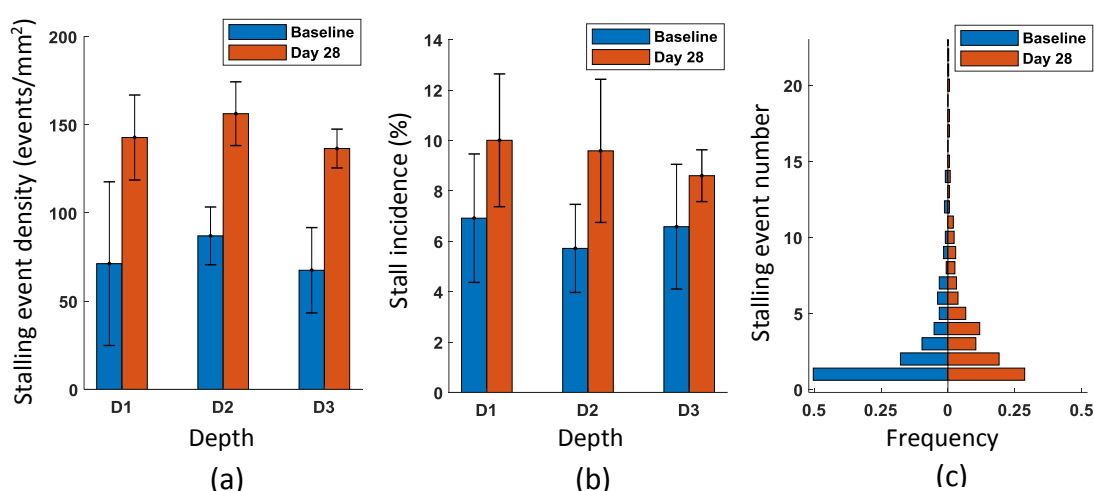


Figure 5-7 : Comparison of capillary stalling events between the baseline and the measurement taken 28 days after photo- thrombosis. (a) Stalling event density and (b) stall incidence measured from baseline and Day-28 OCT-angiogram time series at three different depths beneath the cortical surface. D1, D2 and D3 represent respectively the depth ranges 230-270 μm , 380-420 μm and 530-570 μm . The data are presented as mean \pm STD. (c) Distribution of stalled capillary segments in terms of the stalling event number for the baseline measurement and Day-28 measurement

5.5 Discussion

In this work, we used longitudinal OCT imaging to study tissue recovery and microvasculature regeneration after cerebral ischemia in awake, resting mice. Cerebral tissues in deeper cortical layers were found to have larger ischemic lesions. Newly generated capillaries in the ischemic penumbra were highly directional, which could ensure

an adequate blood supply to the ischemic lesion. Moreover, capillary orientation analysis revealed that microvasculature at deeper cortical depth displayed a more highly organized structure. We also unveil that induction of ischemic lesion in the mouse cortex substantially increased the frequency of capillary stalling events and the incidence of stalled capillaries.

During the photo-thrombosis procedure, the green laser was focused at the surface of mouse cortex. According to the Beer-Lambert law, light intensity decreases exponentially along the depth direction. Thus, the cortical layer close to the surface was exposed to the largest amount of photons, and capillaries near the surface should be more severely damaged than that in deeper layers. However, cross-sectional OCT structural and angiographic images showed that ischemic lesions only started from the depth of around 200 μm , potentially due to the lack of significant capillaries prior to this depth. Furthermore, the lesion size has a positive correlation with the depth. The result suggests that cerebral tissue at different cortical depths does not have the same resistance to ischemia induced by photo-thrombosis: deep tissue is more prone to getting damaged from ischemic stroke than superficial tissue. This finding could be due to the fact that superficial tissue in the cortex is not as densely vascularized as deep tissue (Gould, Tsai, Kleinfeld, & Linninger, n.d.), and the oxygen supply of superficial tissue largely relies on arterioles instead of capillary bed (Sakadžić et al., 2014). As a result, the photo-thrombosis, which mainly damaged capillaries in our case, affected parenchymal tissue more seriously in deeper cortical layers. However, the effect of the divergence of the laser beam used in the photo-thrombosis is yet to be determined.

Revascularization after ischemic stroke plays an essential role in cerebral tissue repair (Fan et al., 2010). The neovasculature in the ischemic penumbra is thus expected to be organized in a way to maximize the tissue repair. A previous longitudinal 2-photon study on a mouse stroke model discovered that the newly formed capillary segments tended to grow towards the ischemic zone and the regenerated microvasculature became more aligned with the direction of ischemic center over the course of stroke recovery (Schrandt et al., 2015). However, the biggest disadvantage of 2-photon microscopy for investigating the post-stroke microvasculature is that the fluorescent dye leaks through the damaged BBB and corrupts the angiogram. Since OCT-angiography does not need any exogenous contrast agent, imaging sessions can start from a very early phase of vascular recovery and the

whole microvasculature can be imaged for further analysis. In this work, we also established a new strategy for capillary orientation analysis. The local angular orientation of capillary segments can be directly visualized on the color-encoded angiogram, and the distribution of capillary angular orientation can be accurately analysed by including all capillary segments. We explored the microvasculature rearrangement at three different cortical depths from 250 μm to 550 μm . Over the course of 28 days after the photo-thrombosis, we observed a similar trend of capillary network reorganization to that reported in the aforementioned 2-photon study. Regenerated capillaries stretched towards the ischemic region while the area of ischemic lesion diminished gradually. Multiple studies demonstrated that post-stroke neovascularization was responsible for triggering the migration of neuroblasts and blood vessels were served as physical scaffolds for neural migration(Kojima et al., 2010; Ohab et al., 2006; Thored et al., 2007). This highly organized structural pattern of microvasculature in the ischemic penumbra can both ensure a more efficient oxygen supply to the ischemic region and provide a more directional migration route for neuroblasts. The molecular mechanism driving the microvasculature reorganization has yet to be elucidated. We found that although capillary network at all depths had a similar trend of reorganization, the deeper microvasculature was better aligned with the direction of the ischemic center than the superficial one. This finding is coherent with our earlier observation of ischemic lesion area: a deeper location corresponded with a larger ischemic region. This might be explained by the fact that oxygen supply in deep cerebral tissue completely relies on capillary bed, while for brain tissue close to the surface, the decline of oxygen supply from capillaries can be partially compensated by diving arterioles(Sakadžić et al., 2014).

Capillary stalling, seen as a sudden red blood cell obstruction in perfused capillaries, was shown to contribute to the reduction of local cerebral blood flow in an Alzheimer's disease mouse model(Cruz Hernández et al., 2019). The plugging of individual capillary segments was reported to be largely due to the adhesion of neutrophils in capillary segments(Cruz Hernández et al., 2019). Ischemic stroke triggers rapid neutrophil response, and an increased number of neutrophils can be found in the brain after cerebra ischemia(Jickling et al., 2015; Perez-de-Puig et al., 2015). In our study, we compared capillary stalling events between the baseline and Day 28 after photo-thrombosis. Our data showed that a much

higher number of stalling events per unit area were identified in the cortex 28 days after stroke than the baseline. Besides, the stalled capillary incidence in the post-stroke recovery phase also increased considerably compared with the baseline. The increased stalling events and stalled capillary segments in the surrounding area of ischemic region may reduce the local cerebral blood flow as in the case of Alzheimer's disease. However, though the chance is high, we cannot conclude that the increased capillary segment obstruction we observed in our study was caused by a higher level of neutrophils following ischemic stroke. Additional measurements will be needed to support this assumption. Future work can be focused on the nature of the post-stroke capillary stalling. Finding new ways to reduce capillary stalling after ischemic stroke could be useful in establishing new therapeutic strategies for stroke treatment.

5.6 Conclusion

In this study, we used longitudinal OCT imaging to investigate the post-stroke cerebral parenchymal tissue repair and microvasculature regeneration and function. OCT-angiography provides a good contrast to separate ischemic lesion from unaffected cerebral tissue. Tissues located deeper in the cortex are more vulnerable to cerebral ischemia than superficial ones. Cerebral tissue repair is accompanied by microvascular regeneration in the ischemic penumbra. Additionally, the newly generated capillary network has a highly directional pattern, which might optimize the blood perfusion in the ischemic zone and guide newly born neurons towards the lesion. The degree of microvasculature reorganization is also depth-dependant, as is the ischemic lesion size: deeper capillaries are more highly oriented than superficial ones. Ischemic stroke increases stalling event density and stalled capillary incidence, which is possibly caused by leukocyte binding to the capillary wall.

5.7 Acknowledgements

This study was funded by a Canadian Institutes of Health Research (CIHR, 299166) operating grant and a Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC, 239876-2011) discovery grant to F. Lesage

5.8 Disclosures

The authors declare no competing financial interests. F. Lesage has a minority stake in Labeo Technologies Inc.

5.9 Reference

- Abran, M., Cloutier, G., Cardinal, M.-H. R., Chayer, B., Tardif, J.-C., & Lesage, F. (2014). Development of a Photoacoustic, Ultrasound and Fluorescence Imaging Catheter for the Study of Atherosclerotic Plaque. *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, 8(5), 696–703. <https://doi.org/10.1109/TBCAS.2014.2360560>
- An, L., Qin, J., & Wang, R. K. (2010). Ultrahigh sensitive optical microangiography for in vivo imaging of microcirculations within human skin tissue beds. *Optics Express*, 18(8), 8220–8228. <https://doi.org/10.1364/OE.18.008220>
- Angels Font, M., Arboix, A., & Krupinski, J. (2010). Angiogenesis, Neurogenesis and Neuroplasticity in Ischemic Stroke. *Current Cardiology Reviews*, 6(3), 238–244. <https://doi.org/10.2174/157340310791658802>
- Angleys, H., Østergaard, L., & Jespersen, S. N. (2015). The Effects of Capillary Transit Time Heterogeneity (*CTH*) on Brain Oxygenation. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35(5), 806–817. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.254>
- Arenillas, J. F. (2011). Intracranial Atherosclerosis: Current Concepts. *Stroke*, 42(1, Supplement 1), S20–S23. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.597278>
- Attwell, D., Buchan, A. M., Charpak, S., Lauritzen, M., MacVicar, B. A., & Newman, E. A. (2010). Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*, 468(7321), 232–243. <https://doi.org/10.1038/nature09613>
- Ayata, C., Shin, H. K., Dileköz, E., Atochin, D. N., Kashiwagi, S., Eikermann-Haerter, K., & Huang, P. L. (2013). Hyperlipidemia disrupts cerebrovascular reflexes and worsens ischemic perfusion defect. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 33(6), 954–962. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.38>
- Banerjee, C., & Chimowitz, M. I. (2017). Stroke Caused by Atherosclerosis of the Major Intracranial Arteries. *Circulation Research*, 120(3), 502–513. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308441>
- Baran, U., & Wang, R. K. (2016). Review of optical coherence tomography based angiography in neuroscience. *Neurophotonics*, 3(1), 010902. <https://doi.org/10.1117/1.NPh.3.1.010902>
- Bass, J. L., Corwin, M., Gozal, D., Moore, C., Nishida, H., Parker, S., ... Kinane, T. B. (2004). The Effect of Chronic or Intermittent Hypoxia on Cognition in Childhood: A Review of the Evidence. *PEDIATRICS*, 114(3), 805–816. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-0227>
- Baumann, B. (2019). Optical Coherence Tomography for Brain Imaging (pp. 49–68).

Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9020-2_2

- Baumann, B., Pircher, M., Götzinger, E., & Hitzenberger, C. K. (2007). Full range complex spectral domain optical coherence tomography without additional phase shifters. *Optics Express*, *15*(20), 13375. <https://doi.org/10.1364/OE.15.013375>
- Benfante, R., Yano, K., Hwang, L. J., Curb, J. D., Kagan, A., & Ross, W. (1994). Elevated serum cholesterol is a risk factor for both coronary heart disease and thromboembolic stroke in Hawaiian Japanese men. Implications of shared risk. *Stroke*, *25*(4), 814–820. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8160226>
- Bezerra, H. G., Costa, M. A., Guagliumi, G., Rollins, A. M., & Simon, D. I. (2009). Intracoronary Optical Coherence Tomography: A Comprehensive Review. *JACC: Cardiovascular Interventions*, *2*(11), 1035–1046. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2009.06.019>
- Blair, G. W., Hernandez, M. V., Thrippleton, M. J., Doubal, F. N., & Wardlaw, J. M. (2017). Advanced Neuroimaging of Cerebral Small Vessel Disease. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, *19*(7), 56. <https://doi.org/10.1007/s11936-017-0555-1>
- Boesen, M. E., Singh, D., Menon, B. K., & Frayne, R. (2015). A systematic literature review of the effect of carotid atherosclerosis on local vessel stiffness and elasticity. *Atherosclerosis*, *243*(1), 211–222. <https://doi.org/10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2015.09.008>
- Bolduc, V., Drouin, A., Gillis, M.-A., Duquette, N., Thorin-Trescases, N., Frayne-Robillard, I., ... Thorin, E. (2011). Heart rate-associated mechanical stress impairs carotid but not cerebral artery compliance in dyslipidemic atherosclerotic mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *301*(5), H2081–H2092. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00706.2011>
- Bouma, B. E., Yun, S.-H., Vakoc, B. J., Suter, M. J., & Tearney, G. J. (2009). Fourier-domain optical coherence tomography: recent advances toward clinical utility. *Current Opinion in Biotechnology*, *20*(1), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2009.02.007>
- Bousi, E., Zouvani, I., & Pitris, C. (2017). Lateral resolution improvement of oversampled OCT images using Capon estimation of weighted subvolume contribution. *Biomedical Optics Express*, *8*(3), 1319. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.001319>
- Bragin, D. E., Statom, G. L., Hagberg, S., & Nemoto, E. M. (2015). Increases in microvascular perfusion and tissue oxygenation via pulsed electromagnetic fields in the healthy rat brain. *Journal of Neurosurgery*, *122*(5), 1239–1247. <https://doi.org/10.3171/2014.8.JNS132083>
- Burrill, J., Dabbagh, Z., Gollub, F., & Hamady, M. (2007). Multidetector computed tomographic angiography of the cardiovascular system. *Postgraduate Medical Journal*, *83*(985), 698–704. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2007.061804>
- Calfon, M. A., Vinegoni, C., Ntziachristos, V., & Jaffer, F. A. (2010). Intravascular near-infrared fluorescence molecular imaging of atherosclerosis: toward coronary arterial visualization of biologically high-risk plaques. *Journal of Biomedical Optics*, *15*(1),

11107. Retrieved from http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=20210433&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3188610/pdf/JBOPFO-000015-011107_1.pdf
- Carmichael, S. T. (2006). Cellular and molecular mechanisms of neural repair after stroke: Making waves. *Annals of Neurology*, *59*(5), 735–742. <https://doi.org/10.1002/ana.20845>
- Chen, Z., & Zhang, J. (2008). Doppler Optical Coherence Tomography (pp. 621–651). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-77550-8_21
- Chen, Z., Milner, T. E., Srinivas, S., Wang, X., Malekafzali, A., van Gemert, M. J., & Nelson, J. S. (1997). Noninvasive imaging of in vivo blood flow velocity using optical Doppler tomography. *Optics Letters*, *22*(14), 1119–1121. <https://doi.org/10.1364/ol.22.001119>
- Chen, Zhongping, Milner, T. E., Dave, D., & Nelson, J. S. (1997). Optical Doppler tomographic imaging of fluid flow velocity in highly scattering media. *Optics Letters*, *22*(1), 64. <https://doi.org/10.1364/OL.22.000064>
- Chiribiri, A., Botnar, R. M., & Nagel, E. (2013). Magnetic resonance coronary angiography: where are we today? *Current Cardiology Reports*, *15*(2), 328. <https://doi.org/10.1007/s11886-012-0328-0>
- Choi, W. J., Li, Y., & Wang, R. K. (2019). Monitoring Acute Stroke Progression: Multi-Parametric OCT Imaging of Cortical Perfusion, Flow, and Tissue Scattering in a Mouse Model of Permanent Focal Ischemia. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, *38*(6), 1427–1437. <https://doi.org/10.1109/TMI.2019.2895779>
- Cicinelli, P., Pasqualetti, P., Zaccagnini, M., Traversa, R., Oliveri, M., & Rossini, P. M. (2003). Interhemispheric Asymmetries of Motor Cortex Excitability in the Postacute Stroke Stage. *Stroke*, *34*(11), 2653–2658. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000092122.96722.72>
- Claesson-Welsh, L. (2015). Vascular permeability--the essentials. *Upsala Journal of Medical Sciences*, *120*(3), 135–143. <https://doi.org/10.3109/03009734.2015.1064501>
- Cobb, M. J., Liu, X., & Li, X. (2005). Continuous focus tracking for real-time optical coherence tomography. *Optics Letters*, *30*(13), 1680. <https://doi.org/10.1364/OL.30.001680>
- Cruz Hernández, J. C., Bracko, O., Kersbergen, C. J., Muse, V., Haft-Javaherian, M., Berg, M., ... Schaffer, C. B. (2019). Neutrophil adhesion in brain capillaries reduces cortical blood flow and impairs memory function in Alzheimer's disease mouse models. *Nature Neuroscience*, *22*(3), 413–420. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0329-4>
- Cubeddu, R., Pifferi, A., Taroni, P., Torricelli, A., & Valentini, G. (1997). A solid tissue phantom for photon migration studies. *Physics in Medicine and Biology*, *42*(10), 1971–1979. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/42/10/011>
- Curatolo, A., Munro, P. R. T., Lorensen, D., Sreekumar, P., Singe, C. C., Kennedy, B. F., & Sampson, D. D. (2016). Quantifying the influence of Bessel beams on image quality

- in optical coherence tomography. *Scientific Reports*, 6(1), 23483. <https://doi.org/10.1038/srep23483>
- Danad, I., Fayad, Z. A., Willemink, M. J., & Min, J. K. (2015). New Applications of Cardiac Computed Tomography. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 8(6), 710–723. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2015.03.005>
- Daugherty, A. (2002). Mouse Models of Atherosclerosis. *The American Journal of the Medical Sciences*, 323(1), 3–10. <https://doi.org/10.1097/00000441-200201000-00002>
- Davé, D. P., & Milner, T. E. (2000). Doppler-angle measurement in highly scattering media. *Optics Letters*, 25(20), 1523–1525. <https://doi.org/10.1364/ol.25.001523>
- de Boer, J. F., Hitzenberger, C. K., & Yasuno, Y. (2017). Polarization sensitive optical coherence tomography – a review [Invited]. *Biomedical Optics Express*, 8(3), 1838. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.001838>
- de Boer, J. F., Leitgeb, R., & Wojtkowski, M. (2017). Twenty-five years of optical coherence tomography: the paradigm shift in sensitivity and speed provided by Fourier domain OCT [Invited]. *Biomedical Optics Express*, 8(7), 3248–3280. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.003248>
- de Carlo, T. E., Romano, A., Waheed, N. K., & Duker, J. S. (2015). A review of optical coherence tomography angiography (OCTA). *International Journal of Retina and Vitreous*, 1(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s40942-015-0005-8>
- de Montgolfier, O., Pinçon, A., Pouliot, P., Gillis, M.-A., Bishop, J., Sled, J. G., ... Thorin, É. (2019). High Systolic Blood Pressure Induces Cerebral Microvascular Endothelial Dysfunction, Neurovascular Unit Damage, and Cognitive Decline in Mice. *Hypertension*, 73(1), 217–228. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12048>
- de Montgolfier, O., Pouliot, P., Gillis, M.-A., Ferland, G., Lesage, F., Thorin-Trescases, N., & Thorin, É. (2019). Premature vascular aging in LDLr^{-/-}:hApoB^{+/+} mice drives disruption of the neurovascular unit leading to cognitive decline. *GeroScience*, (in press).
- Desjardins, M., Berti, R., Lefebvre, J., Dubeau, S., & Lesage, F. (2014). Aging-related differences in cerebral capillary blood flow in anesthetized rats. *Neurobiology of Aging*, 35(8), 1947–1955. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2014.01.136>
- Desjardins, M., Berti, R., Pouliot, P., Dubeau, S., & Lesage, F. (2014). Multimodal study of the hemodynamic response to hypercapnia in anesthetized aged rats. *Neuroscience Letters*, 563, 33–37. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2014.01.027>
- Devor, A., Sakadzic, S., Saisan, P. A., Yaseen, M. A., Roussakis, E., Srinivasan, V. J., ... Boas, D. A. (2011). “Overshoot” of O₂ is required to maintain baseline tissue oxygenation at locations distal to blood vessels. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(38), 13676–13681. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1968-11.2011>
- Doesch, C. (2014). Diagnosis and management of ischemic cardiomyopathy: Role of

- cardiovascular magnetic resonance imaging. *World Journal of Cardiology*, 6(11), 1166. <https://doi.org/10.4330/wjc.v6.i11.1166>
- Drexler, W., Morgner, U., Kärtner, F. X., Pitris, C., Boppart, S. A., Li, X. D., ... Fujimoto, J. G. (1999). In vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Optics Letters*, 24(17), 1221. <https://doi.org/10.1364/OL.24.001221>
- Drexler, Wolfgang, Morgner, U., Ghanta, R. K., Kärtner, F. X., Schuman, J. S., & Fujimoto, J. G. (2001). Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography. *Nature Medicine*, 7(4), 502–507. <https://doi.org/10.1038/86589>
- Drouin, A., Bolduc, V., Thorin-Trescases, N., Bélanger, É., Fernandes, P., Baraghis, E., ... Thorin, E. (2011). Catechin treatment improves cerebrovascular flow-mediated dilation and learning abilities in atherosclerotic mice. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 300(3), H1032-43. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00410.2010>
- Drouin, A., Farhat, N., Bolduc, V., Thorin-Trescases, N., Gillis, M.-A., Villeneuve, L., ... Thorin, E. (2011). Up-regulation of thromboxane A2 impairs cerebrovascular eNOS function in aging atherosclerotic mice. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 462(3), 371–383. <https://doi.org/10.1007/s00424-011-0973-y>
- Dubeau, S., Ferland, G., Gaudreau, P., Beaumont, E., & Lesage, F. (2011). Cerebrovascular hemodynamic correlates of aging in the Lou/c rat: A model of healthy aging. *NeuroImage*, 56(4), 1892–1901. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2011.03.076>
- Ellulu, M. S., Patimah, I., Khaza'ai, H., Rahmat, A., Abed, Y., & Ali, F. (2016). Atherosclerotic cardiovascular disease: a review of initiators and protective factors. *Inflammopharmacology*, 24(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10787-015-0255-y>
- Emini Veseli, B., Perrotta, P., De Meyer, G. R. A., Roth, L., Van der Donckt, C., Martinet, W., & De Meyer, G. R. Y. (2017). Animal models of atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology*, 816, 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.05.010>
- Erdener, Ş. E., Tang, J., Sajjadi, A., Kılıç, K., Kura, S., Schaffer, C. B., & Boas, D. A. (2019). Spatio-temporal dynamics of cerebral capillary segments with stalling red blood cells. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 39(5), 886–900. <https://doi.org/10.1177/0271678X17743877>
- Faber, D. J., Mik, E. G., Aalders, M. C. G., & van Leeuwen, T. G. (2005). Toward assessment of blood oxygen saturation by spectroscopic optical coherence tomography. *Optics Letters*, 30(9), 1015–1017. <https://doi.org/10.1364/ol.30.001015>
- Falk, E. (2006). Pathogenesis of Atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 47(8 Supplement), C7 LP-C12. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.09.068>
- Fan, Y., Shen, F., Frenzel, T., Zhu, W., Ye, J., Liu, J., ... Yang, G.-Y. (2010). Endothelial progenitor cell transplantation improves long-term stroke outcome in mice. *Annals of Neurology*, 67(4), 488–497. <https://doi.org/10.1002/ana.21919>
- Fercher, A.F., Hitzenberger, C. K., Kamp, G., & El-Zaiat, S. Y. (1995). Measurement of

- intraocular distances by backscattering spectral interferometry. *Optics Communications*, 117(1–2), 43–48. [https://doi.org/10.1016/0030-4018\(95\)00119-S](https://doi.org/10.1016/0030-4018(95)00119-S)
- Fercher, Adolf F., Leitgeb, R., Hitzenberger, C. K., Sattmann, H., & Wojtkowski, M. (1998). Complex spectral interferometry OCT. In G. B. Altshuler, S. Andersson-Engels, R. Birngruber, P. Bjerring, A. F. Fercher, H. J. Geschwind, ... H. J. C. M. Sterenborg (Eds.), *Complex spectral interferometry OCT* (Vol. 3564, pp. 173–178). International Society for Optics and Photonics. <https://doi.org/10.1117/12.339152>
- Finikova, O. S., Lebedev, A. Y., Aprelev, A., Troxler, T., Gao, F., Garnacho, C., ... Vinogradov, S. A. (2008). Oxygen Microscopy by Two-Photon-Excited Phosphorescence. *ChemPhysChem*, 9(12), 1673–1679. <https://doi.org/10.1002/cphc.200800296>
- Flaherty, M. L., Kissela, B., Khoury, J. C., Alwell, K., Moomaw, C. J., Woo, D., ... Kleindorfer, D. (2013). Carotid artery stenosis as a cause of stroke. *Neuroepidemiology*, 40(1), 36–41. <https://doi.org/10.1159/000341410>
- Fluri, F., Schuhmann, M. K., & Kleinschnitz, C. (2015). Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 3445–3454. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S56071>
- Foley, J. R. J., Plein, S., & Greenwood, J. P. (2017). Assessment of stable coronary artery disease by cardiovascular magnetic resonance imaging: Current and emerging techniques. *World Journal of Cardiology*, 9(2), 92–108. <https://doi.org/10.4330/wjc.v9.i2.92>
- Frangi, A. F., Niessen, W. J., Vincken, K. L., & Viergever, M. A. (1998). Multiscale vessel enhancement filtering (pp. 130–137). Springer, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/BFb0056195>
- Fujimoto, J. G., Pitris, C., Boppart, S. A., & Brezinski, M. E. (2000). Optical coherence tomography: an emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 2(1–2), 9–25. <https://doi.org/10.1038/sj.neo.7900071>
- Garcia-Garcia, H. M., Costa, M. A., & Serruys, P. W. (2010). Imaging of coronary atherosclerosis: intravascular ultrasound. *European Heart Journal*, 31(20), 2456–2469. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq280>
- García-García, H. M., Mintz, G. S., Lerman, A., Vince, D. G., Margolis, M. P., van Es, G.-A., ... Serruys, P. W. (2009). Tissue characterisation using intravascular radiofrequency data analysis: recommendations for acquisition, analysis, interpretation and reporting. *EuroIntervention : Journal of EuroPCR in Collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology*, 5(2), 177–189. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20449928>
- Gerega, A., Zolek, N., Soltysinski, T., Milej, D., Sawosz, P., Toczyłowska, B., & Liebert, A. (2011). Wavelength-resolved measurements of fluorescence lifetime of indocyanine green. *Journal of Biomedical Optics*, 16(6), 067010. <https://doi.org/10.1117/1.3593386>
- Good, D. C. (1990). *Cerebrovascular Disease*. (W. HK, H. WD, & H. JW, Eds.), *Clinical*

Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations (3rd ed.). Boston: Butterworths. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21250219>

- Götzinger, E., Pircher, M., Leitgeb, R. A., & Hitzenberger, C. K. (2005). High speed full range complex spectral domain optical coherence tomography. *Optics Express*, *13*(2), 583. <https://doi.org/10.1364/OPEX.13.000583>
- Gould, I. G., Tsai, P., Kleinfeld, D., & Linninger, A. (n.d.). The capillary bed offers the largest hemodynamic resistance to the cortical blood supply. <https://doi.org/10.1177/0271678X16671146>
- Hadjistassou, C., Bejan, A., & Ventikos, Y. (2015). Cerebral oxygenation and optimal vascular brain organization. *Journal of the Royal Society, Interface*, *12*(107). <https://doi.org/10.1098/rsif.2015.0245>
- Haffner, C., Malik, R., & Dichgans, M. (2016). Genetic factors in cerebral small vessel disease and their impact on stroke and dementia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *36*(1), 158–171. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.71>
- Hakon, J., Quattromani, M. J., Sjölund, C., Tomasevic, G., Carey, L., Lee, J.-M., ... Bauer, A. Q. (2018). Multisensory stimulation improves functional recovery and resting-state functional connectivity in the mouse brain after stroke. *NeuroImage: Clinical*, *17*, 717–730. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.11.022>
- Hall, C. N., Reynell, C., Gesslein, B., Hamilton, N. B., Mishra, A., Sutherland, B. A., ... Attwell, D. (2014). Capillary pericytes regulate cerebral blood flow in health and disease. *Nature*, *508*(7494), 55–60. <https://doi.org/10.1038/nature13165>
- Hannah, R., & Max, R. (2017). Causes of death. Published online at OurWorldInData.org. Retrieved from <https://ourworldindata.org/causes-of-death>
- Hara, Y. (2015). Brain Plasticity and Rehabilitation in Stroke Patients. *Journal of Nippon Medical School*, *82*(1), 4–13. <https://doi.org/10.1272/jnms.82.4>
- Harrison, T. C., Silasi, G., Boyd, J. D., & Murphy, T. H. (2013). Displacement of Sensory Maps and Disorganization of Motor Cortex After Targeted Stroke in Mice. *Stroke*, *44*(8), 2300–2306. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001272>
- Häusler, G., & Lindner, M. W. (1998). “Coherence Radar” and “Spectral Radar”—New Tools for Dermatological Diagnosis. *Journal of Biomedical Optics*, *3*(1), 21. <https://doi.org/10.1117/1.429899>
- Head, T., Daunert, S., & Goldschmidt-Clermont, P. J. (2017). The Aging Risk and Atherosclerosis: A Fresh Look at Arterial Homeostasis. *Frontiers in Genetics*, *8*, 216. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00216>
- Heit, J. J., & Wintermark, M. (2016). Perfusion Computed Tomography for the Evaluation of Acute Ischemic Stroke. *Stroke*, *47*(4), 1153–1158. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.011873>
- Hilderbrand, S. A., & Weissleder, R. (2010). Near-infrared fluorescence: application to in vivo molecular imaging. *Current Opinion in Chemical Biology*, *14*(1), 71–79. <https://doi.org/10.1016/J.CBPA.2009.09.029>

- Hillman, E. M. C. (2007). Optical brain imaging in vivo: techniques and applications from animal to man. *Journal of Biomedical Optics*, *12*(5), 051402. <https://doi.org/10.1117/1.2789693>
- Huang, D., Swanson, E., Lin, C., Schuman, J., Stinson, W., Chang, W., ... Et, A. (1991). Optical coherence tomography. *Science*, *254*(5035), 1178–1181. <https://doi.org/10.1126/science.1957169>
- Huber, R., Wojtkowski, M., Fujimoto, J. G., Jiang, J. Y., & Cable, A. E. (2005). Three-dimensional and C-mode OCT imaging with a compact, frequency swept laser source at 1300 nm. *Optics Express*, *13*(26), 10523. <https://doi.org/10.1364/OPEX.13.010523>
- Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME). (2018). Global Burden of Disease Collaborative Network. Global Burden of Disease Study 2016 (GBD 2016) Results. Retrieved from <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool>
- Itoh, Y., & Suzuki, N. (2012a). Control of brain capillary blood flow. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *32*(7), 1167–1176. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.5>
- Itoh, Y., & Suzuki, N. (2012b). Control of brain capillary blood flow. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *32*(7), 1167–1176. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.5>
- Izatt, J. A., Kulkarni, M. D., Yazdanfar, S., Barton, J. K., & Welch, A. J. (1997). In vivo bidirectional color Doppler flow imaging of picoliter blood volumes using optical coherence tomography. *Optics Letters*, *22*(18), 1439–1441. <https://doi.org/10.1364/ol.22.001439>
- Jang, I.-K., Bouma, B. E., Kang, D.-H., Park, S.-J., Park, S.-W., Seung, K.-B., ... Tearney, G. J. (2002). Visualization of coronary atherosclerotic plaques in patients using optical coherence tomography: comparison with intravascular ultrasound. *Journal of the American College of Cardiology*, *39*(4), 604–609. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01799-5](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01799-5)
- Jang, I.-K., Tearney, G. J., MacNeill, B., Takano, M., Moselewski, F., Iftima, N., ... Bouma, B. E. (2005). In Vivo Characterization of Coronary Atherosclerotic Plaque by Use of Optical Coherence Tomography. *Circulation*, *111*(12), 1551–1555. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000159354.43778.69>
- Janssen, B. J. A., De Celle, T., Debets, J. J. M., Brouns, A. E., Callahan, M. F., & Smith, T. L. (2004). Effects of anesthetics on systemic hemodynamics in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *287*(4), H1618–H1624. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01192.2003>
- Jickling, G. C., Liu, D., Ander, B. P., Stamova, B., Zhan, X., & Sharp, F. R. (2015). Targeting Neutrophils in Ischemic Stroke: Translational Insights from Experimental Studies. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *35*(6), 888–901. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.45>
- Jonathan, E., Enfield, J., & Leahy, M. J. (2010). Correlation mapping method for generating microcirculation morphology from optical coherence tomography (OCT) intensity images. *Journal of Biophotonics*, *4*(9), n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/jbio.201000103>

- Kalaria, R. N. (2012). Cerebrovascular Disease and Mechanisms of Cognitive Impairment. *Stroke*, *43*(9), 2526–2534. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.112.655803>
- Kalaria, R. N., & Ballard, C. (2001). Stroke and cognition. *Current Atherosclerosis Reports*, *3*(4), 334–339. <https://doi.org/10.1007/s11883-001-0028-5>
- Kehl, F., Shen, H., Moreno, C., Farber, N. E., Roman, R. J., Kampine, J. P., & Hudetz, A. G. (2002). Isoflurane-induced cerebral hyperemia is partially mediated by nitric oxide and epoxyeicosatrienoic acids in mice in vivo. *Anesthesiology*, *97*(6), 1528–1533. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12459681>
- Kim, J., Brown, W., Maher, J. R., Levinson, H., & Wax, A. (2015). Functional optical coherence tomography: principles and progress. *Physics in Medicine and Biology*, *60*(10), R211–37. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/60/10/R211>
- Kini, A. S., Vengrenyuk, Y., Yoshimura, T., Matsumura, M., Pena, J., Baber, U., ... Narula, J. (2017). Fibrous Cap Thickness by Optical Coherence Tomography In Vivo. *Journal of the American College of Cardiology*, *69*(6), 644–657. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.10.028>
- Kojima, T., Hirota, Y., Ema, M., Takahashi, S., Miyoshi, I., Okano, H., & Sawamoto, K. (2010). Subventricular Zone-Derived Neural Progenitor Cells Migrate Along a Blood Vessel Scaffold Toward the Post-Stroke Striatum. *STEM CELLS*, *28*(3), N/A–N/A. <https://doi.org/10.1002/stem.306>
- Koren-Morag, N., Tanne, D., Graff, E., & Goldbourt, U. (2002). Low- and High-Density Lipoprotein Cholesterol and Ischemic Cerebrovascular Disease. *Archives of Internal Medicine*, *162*(9), 993. <https://doi.org/10.1001/archinte.162.9.993>
- Kraft, P., Schuhmann, M. K., Garz, C., Jandke, S., Urlaub, D., Mencl, S., ... Schreiber, S. (2017). Hypercholesterolemia induced cerebral small vessel disease. *PloS One*, *12*(8), e0182822. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182822>
- Kraus, M. F., Potsaid, B., Mayer, M. A., Bock, R., Baumann, B., Liu, J. J., ... Fujimoto, J. G. (2012). Motion correction in optical coherence tomography volumes on a per A-scan basis using orthogonal scan patterns. *Biomedical Optics Express*, *3*(6), 1182. <https://doi.org/10.1364/BOE.3.001182>
- Kubo, T., Imanishi, T., Takarada, S., Kuroi, A., Ueno, S., Yamano, T., ... Akasaka, T. (2007). Assessment of Culprit Lesion Morphology in Acute Myocardial Infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, *50*(10), 933–939. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.04.082>
- Kume, T., Akasaka, T., Kawamoto, T., Ogasawara, Y., Watanabe, N., Toyota, E., ... Yoshida, K. (2006). Assessment of Coronary Arterial Thrombus by Optical Coherence Tomography. *The American Journal of Cardiology*, *97*(12), 1713–1717. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.01.031>
- Larin, K. V., & Sampson, D. D. (2017). Optical coherence elastography – OCT at work in tissue biomechanics [Invited]. *Biomedical Optics Express*, *8*(2), 1172. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.001172>
- Lee, J. H., Han, D., Danad, I., Hartaigh, B. Ó., Lin, F. Y., & Min, J. K. (2016).

- Multimodality Imaging in Coronary Artery Disease: Focus on Computed Tomography. *Journal of Cardiovascular Ultrasound*, 24(1), 7–17. <https://doi.org/10.4250/jcu.2016.24.1.7>
- Lee, J. M., Grabb, M. C., Zipfel, G. J., & Choi, D. W. (2000). Brain tissue responses to ischemia. *The Journal of Clinical Investigation*, 106(6), 723–731. <https://doi.org/10.1172/JCI11003>
- Lee, J., Srinivasan, V., Radhakrishnan, H., & Boas, D. A. (2011). Motion correction for phase-resolved dynamic optical coherence tomography imaging of rodent cerebral cortex. *Optics Express*, 19(22), 21258. <https://doi.org/10.1364/OE.19.021258>
- Lee, Y. T., Lin, H. Y., Chan, Y. W. F., Li, K. H. C., To, O. T. L., Yan, B. P., ... Tse, G. (2017). Mouse models of atherosclerosis: a historical perspective and recent advances. *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0402-5>
- Lefebvre, J., Castonguay, A., & Lesage, F. (2018). Imaging whole mouse brains with a dual resolution serial swept-source optical coherence tomography scanner. In Q. Luo & J. Ding (Eds.), *Neural Imaging and Sensing 2018* (Vol. 10481, p. 12). SPIE. <https://doi.org/10.1117/12.2288521>
- Leitgeb, R. A., Villiger, M., Bachmann, A. H., Steinmann, L., & Lasser, T. (2006). Extended focus depth for Fourier domain optical coherence microscopy. *Optics Letters*, 31(16), 2450. <https://doi.org/10.1364/OL.31.002450>
- Leitgeb, R., Hitzenberger, C., & Fercher, A. (2003). Performance of fourier domain vs time domain optical coherence tomography. *Optics Express*, 11(8), 889. <https://doi.org/10.1364/OE.11.000889>
- Leitgeb, Rainer A., Hitzenberger, C. K., Fercher, A. F., & Bajraszewski, T. (2003). Phase-shifting algorithm to achieve high-speed long-depth-range probing by frequency-domain optical coherence tomography. *Optics Letters*, 28(22), 2201. <https://doi.org/10.1364/OL.28.002201>
- Leitgeb, Rainer A., Werkmeister, R. M., Blatter, C., & Schmetterer, L. (2014). Doppler Optical Coherence Tomography. *Progress in Retinal and Eye Research*, 41, 26–43. <https://doi.org/10.1016/J.PRETEYERES.2014.03.004>
- Leitgeb, Rainer A., Schmetterer, L., Hitzenberger, C. K., Fercher, A. F., Berisha, F., Wojtkowski, M., & Bajraszewski, T. (2004). Real-time measurement of in vitro flow by Fourier-domain color Doppler optical coherence tomography. *OPTICS LETTERS*, 29(2). <https://doi.org/10.1364/OL.29.000171>
- Leitgeb, Rainer, Schmetterer, L. F., Wojtkowski, M., Hitzenberger, C. K., Sticker, M., & Fercher, A. F. (2002). Flow velocity measurements by frequency domain short coherence interferometry. In V. V. Tuchin, J. A. Izatt, & J. G. Fujimoto (Eds.) (Vol. 4619, p. 16). International Society for Optics and Photonics. <https://doi.org/10.1117/12.470477>
- Lexer, F., Hitzenberger, C. K., Drexler, W., Molebny, S., Sattmann, H., Sticker, M., & Fercher, A. F. (1999). Dynamic coherent focus OCT with depth-independent transversal resolution. *Journal of Modern Optics*, 46(3), 541–553. <https://doi.org/10.1080/09500349908231282>

- Lin, A., Rawal, S., Agid, R., & Mandell, D. M. (2018). Cerebrovascular Imaging: Which Test is Best? *Neurosurgery*, *83*(1), 5–18. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyx325>
- Lindenstrøm, E., Boysen, G., & Nyboe, J. (1994). Influence of total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, and triglycerides on risk of cerebrovascular disease: the Copenhagen City Heart Study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, *309*(6946), 11–15. <https://doi.org/10.1136/bmj.309.6946.11>
- Liu, G., & Chen, Z. (2013). Advances in Doppler OCT. *Chinese Optics Letters: COL*, *11*(1), 11702. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24443649>
- Lorensen, D., Yang, X., & Sampson, D. D. (2012). Ultrathin fiber probes with extended depth of focus for optical coherence tomography. *Optics Letters*, *37*(10), 1616. <https://doi.org/10.1364/OL.37.001616>
- Lu, C.-W., Lee, C.-K., Tsai, M.-T., Wang, Y.-M., & Yang, C. C. (2008). Measurement of the hemoglobin oxygen saturation level with spectroscopic spectral-domain optical coherence tomography. *Optics Letters*, *33*(5), 416–418. <https://doi.org/10.1364/ol.33.000416>
- Lücker, A., Secomb, T. W., Weber, B., & Jenny, P. (2017). The relative influence of hematocrit and red blood cell velocity on oxygen transport from capillaries to tissue. *Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)*, *24*(3). <https://doi.org/10.1111/micc.12337>
- Lücker, A., Secomb, T. W., Weber, B., & Jenny, P. (2018). The Relation Between Capillary Transit Times and Hemoglobin Saturation Heterogeneity. Part 1: Theoretical Models. *Frontiers in Physiology*, *9*, 420. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00420>
- Makita, S., Fabritius, T., & Yasuno, Y. (2008a). Full-range, high-speed, high-resolution 1- μm spectral-domain optical coherence tomography using BM-scan for volumetric imaging of the human posterior eye. *Optics Express*, *16*(12), 8406. <https://doi.org/10.1364/OE.16.008406>
- Makita, S., Fabritius, T., & Yasuno, Y. (2008b). Quantitative retinal-blood flow measurement with three-dimensional vessel geometry determination using ultrahigh-resolution Doppler optical coherence angiography. *Optics Letters*, *33*(8), 836. <https://doi.org/10.1364/OL.33.000836>
- Makita, S., Hong, Y., Yamanari, M., Yatagai, T., & Yasuno, Y. (2006). Optical coherence angiography. *Optics Express*, *14*(17), 7821. <https://doi.org/10.1364/OE.14.007821>
- Mancini, G. B. J., Gosselin, G., Chow, B., Kostuk, W., Stone, J., Yvorchuk, K. J., ... Zimmermann, R. (2014). Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Diagnosis and Management of Stable Ischemic Heart Disease. *Canadian Journal of Cardiology*, *30*(8), 837–849. <https://doi.org/10.1016/J.CJCA.2014.05.013>
- Mariampillai, A., Leung, M. K. K., Jarvi, M., Standish, B. A., Lee, K., Wilson, B. C., ... Yang, V. X. D. (2010). Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Optics Letters*, *35*(8), 1257. <https://doi.org/10.1364/OL.35.001257>
- Mariampillai, A., Standish, B. A., Moriyama, E. H., Khurana, M., Munce, N. R., Leung, M. K. K., ... Yang, V. X. D. (2008). Speckle variance detection of microvasculature

using swept-source optical coherence tomography. *Optics Letters*, 33(13), 1530. <https://doi.org/10.1364/OL.33.001530>

- Masamoto, K., & Kanno, I. (2012). Anesthesia and the quantitative evaluation of neurovascular coupling. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 32(7), 1233–1247. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.50>
- Matta, B. F., Ch, M. B. B., Heath, K. J., Tipping, K., & Summors, A. C. (1999). Direct Cerebral Vasodilatory Effects of Sevoflurane and Isoflurane. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 91(3), 677–680. Retrieved from https://watermark.silverchair.com/0000542-199909000-00019.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485y sgAAAf0wggH5BgkqhkiG9w0BBwagggHqMIIB5gIBADCCAd8GCSqGSib3DQE HATAeBglghkgBZQMEAS4wEQQMP0kSuibJdPyOrYdnAgEQgIIBsLmP-pZHoJaMERcQ9vjvdoHoeKKgzjF
- Matthews, S. D., & Frishman, W. H. (2017). A Review of the Clinical Utility of Intravascular Ultrasound (IVUS) and Optical Coherence Tomography (OCT) in the Assessment and Treatment of Coronary Artery Disease. *Cardiology in Review*, 1. <https://doi.org/10.1097/CRD.0000000000000128>
- Mintz, G. S., & Guagliumi, G. (2017). Intravascular imaging in coronary artery disease. *The Lancet*, 390(10096), 793–809. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31957-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31957-8)
- Miura, M., Makita, S., Iwasaki, T., & Yasuno, Y. (2012). An Approach to Measure Blood Flow in Single Choroidal Vessel Using Doppler Optical Coherence Tomography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53(11), 7137. <https://doi.org/10.1167/iovs.12-10666>
- Moeini, M., Lu, X., Avti, P. K., Damseh, R., Bélanger, S., Picard, F., ... Lesage, F. (2018). Compromised microvascular oxygen delivery increases brain tissue vulnerability with age. *Scientific Reports*, 8(1), 8219. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26543-w>
- Mok, V. C. T., Lam, B. Y. K., Wang, Z., Liu, W., Au, L., Leung, E. Y. L., ... Wong, A. (2016). Delayed-onset dementia after stroke or transient ischemic attack. *Alzheimer's & Dementia*, 12(11), 1167–1176. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.05.007>
- Mostany, R., & Portera-Cailliau, C. (2008). A Craniotomy Surgery Procedure for Chronic Brain Imaging. *Journal of Visualized Experiments*, (12), e680. <https://doi.org/10.3791/680>
- Murphy, T. H., Li, P., Betts, K., & Liu, R. (2008). Two-Photon Imaging of Stroke Onset In Vivo Reveals That NMDA-Receptor Independent Ischemic Depolarization Is the Major Cause of Rapid Reversible Damage to Dendrites and Spines. *Journal of Neuroscience*, 28(7), 1756–1772. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5128-07.2008>
- Murphy, Timothy H., & Corbett, D. (2009). Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(12), 861–872. <https://doi.org/10.1038/nrn2735>
- Nam, H. S., & Yoo, H. (2018). Spectroscopic optical coherence tomography: A review of

- concepts and biomedical applications. *Applied Spectroscopy Reviews*, 53(2–4), 91–111. <https://doi.org/10.1080/05704928.2017.1324876>
- Ohab, J. J., Fleming, S., Blesch, A., & Carmichael, S. T. (2006). A Neurovascular Niche for Neurogenesis after Stroke. *Journal of Neuroscience*, 26(50), 13007–13016. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4323-06.2006>
- Pantoni, L. (2010). *Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges*. *The Lancet Neurology* (Vol. 9). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70104-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70104-6)
- Park, C. S., & Payne, S. J. (2016). Modelling the effects of cerebral microvasculature morphology on oxygen transport. *Medical Engineering & Physics*, 38(1), 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2015.09.004>
- Paschotta, R. (2008). numerical aperture. In *Encyclopedia of Laser Physics and Technology* (1st ed.). Wiley-VCH.
- Patel, K., Tarkin, J., Serruys, P. W., Tenekecioglu, E., Foin, N., Zhang, Y.-J., ... Bourantas, C. V. (2017). Invasive or non-invasive imaging for detecting high-risk coronary lesions? *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 15(3), 165–179. <https://doi.org/10.1080/14779072.2017.1297231>
- Pedersen, C. J., Huang, D., Shure, M. A., & Rollins, A. M. (2007). Measurement of absolute flow velocity vector using dual-angle, delay-encoded Doppler optical coherence tomography. *Optics Letters*, 32(5), 506–508. <https://doi.org/10.1364/ol.32.000506>
- Perez-de-Puig, I., Miró-Mur, F., Ferrer-Ferrer, M., Gelpi, E., Pedragosa, J., Justicia, C., ... Planas, A. M. (2015). Neutrophil recruitment to the brain in mouse and human ischemic stroke. *Acta Neuropathologica*, 129(2), 239–257. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1381-0>
- Perry, R., Joseph, M. X., Chew, D. P., Aylward, P. E., & De Pasquale, C. G. (2013). Coronary Artery Wall Thickness of the Left Anterior Descending Artery Using High Resolution Transthoracic Echocardiography - Normal Range of Values. *Echocardiography*, 30(7), 759–764. <https://doi.org/10.1111/echo.12136>
- Pierce, M. C., Strasswimmer, J., Hyle Park, B., Cense, B., & de Boer, J. F. (2004). Advances in Optical Coherence Tomography Imaging for Dermatology. *Journal of Investigative Dermatology*, 123(3), 458–463. <https://doi.org/10.1111/J.0022-202X.2004.23404.X>
- Pircher, M., Götzinger, E., & Hitzenberger, C. K. (2006). Dynamic focus in optical coherence tomography for retinal imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 11(5), 054013. <https://doi.org/10.1117/1.2358960>
- Podoleanu, A. G. (2000). Unbalanced versus balanced operation in an optical coherence tomography system. *Applied Optics*, 39(1), 173. <https://doi.org/10.1364/AO.39.000173>
- Popescu, D. P., Choo-Smith, L.-P., Flueraru, C., Mao, Y., Chang, S., Disano, J., ... Sowa, M. G. (2011). Optical coherence tomography: fundamental principles, instrumental

- designs and biomedical applications. *Biophysical Reviews*, 3(3), 155. <https://doi.org/10.1007/s12551-011-0054-7>
- Powell-Braxton, L., Véniant, M., Latvala, R. D., Hirano, K.-I., Won, W. B., Ross, J., ... Davidson, N. O. (1998). A mouse model of human familial hypercholesterolemia: Markedly elevated low density lipoprotein cholesterol levels and severe atherosclerosis on a low-fat chow diet. *Nature Medicine*, 4(8), 934–938. <https://doi.org/10.1038/nm0898-934>
- Pries, A. R., Secomb, T. W., & Gaetgens, P. (1996). Relationship between structural and hemodynamic heterogeneity in microvascular networks. *The American Journal of Physiology*, 270(2 Pt 2), H545-53. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1996.270.2.H545>
- Proskurin, S. G., He, Y., & Wang, R. K. (2003). *Determination of flow velocity vector based on Doppler shift and spectrum broadening with optical coherence tomography. OPTICS LETTERS* (Vol. 28). Retrieved from https://www.osapublishing.org/DirectPDFAccess/EB8E493A-DD44-BECD-49F9C9E7583D0BF6_73307/ol-28-14-1227.pdf?da=1&id=73307&seq=0&mobile=no
- Puliafito, C. A., Hee, M. R., Lin, C. P., Reichel, E., Schuman, J. S., Duker, J. S., ... Fujimoto, J. G. (1995). Imaging of Macular Diseases with Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology*, 102(2), 217–229. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(95\)31032-9](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(95)31032-9)
- Qi, B., Phillip Himmer, A., Maggie Gordon, L., Victor Yang, X. D., David Dickensheets, L., & Alex Vitkin, I. (2004). Dynamic focus control in high-speed optical coherence tomography based on a microelectromechanical mirror. *Optics Communications*, 232(1–6), 123–128. <https://doi.org/10.1016/J.OPTCOM.2004.01.015>
- Ralston, T. S., Marks, D. L., Scott Carney, P., & Boppart, S. A. (2007). Interferometric synthetic aperture microscopy. *Nature Physics*, 3(2), 129–134. <https://doi.org/10.1038/nphys514>
- Ramírez, C., Sierra, S., Tercero, I., Vázquez, J. A., Pineda, A., Manrique, T., & Burgos, J. S. (2011). ApoB100/LDLR-/- Hypercholesterolaemic Mice as a Model for Mild Cognitive Impairment and Neuronal Damage. *PLoS ONE*, 6(7), e22712. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022712>
- Rathod, K. S., Hamshere, S. M., Jones, D. A., & Mathur, A. (2015). Intravascular Ultrasound Versus Optical Coherence Tomography for Coronary Artery Imaging – Apples and Oranges? *Interventional Cardiology Review*, 10(1), 8. <https://doi.org/10.15420/icr.2015.10.1.8>
- Rezakhaniha, R., Aghianniotis, A., Schrauwen, J. T. C., Griffa, A., Sage, D., Bouten, C. V. C., ... Stergiopoulos, N. (2012). Experimental investigation of collagen waviness and orientation in the arterial adventitia using confocal laser scanning microscopy. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 11(3–4), 461–473. <https://doi.org/10.1007/s10237-011-0325-z>
- Rollins, A. M., & Izatt, J. A. (1999). *Optimal interferometer designs for optical coherence tomography. OPTICS LETTERS* (Vol. 24). Retrieved from

https://www.osapublishing.org/DirectPDFAccess/7C0FC061-A78E-C4A7-4F6AC3E45AE43855_37503/ol-24-21-1484.pdf?da=1&id=37503&seq=0&mobile=no

- Row, B. W. (2007). Intermittent Hypoxia and Cognitive Function: Implications from Chronic Animal Models (pp. 51–67). Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-0-387-75434-5_5
- Rudijanto, A. (2007). The role of vascular smooth muscle cells on the pathogenesis of atherosclerosis. *Acta Medica Indonesiana*, 39(2), 86–93. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17933075>
- Sakadžić, S., Mandeville, E. T., Gagnon, L., Musacchia, J. J., Yaseen, M. A., Yucel, M. A., ... Boas, D. A. (2014). Large arteriolar component of oxygen delivery implies a safe margin of oxygen supply to cerebral tissue. *Nature Communications*, 5(1), 5734. <https://doi.org/10.1038/ncomms6734>
- Sakadžić, S., Roussakis, E., Yaseen, M. A., Mandeville, E. T., Srinivasan, V. J., Arai, K., ... Boas, D. A. (2010). Two-photon high-resolution measurement of partial pressure of oxygen in cerebral vasculature and tissue. *Nature Methods*, 7(9), 755–759. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1490>
- Sakuma, H. (2011). Coronary CT versus MR Angiography: The Role of MR Angiography. *Radiology*, 258(2), 340–349. <https://doi.org/10.1148/radiol.10100116>
- Sanan, D. A., Newland, D. L., Tao, R., Marcovina, S., Wang, J., Mooser, V., ... Hobbs, H. H. (1998). Low density lipoprotein receptor-negative mice expressing human apolipoprotein B-100 develop complex atherosclerotic lesions on a chow diet: no accentuation by apolipoprotein(a). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(8), 4544–4549. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.8.4544>
- Sanz, J., & Fayad, Z. A. (2008). Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature*, 451(7181), 953–957. <https://doi.org/10.1038/nature06803>
- Sato, Y., Nakajima, S., Shiraga, N., Atsumi, H., Yoshida, S., Koller, T., ... Kikinis, R. (1998). Three-dimensional multi-scale line filter for segmentation and visualization of curvilinear structures in medical images. *Medical Image Analysis*, 2(2), 143–168. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10646760>
- Schächinger, V., & Zeiher, A. M. (2000). Atherosclerosis-associated endothelial dysfunction. *Zeitschrift Für Kardiologie*, 89(21), IX70–IX74. <https://doi.org/10.1007/s003920070033>
- Schrandt, C. J., Kazmi, S. S., Jones, T. A., & Dunn, A. K. (2015). Chronic Monitoring of Vascular Progression after Ischemic Stroke Using Multiexposure Speckle Imaging and Two-Photon Fluorescence Microscopy. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35(6), 933–942. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.26>
- Schwinn, D. A., McIntyre, R. W., & Reves, J. G. (1990). Isoflurane-induced vasodilation: role of the alpha-adrenergic nervous system. *Anesthesia and Analgesia*, 71(5), 451–459. <https://doi.org/10.1213/00000539-199011000-00001>

- Shen, K., Lu, H., Baig, S., & Wang, M. R. (2017). Improving lateral resolution and image quality of optical coherence tomography by the multi-frame superresolution technique for 3D tissue imaging. *Biomedical Optics Express*, 8(11), 4887–4918. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.004887>
- Shih, L. C., Saver, J. L., Alger, J. R., Starkman, S., Leary, M. C., Vinuela, F., ... Kidwell, C. S. (2003). Perfusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging Thresholds Identifying Core, Irreversibly Infarcted Tissue. *Stroke*, 34(6), 1425–1430. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000072998.70087.E9>
- Shimamura, M., Nakagami, H., Shimizu, H., Wakayama, K., Kawano, T., Ikeda, Y., ... Morishita, R. (2018). Therapeutic Effects of Systemic Administration of the Novel RANKL-Modified Peptide, MHP1, for Ischemic Stroke in Mice. *BioMed Research International*, 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/4637084>
- Shin, E.-S., Garcia-Garcia, H. M., Ligthart, J. M. R., Witberg, K., Schultz, C., van der Steen, A. F. W., & Serruys, P. W. (2011). In vivo findings of tissue characteristics using iMap™ IVUS and Virtual Histology™ IVUS. *EuroIntervention*, 6(8), 1017–1019. <https://doi.org/10.4244/EIJV6I8A175>
- Shin, P., Choi, W., Joo, J., & Oh, W.-Y. (2018). Quantitative hemodynamic analysis of cerebral blood flow and neurovascular coupling using optical coherence tomography angiography. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 0271678X1877343. <https://doi.org/10.1177/0271678X18773432>
- Srinivasan, V. J., Jiang, J. Y., Yaseen, M. A., Radhakrishnan, H., Wu, W., Barry, S., ... Boas, D. A. (2010). Rapid volumetric angiography of cortical microvasculature with optical coherence tomography. *Optics Letters*, 35(1), 43–45. <https://doi.org/10.1364/OL.35.000043>
- Srinivasan, V. J., Mandeville, E. T., Can, A., Blasi, F., Climov, M., Daneshmand, A., ... Ayata, C. (2013). Multiparametric, Longitudinal Optical Coherence Tomography Imaging Reveals Acute Injury and Chronic Recovery in Experimental Ischemic Stroke. *PLoS ONE*, 8(8), e71478. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071478>
- Srinivasan, V. J., Radhakrishnan, H., Jiang, J. Y., Barry, S., & Cable, A. E. (2012). Optical coherence microscopy for deep tissue imaging of the cerebral cortex with intrinsic contrast. *Optics Express*, 20(3), 2220. <https://doi.org/10.1364/OE.20.002220>
- Srinivasan, V. J., Sakadžić, S., Gorczynska, I., Ruvinskaya, S., Wu, W., Fujimoto, J. G., & Boas, D. A. (2009). Depth-resolved microscopy of cortical hemodynamics with optical coherence tomography. *Optics Letters*, 34(20), 3086–3088. <https://doi.org/10.1364/OL.34.003086>
- Srinivasan, V. J., Sakadžić, S., Gorczynska, I., Ruvinskaya, S., Wu, W., Fujimoto, J. G., & Boas, D. A. (2010). Quantitative cerebral blood flow with Optical Coherence Tomography. *Optics Express*, 18(3), 2477. <https://doi.org/10.1364/OE.18.002477>
- Standish, B. A., Lee, K. K. C., Mariampillai, A., Munce, N. R., Leung, M. K. K., Yang, V. X. D., & Vitkin, I. A. (2010). In vivo endoscopic multi-beam optical coherence tomography. *Physics in Medicine and Biology*, 55(3), 615–622. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/55/3/004>

- Statistique Canada. (2018). Tableau 102-0561 - Les principales causes de décès, population totale, selon le groupe d'âge. CANSIM (base de données). Retrieved from <https://www150.statcan.gc.ca/t1/tb11/en/tv.action?pid=1310039401>
- Su, J. P., Li, Y., Tang, M., Liu, L., Pechauer, A. D., Huang, D., & Liu, G. (2015). Imaging the anterior eye with dynamic-focus swept-source optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 20(12), 126002. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.12.126002>
- Süle, Z., Mracsó, É., Bereczki, E., Sántha, M., Csont, T., Ferdinandy, P., ... Farkas, E. (2009). Capillary injury in the ischemic brain of hyperlipidemic, apolipoprotein B-100 transgenic mice. *Life Sciences*, 84(25–26), 935–939. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2009.04.011>
- Szkulmowska, A., Szkulmowski, M., Szlag, D., Kowalczyk, A., & Wojtkowski, M. (2009). Three-dimensional quantitative imaging of retinal and choroidal blood flow velocity using joint Spectral and Time domain Optical Coherence Tomography. *Optics Express*, 17(13), 10584–10598. <https://doi.org/10.1364/oe.17.010584>
- Szkulmowski, M., Tamborski, S., & Wojtkowski, M. (2016). Spectrometer calibration for spectroscopic Fourier domain optical coherence tomography. *Biomedical Optics Express*, 7(12), 5042. <https://doi.org/10.1364/BOE.7.005042>
- Takuwa, H., Autio, J., Nakayama, H., Matsuura, T., Obata, T., Okada, E., ... Kanno, I. (2011). Reproducibility and variance of a stimulation-induced hemodynamic response in barrel cortex of awake behaving mice. *Brain Research*, 1369, 103–111. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2010.11.007>
- Tamborski, S., Lyu, H. C., Dolezyczek, H., Malinowska, M., Wilczynski, G., Szlag, D., ... Szkulmowski, M. (2016). Extended-focus optical coherence microscopy for high-resolution imaging of the murine brain. *Biomedical Optics Express*, 7(11), 4400. <https://doi.org/10.1364/BOE.7.004400>
- Taoufik, E., & Probert, L. (2008). Ischemic neuronal damage. *Current Pharmaceutical Design*, 14(33), 3565–3573. <https://doi.org/10.2174/138161208786848748>
- The Lancet Neurology. (2017). Vascular disease and neurodegeneration: advancing together. *The Lancet Neurology*, 16(5), 333. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30086-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30086-8)
- Thored, P., Wood, J., Arvidsson, A., Cammenga, J., Kokaia, Z., & Lindvall, O. (2007). Long-Term Neuroblast Migration Along Blood Vessels in an Area With Transient Angiogenesis and Increased Vascularization After Stroke. *Stroke*, 38(11), 3032–3039. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.488445>
- van Rooij, F. G., Schaapsmeeders, P., Maaijwee, N. A. M., van Duijnhoven, D. A. H. J., de Leeuw, F.-E., Kessels, R. P. C., & van Dijk, E. J. (2014). Persistent Cognitive Impairment After Transient Ischemic Attack. *Stroke*, 45(8), 2270–2274. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.005205>
- Vinegoni, C., Botnaru, I., Aikawa, E., Calfon, M. A., Iwamoto, Y., Folco, E. J., ... Jaffer, F. A. (2011). Indocyanine Green Enables Near-Infrared Fluorescence Imaging of Lipid-Rich, Inflamed Atherosclerotic Plaques. *Science Translational Medicine*, 3(84),

84ra45-84ra45. <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.3001577>

- Walther, J., Gaertner, M., Cimalla, P., Burkhardt, A., Kirsten, L., Meissner, S., & Koch, E. (2011). Optical coherence tomography in biomedical research. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400(9), 2721–2743. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5052-x>
- Wang, R. K., & An, L. (2011). Multifunctional imaging of human retina and choroid with 1050-nm spectral domain optical coherence tomography at 92-kHz line scan rate. *Journal of Biomedical Optics*, 16(5), 050503. <https://doi.org/10.1117/1.3582159>
- Wang, R. K., Jacques, S. L., Ma, Z., Hurst, S., Hanson, S. R., & Gruber, A. (2007). Three dimensional optical angiography. *Optics Express*, 15(7), 4083. <https://doi.org/10.1364/OE.15.004083>
- Wang, R. K., Zhang, Q., Li, Y., & Song, S. (2017). Optical coherence tomography angiography-based capillary velocimetry. *Journal of Biomedical Optics*, 22(6), 066008. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.22.6.066008>
- Wang, L. V., & Wu, H.-I. (2009). *Biomedical Optics*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9780470177013>
- Wang, L. V., & Wu, H. (2007). *Biomedical optics : principles and imaging*. Wiley-Interscience.
- Wang, Y., Bower, B. A., Izatt, J. A., Tan, O., & Huang, D. (2007). In vivo total retinal blood flow measurement by Fourier domain Doppler optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 12(4), 041215. <https://doi.org/10.1117/1.2772871>
- Wang, Y., Fawzi, A., Tan, O., Gil-Flamer, J., & Huang, D. (2009). Retinal blood flow detection in diabetic patients by Doppler Fourier domain optical coherence tomography. *Optics Express*, 17(5), 4061–4073. <https://doi.org/10.1364/oe.17.004061>
- Wardlaw, J. M., Smith, C., & Dichgans, M. (2013). *Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: insights from neuroimaging*. *The Lancet Neurology* (Vol. 12). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70060-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70060-7)
- Watson, B. D., Dietrich, W. D., Busto, R., Wachtel, M. S., & Ginsberg, M. D. (1985). Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Annals of Neurology*, 17(5), 497–504. <https://doi.org/10.1002/ana.410170513>
- Werkmeister, R. M., Dragostinoff, N., Pircher, M., Götzinger, E., Hitzenberger, C. K., Leitgeb, R. A., & Schmetterer, L. (2008). Bidirectional Doppler Fourier-domain optical coherence tomography for measurement of absolute flow velocities in human retinal vessels. *Optics Letters*, 33(24), 2967. <https://doi.org/10.1364/OL.33.002967>
- Wojtkowski, M., Kowalczyk, A., Leitgeb, R., & Fercher, A. F. (2002). Full range complex spectral optical coherence tomography technique in eye imaging. *Optics Letters*, 27(16), 1415. <https://doi.org/10.1364/OL.27.001415>
- Wojtkowski, Maciej, Leitgeb, R., Kowalczyk, A., Bajraszewski, T., & Fercher, A. F. (2002). In vivo human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 7(3), 457.

<https://doi.org/10.1117/1.1482379>

- Wolf, G., Lotan, A., Lifschytz, T., Ben-Ari, H., Kreisel Merzel, T., Tatarsky, P., ... Lerer, B. (2017). Differentially Severe Cognitive Effects of Compromised Cerebral Blood Flow in Aged Mice: Association with Myelin Degradation and Microglia Activation. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *9*, 191. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00191>
- Xu, C., Ye, J., Marks, D. L., & Boppart, S. A. (2004). Near-infrared dyes as contrast-enhancing agents for spectroscopic optical coherence tomography. *Optics Letters*, *29*(14), 1647–1649. <https://doi.org/10.1364/ol.29.001647>
- Yaqoob, Z., Wu, J., & Yang, C. (2005). Spectral domain optical coherence tomography: a better OCT imaging strategy. *BioTechniques*, *39*(6S), S6–S13. <https://doi.org/10.2144/000112090>
- Yasuno, Y., Sugisaka, J., Sando, Y., Nakamura, Y., Makita, S., Itoh, M., & Yatagai, T. (2006). Non-iterative numerical method for laterally superresolving Fourier domain optical coherence tomography. *Optics Express*, *14*(3), 1006. <https://doi.org/10.1364/OE.14.001006>
- Yin, B., Chu, K. K., Liang, C.-P., Singh, K., Reddy, R., & Tearney, G. J. (2016). μ OCT imaging using depth of focus extension by self-imaging wavefront division in a common-path fiber optic probe. *Optics Express*, *24*(5), 5555. <https://doi.org/10.1364/OE.24.005555>
- Yu, L., Nguyen, E., Liu, G., Choi, B., & Chen, Z. (2010). Spectral Doppler optical coherence tomography imaging of localized ischemic stroke in a mouse model. *Journal of Biomedical Optics*, *15*(6), 066006. <https://doi.org/10.1117/1.3505016>
- Yu, L., Rao, B., Zhang, J., Su, J., Wang, Q., Guo, S., & Chen, Z. (2007). Improved lateral resolution in optical coherence tomography by digital focusing using two-dimensional numerical diffraction method. *Optics Express*, *15*(12), 7634. <https://doi.org/10.1364/OE.15.007634>
- Yun, S., Tearney, G., Bouma, B., Park, B., & de Boer, J. (2003). High-speed spectral-domain optical coherence tomography at 13 μ m wavelength. *Optics Express*, *11*(26), 3598. <https://doi.org/10.1364/OE.11.003598>
- Zagaynova, E., Gladkova, N., Shakhova, N., Gelikonov, G., & Gelikonov, V. (2008). Endoscopic OCT with forward-looking probe: clinical studies in urology and gastroenterology. *Journal of Biophotonics*, *1*(2), 114–128. <https://doi.org/10.1002/jbio.200710017>
- Zeng, L., He, X., Wang, Y., Tang, Y., Zheng, C., Cai, H., ... Yang, G.-Y. (2014). MicroRNA-210 overexpression induces angiogenesis and neurogenesis in the normal adult mouse brain. *Gene Therapy*, *21*(1), 37–43. <https://doi.org/10.1038/gt.2013.55>
- Zhang, A., Zhang, Q., Chen, C.-L., & Wang, R. K. (2015). Methods and algorithms for optical coherence tomography-based angiography: a review and comparison. *Journal of Biomedical Optics*, *20*(10), 100901. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.10.100901>
- Zhang, C., Tabatabaei, M., Bélanger, S., Girouard, H., Moeini, M., Lu, X., & Lesage, F. (2017). Astrocytic endfoot Ca^{2+} correlates with parenchymal vessel responses during

4-AP induced epilepsy: An in vivo two-photon lifetime microscopy study. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 0271678X1772541. <https://doi.org/10.1177/0271678X17725417>

Zhang, H., Sun, A., Shen, Y., Jia, J., Wang, S., Wang, K., & Ge, J. (2004). Artery interposed to vein did not develop atherosclerosis and underwent atrophic remodeling in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*, 177(1), 37–41. <https://doi.org/10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2004.06.019>

Zhang, J., & Chen, Z. (2005). In vivo blood flow imaging by a swept laser source based Fourier domain optical Doppler tomography. *Optics Express*, 13(19), 7449–7457. <https://doi.org/10.1364/opex.13.007449>

Zhao, Y., Chen, Z., Ding, Z., Ren, H., & Nelson, J. S. (2002). Real-time phase-resolved functional optical coherence tomography by use of optical Hilbert transformation. *Optics Letters*, 27(2), 98–100. <https://doi.org/10.1364/ol.27.000098>

Zhao, Y., Chen, Z., Saxer, C., Xiang, S., de Boer, J. F., & Nelson, J. S. (2000). Phase-resolved optical coherence tomography and optical Doppler tomography for imaging blood flow in human skin with fast scanning speed and high velocity sensitivity. *Optics Letters*, 25(2), 114. <https://doi.org/10.1364/OL.25.000114>

CHAPITRE 6 DISCUSSION GÉNÉRALE

Cette thèse, constituée de trois projets, est axée sur le développement des outils d'imagerie optique pour étudier les maladies vasculaires (l'athérosclérose et l'AVC ischémique). Couplée avec d'autres modalités d'imagerie optique, la tomographie en cohérence optique était largement exploitée à travers tous les trois projets.

6.1 Objectif 1

Le premier projet consiste à concevoir et construire un système d'imagerie optique intravasculaire qui peut servir à détecter et caractériser la plaque d'athérosclérose. Ce système d'imagerie combine deux modalités d'imagerie optique : tomographie en cohérence optique (OCT), qui fournit des informations anatomiques, et imagerie moléculaire par fluorescence proche infrarouge (NIRF), qui fournit des informations sur les composants moléculaires. Le cathéter intravasculaire est basé sur une fibre optique double-gaine (DCF) qui collecte le signal OCT et le signal de fluorescence séparément avec ses deux canaux. Le premier canal est le cœur monomode de la DCF qui transmet le signal OCT, et le deuxième canal est la gaine interne multimode qui transmet le signal de fluorescence. Dans notre système, nous avons exploité une nouvelle technique de détection de fluorescence en utilisant une diode à avalanche monophotonique (SPAD). Ce module de détection de photon peut être activé et désactivé rapidement (80 MHz) par un signal de déclenchement externe. Un circuit de délais est intégré dans le système afin d'aligner les fenêtres actives du SPAD avec l'arrivée des photons fluorescents tout en écartant les photons qui constituent le bruit de fond. L'expérience *ex vivo* a été menée pour comparer cette nouvelle technique de détection (détection en mode de déclenchement rapide) avec la technique conventionnelle (détection en mode continu). La détection en mode de déclenchement rapide a considérablement augmenté le rapport signal sur bruit (RSB) et la sensibilité moléculaire en comparaison avec la détection en mode continu. La capacité d'imagerie bimodale, le mécanisme de ce système d'imagerie intravasculaire et la robustesse du cathéter ont été validés *ex vivo* avec un fantôme imitant le vaisseau sanguin. Le système d'imagerie a réussi à produire des images fusionnées qui fournissent des informations anatomiques et moléculaires en même temps. Les deux inclusions diffusantes

dans la paroi du fantôme ont été détectées, et celle contenant du liquide fluorescent a été identifiée. Dans cette expérience plus réaliste, la détection de fluorescence en mode de déclenchement rapide a de nouveau montré une meilleure performance que la détection en mode continu. La grande difficulté éprouvée dans ce projet était la fabrication des cathéters intravasculaires miniaturisés, dont le processus s'est étalé en moyenne sur 4 jours. À l'intérieur du cathéter, les composants optiques ont été assemblés à l'aide de la colle optique. Bien que l'indice de réfraction de la colle optique soit proche de celui du verre, la réflexion de la lumière par les interfaces entre les composants optiques (fibre optique, lentille barreau et prisme) n'était pas négligeable dans le signal de l'OCT. Car le signal provenant de l'échantillon lui-même était faible et les interfaces se trouvaient à l'intérieur de la plage de l'imagerie OCT. Par conséquent, la multi-réflexion causait des artefacts se superposant sur de vraies structures de l'échantillon et diminuait considérablement le RSB des images OCT. Dans le futur, on pourrait remplacer la lentille barreau standard commerciale par une lentille barreau personnalisée avec un angle, car la surface proche de la lentille barreau a été identifiée comme le principal réflecteur à l'intérieur du cathéter.

6.2 Objectif 2

Le deuxième projet a pour l'objectif d'étudier les impacts de l'athérosclérose sur l'hémodynamique cérébrale, la microvascularisation cérébrale et l'oxygénation du tissu cérébral chez un modèle de souris athérosclérotique en exploitant de multiples techniques d'imagerie optique, y compris l'imagerie intrinsèque optique (ISOI), Doppler OCT et microscopie à deux photons. Ces souris transgéniques développent spontanément l'athérosclérose après l'âge de 6 mois. Elles ont été divisées en deux groupes selon l'âge, souris jeunes (3 mois) qui n'ont pas encore développé l'athérosclérose, et souris âgées (12 mois) chez lesquelles la maladie athérosclérotique était déjà pleinement présente. Selon les données de l'imagerie intrinsèque optique, les réponses hémodynamiques dans le cortex somatosensoriel à la stimulation de vibrisse chez les souris ATX âgées sont significativement plus faibles que celles chez les souris ATX jeunes. Doppler OCT a montré que le diamètre des artérioles descendantes et le flux sanguin y associé ont diminué en comparaison des souris ATX jeunes. En revanche, il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes de souris pour le diamètre des venules ascendantes et

leur flux sanguin associé. La microscopie à deux photons a été utilisée pour mesurer l'oxygénation tissulaire et évaluer l'anatomie et la fonction capillaire. La pression partielle d'oxygène (PO₂) dans le cortex des souris ATX âgées a été trouvée significativement plus basse que celle chez les souris ATX jeunes. De plus, les souris âgées avaient un pattern de PO₂ significativement plus hétérogène que les souris jeunes. Concernant les paramètres des capillaires, le flux de globules rouges, la vitesse des globules rouges, et l'hématocrite des souris âgées ont tous diminué par rapport aux souris jeunes. Pourtant, le diamètre des capillaires des souris âgées a augmenté comparativement avec celui des souris jeunes. Une des limitations de cette étude est que nous n'avons pas inclus de souris de type naturel d'âge correspondant dans nos expériences. Bien que nous ayons essayé de minimiser l'effet d'âge en utilisant les souris ATX de 12 mois comme le groupe âgé (dans la plupart des études, des groupes âgés sont normalement constitués des souris de 24 mois), nous ne pouvons pas complètement éliminer les effets du vieillissement sur l'altération anatomique et fonctionnelle de la microvascularisation cérébrale chez les souris ATX âgées. Dans notre étude, la mesure de la PO₂ et des paramètres capillaires n'est pas allée plus profond que 200 µm. Dans le futur, il serait intéressant de prendre des mesures dans les couches corticales plus profondes où nous nous attendons à des impacts de l'athérosclérose plus sévères sur la microvascularisation et l'approvisionnement d'oxygène au tissu cérébral.

6.3 Objectif 3

Le troisième projet vise à développer un système OCT compatible avec l'imagerie du cerveau des petits animaux, et ensuite étudier le rétablissement du tissu cérébral et la régénération microvasculaire pendant 28 jours après l'accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique. Nous avons également étudié les événements de blocage capillaire, qui sont définis comme l'arrêt complet du flux de globules rouges. Largement causé par l'adhésion des neutrophiles, les événements de blocage capillaire pourraient servir de manière indirecte à évaluer l'inflammation post-AVC. Notre modèle de souris de l'AVC a été créé par la photo-thrombose, qui introduisait précisément la lésion ischémique dans une région désirée en bloquant en permanence des capillaires locaux. Dans notre étude, le tissu cérébral proche de la surface a été trouvé intact et la lésion ischémique n'a commencé qu'à partir d'une certaine profondeur (~200 µm). Cette observation suggère que le tissu profond

est plus susceptible d'être endommagé que le tissu superficiel pendant l'ischémie cérébrale. Nous avons également constaté que le profil coronal de la lésion avait une forme de cloche : plus la lésion était profonde, plus sa surface transversale était grande. Cela pourrait être dû au fait que la vulnérabilité du tissu augmente avec la profondeur. Mais la diffusion du laser vert pendant la photo-thrombose pourrait aussi jouer un rôle. Le réseau capillaire s'est régénéré graduellement en parallèle avec la réparation du tissu cérébral. Les capillaires avançaient vers le centre de la région ischémique lorsque la lésion se rétrécissait. La nouvelle vascularisation post-AVC était hautement organisée : une grande portion des capillaires se sont étendus vers le centre de la lésion. Cette tendance a augmenté au cours des 28 jours à la suite de la photo-thrombose. La façon dont le réseau capillaire était organisé pourrait servir à mieux irriguer le tissu ischémique et faciliter la migration des neuroblastes. Nous avons observé que la profondeur avait un impact sur le degré de la réorganisation de la microvascularisation autour de la lésion : les capillaires profonds dans le cortex étaient mieux orientés vers le centre de la région ischémique que ceux qui se situaient proche de la surface corticale. Nous avons également découvert que l'AVC ischémique a considérablement augmenté les événements de blocage capillaire en termes de densité et d'incidence. Une étude a démontré que chez un modèle de souris de la maladie d'Alzheimer, le blocage capillaire a réduit significativement le débit sanguin cérébral et avait un impact néfaste sur les fonctions cognitives (Cruz Hernández et al., 2019). Avec un raisonnement similaire, il pourrait ainsi être utile de cibler le blocage capillaire post-AVC dans le développement des nouveaux traitements pour l'AVC. Dans notre étude, le processus de photo-thrombose a été surveillé avec l'imagerie de laser speckle. Pourtant, l'imagerie de laser speckle n'est pas capable d'évaluer la formation de la lésion ischémique en temps réel. La taille de la lésion ischémique a beaucoup varié parmi les cinq souris étudiées, bien que les souris aient eu injectées de la même quantité de Rose Bengal et exposées à la même puissance de laser vert pendant une même période de temps. Une solution intuitive serait d'intégrer le montage de photo-thrombose dans le système OCT, car l'OCT a la capacité d'évaluer en temps réel la lésion ischémique dans le tissu parenchymateux comme montré dans notre étude. Concernant l'analyse de blocage capillaire, l'arrêt du flux de globules rouges était identifié et compté visuellement. Cette méthode manuelle est laborieuse. La prochaine étape pourrait être de développer des

techniques automatiques ou semi-automatiques pour faciliter la détection de blocage capillaire. D'ailleurs, cette étude s'est concentrée plutôt sur le rétablissement du tissu ischémique et la régénération microvasculaire dans le cortex sans évaluer les fonctions cognitives. Dans le futur, des tests comportementaux pourraient être effectués pour étudier la corrélation entre la récupération fonctionnelle et la réparation tissulaire et microvasculaire à la suite de l'AVC ischémique.

CHAPITRE 7 CONCLUSION

Premièrement, nous avons conçu et développé un système d'imagerie intravasculaire à double modalité, qui combine l'OCT et la NIRF. Le cathéter personnalisé a été fabriqué avec une fibre à double gaine dans le laboratoire par nous-même. Il possède deux canaux pour collecter le signal OCT et le signal de fluorescence simultanément, ce qui assure un alignement parfait entre l'image OCT et l'image de fluorescence. Nous avons mis en application une nouvelle technique de détection de photons dans notre système, le mode de déclenchement rapide. Cette nouvelle méthode de détection de fluorescence a significativement augmenté le rapport signal sur bruit et la sensibilité en profondeur par comparaison avec la méthode conventionnelle, la détection en mode continu. L'expérience *ex vivo* a validé le mécanisme et le logiciel d'acquisition de notre système d'imagerie intravasculaire. Avec de futures améliorations au niveau du cathéter, notre système a un grand potentiel d'utilisation pour étudier *in vivo* la plaque d'athérosclérose à l'intérieur des artères coronaires.

Dans le deuxième projet, nous avons démontré les effets néfastes de la maladie d'athérosclérose sur l'anatomie et la fonction de la vascularisation et l'oxygénation du tissu cérébrale. La présence de l'athérosclérose diminue significativement la réponse hémodynamique à la stimulation sensorielle. Les artérioles descendantes subissent une altération structurelle et fonctionnelle à cause de l'athérosclérose tandis que les venules ascendantes ne sont pas affectées. L'athérosclérose diminue la vitesse et le flux de globules rouges dans les capillaires, et augmente l'hétérogénéité du temps de transit capillaire. L'altération des artérioles et des capillaires entraîne une diminution de l'apport en oxygène, ce qui amène l'hypoxie dans le tissu cérébral. En même temps, des capillaires se dilatent avec la présence de l'athérosclérose, ce qui pourrait être un mécanisme pour compenser en partie la perte du débit sanguin associée à cette maladie.

Le troisième projet a exploré le rétablissement du tissu endommagé et la régénération microvasculaire à la suite d'un accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique introduit par la photo-thrombose. L'OCT-angiographie renforce le contraste entre la région ischémique et la région intacte, ce qui facilite la délimitation du tissu endommagé. Bien que tous les capillaires aient été occlus à l'intérieur de la zone d'illumination à toutes les

profondeurs, l'endommagement du tissu cérébral ne s'est produit qu'à partir d'une certaine profondeur et le tissu superficiel proche de la surface corticale n'a pas été altéré. Cette observation suggère que le tissu profond est plus vulnérable dans un AVC ischémique. Le tissu endommagé se répare et la lésion ischémique se rétrécit au cours de la phase de rétablissement. Ce processus est accompagné par la régénération de la vascularisation. Les capillaires nouvellement générés s'étalent vers le centre de la lésion ischémique et forment une structure hautement organisée et directionnelle. Le degré d'organisation de la structure du réseau capillaire post-AVC est corrélé avec la profondeur : plus la microvascularisation se trouve profond, mieux la structure du réseau capillaire est organisée, ce qui indique que la microvascularisation pourrait s'adapter au besoin d'oxygène du tissu cérébral. L'AVC ischémique augmente aussi la densité des événements de blocage capillaire et l'incidence des capillaires dans lesquels le blocage se produit. Étant donné que le blocage capillaire est probablement causé par l'adhésion des leucocytes, nous pourrions dans le futur le cibler pour étudier l'inflammation post-AVC et chercher de nouvelles stratégies de traitement pour l'AVC ischémique.

BIBLIOGRAPHIE

- Abran, M., Cloutier, G., Cardinal, M.-H. R., Chayer, B., Tardif, J.-C., & Lesage, F. (2014). Development of a Photoacoustic, Ultrasound and Fluorescence Imaging Catheter for the Study of Atherosclerotic Plaque. *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, 8(5), 696–703. <https://doi.org/10.1109/TBCAS.2014.2360560>
- An, L., Qin, J., & Wang, R. K. (2010). Ultrahigh sensitive optical microangiography for in vivo imaging of microcirculations within human skin tissue beds. *Optics Express*, 18(8), 8220–8228. <https://doi.org/10.1364/OE.18.008220>
- Angels Font, M., Arboix, A., & Krupinski, J. (2010). Angiogenesis, Neurogenesis and Neuroplasticity in Ischemic Stroke. *Current Cardiology Reviews*, 6(3), 238–244. <https://doi.org/10.2174/157340310791658802>
- Angleys, H., Østergaard, L., & Jespersen, S. N. (2015). The Effects of Capillary Transit Time Heterogeneity (*CTH*) on Brain Oxygenation. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35(5), 806–817. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.254>
- Arenillas, J. F. (2011). Intracranial Atherosclerosis: Current Concepts. *Stroke*, 42(1, Supplement 1), S20–S23. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.597278>
- Attwell, D., Buchan, A. M., Charpak, S., Lauritzen, M., MacVicar, B. A., & Newman, E. A. (2010). Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*, 468(7321), 232–243. <https://doi.org/10.1038/nature09613>
- Ayata, C., Shin, H. K., Dileköz, E., Atochin, D. N., Kashiwagi, S., Eikermann-Haerter, K., & Huang, P. L. (2013). Hyperlipidemia disrupts cerebrovascular reflexes and worsens ischemic perfusion defect. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 33(6), 954–962. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.38>
- Banerjee, C., & Chimowitz, M. I. (2017). Stroke Caused by Atherosclerosis of the Major Intracranial Arteries. *Circulation Research*, 120(3), 502–513. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308441>
- Baran, U., & Wang, R. K. (2016). Review of optical coherence tomography based

- angiography in neuroscience. *Neurophotonics*, 3(1), 010902.
<https://doi.org/10.1117/1.NPh.3.1.010902>
- Bass, J. L., Corwin, M., Gozal, D., Moore, C., Nishida, H., Parker, S., ... Kinane, T. B. (2004). The Effect of Chronic or Intermittent Hypoxia on Cognition in Childhood: A Review of the Evidence. *PEDIATRICS*, 114(3), 805–816.
<https://doi.org/10.1542/peds.2004-0227>
- Baumann, B. (2019). Optical Coherence Tomography for Brain Imaging (pp. 49–68). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9020-2_2
- Baumann, B., Pircher, M., Götzinger, E., & Hitzenberger, C. K. (2007). Full range complex spectral domain optical coherence tomography without additional phase shifters. *Optics Express*, 15(20), 13375. <https://doi.org/10.1364/OE.15.013375>
- Benfante, R., Yano, K., Hwang, L. J., Curb, J. D., Kagan, A., & Ross, W. (1994). Elevated serum cholesterol is a risk factor for both coronary heart disease and thromboembolic stroke in Hawaiian Japanese men. Implications of shared risk. *Stroke*, 25(4), 814–820. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8160226>
- Bezerra, H. G., Costa, M. A., Guagliumi, G., Rollins, A. M., & Simon, D. I. (2009). Intracoronary Optical Coherence Tomography: A Comprehensive Review. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 2(11), 1035–1046.
<https://doi.org/10.1016/j.jcin.2009.06.019>
- Blair, G. W., Hernandez, M. V., Thrippleton, M. J., Doubal, F. N., & Wardlaw, J. M. (2017). Advanced Neuroimaging of Cerebral Small Vessel Disease. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, 19(7), 56.
<https://doi.org/10.1007/s11936-017-0555-1>
- Boesen, M. E., Singh, D., Menon, B. K., & Frayne, R. (2015). A systematic literature review of the effect of carotid atherosclerosis on local vessel stiffness and elasticity. *Atherosclerosis*, 243(1), 211–222.
<https://doi.org/10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2015.09.008>
- Bolduc, V., Drouin, A., Gillis, M.-A., Duquette, N., Thorin-Trescases, N., Frayne-Robillard, I., ... Thorin, E. (2011). Heart rate-associated mechanical stress impairs

- carotid but not cerebral artery compliance in dyslipidemic atherosclerotic mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 301(5), H2081–H2092. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00706.2011>
- Bouma, B. E., Yun, S.-H., Vakoc, B. J., Suter, M. J., & Tearney, G. J. (2009). Fourier-domain optical coherence tomography: recent advances toward clinical utility. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(1), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2009.02.007>
- Bousi, E., Zouvani, I., & Pitris, C. (2017). Lateral resolution improvement of oversampled OCT images using Capon estimation of weighted subvolume contribution. *Biomedical Optics Express*, 8(3), 1319. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.001319>
- Bragin, D. E., Statom, G. L., Hagberg, S., & Nemoto, E. M. (2015). Increases in microvascular perfusion and tissue oxygenation via pulsed electromagnetic fields in the healthy rat brain. *Journal of Neurosurgery*, 122(5), 1239–1247. <https://doi.org/10.3171/2014.8.JNS132083>
- Burrill, J., Dabbagh, Z., Gollub, F., & Hamady, M. (2007). Multidetector computed tomographic angiography of the cardiovascular system. *Postgraduate Medical Journal*, 83(985), 698–704. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2007.061804>
- Calfon, M. A., Vinegoni, C., Ntziachristos, V., & Jaffer, F. A. (2010). Intravascular near-infrared fluorescence molecular imaging of atherosclerosis: toward coronary arterial visualization of biologically high-risk plaques. *Journal of Biomedical Optics*, 15(1), 11107. Retrieved from http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=20210433&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3188610/pdf/JBOPFO-000015-011107_1.pdf
- Carmichael, S. T. (2006). Cellular and molecular mechanisms of neural repair after stroke: Making waves. *Annals of Neurology*, 59(5), 735–742. <https://doi.org/10.1002/ana.20845>
- Chen, Z., & Zhang, J. (2008). Doppler Optical Coherence Tomography (pp. 621–651). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-77550-8_21

- Chen, Z., Milner, T. E., Srinivas, S., Wang, X., Malekafzali, A., van Gemert, M. J., & Nelson, J. S. (1997). Noninvasive imaging of in vivo blood flow velocity using optical Doppler tomography. *Optics Letters*, 22(14), 1119–1121. <https://doi.org/10.1364/ol.22.001119>
- Chen, Zhongping, Milner, T. E., Dave, D., & Nelson, J. S. (1997). Optical Doppler tomographic imaging of fluid flow velocity in highly scattering media. *Optics Letters*, 22(1), 64. <https://doi.org/10.1364/OL.22.000064>
- Chiribiri, A., Botnar, R. M., & Nagel, E. (2013). Magnetic resonance coronary angiography: where are we today? *Current Cardiology Reports*, 15(2), 328. <https://doi.org/10.1007/s11886-012-0328-0>
- Choi, W. J., Li, Y., & Wang, R. K. (2019). Monitoring Acute Stroke Progression: Multi-Parametric OCT Imaging of Cortical Perfusion, Flow, and Tissue Scattering in a Mouse Model of Permanent Focal Ischemia. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 38(6), 1427–1437. <https://doi.org/10.1109/TMI.2019.2895779>
- Cicinelli, P., Pasqualetti, P., Zaccagnini, M., Traversa, R., Oliveri, M., & Rossini, P. M. (2003). Interhemispheric Asymmetries of Motor Cortex Excitability in the Postacute Stroke Stage. *Stroke*, 34(11), 2653–2658. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000092122.96722.72>
- Claesson-Welsh, L. (2015). Vascular permeability--the essentials. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 120(3), 135–143. <https://doi.org/10.3109/03009734.2015.1064501>
- Cobb, M. J., Liu, X., & Li, X. (2005). Continuous focus tracking for real-time optical coherence tomography. *Optics Letters*, 30(13), 1680. <https://doi.org/10.1364/OL.30.001680>
- Cruz Hernández, J. C., Bracko, O., Kersbergen, C. J., Muse, V., Haft-Javaherian, M., Berg, M., ... Schaffer, C. B. (2019). Neutrophil adhesion in brain capillaries reduces cortical blood flow and impairs memory function in Alzheimer's disease mouse models. *Nature Neuroscience*, 22(3), 413–420. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0329-4>
- Cubeddu, R., Pifferi, A., Taroni, P., Torricelli, A., & Valentini, G. (1997). A solid tissue phantom for photon migration studies. *Physics in Medicine and Biology*, 42(10),

1971–1979. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/42/10/011>

- Curatolo, A., Munro, P. R. T., Lorensen, D., Sreekumar, P., Singe, C. C., Kennedy, B. F., & Sampson, D. D. (2016). Quantifying the influence of Bessel beams on image quality in optical coherence tomography. *Scientific Reports*, 6(1), 23483. <https://doi.org/10.1038/srep23483>
- Danad, I., Fayad, Z. A., Willemink, M. J., & Min, J. K. (2015). New Applications of Cardiac Computed Tomography. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 8(6), 710–723. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2015.03.005>
- Daugherty, A. (2002). Mouse Models of Atherosclerosis. *The American Journal of the Medical Sciences*, 323(1), 3–10. <https://doi.org/10.1097/00000441-200201000-00002>
- Davé, D. P., & Milner, T. E. (2000). Doppler-angle measurement in highly scattering media. *Optics Letters*, 25(20), 1523–1525. <https://doi.org/10.1364/ol.25.001523>
- de Boer, J. F., Hitzengerger, C. K., & Yasuno, Y. (2017). Polarization sensitive optical coherence tomography – a review [Invited]. *Biomedical Optics Express*, 8(3), 1838. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.001838>
- de Boer, J. F., Leitgeb, R., & Wojtkowski, M. (2017). Twenty-five years of optical coherence tomography: the paradigm shift in sensitivity and speed provided by Fourier domain OCT [Invited]. *Biomedical Optics Express*, 8(7), 3248–3280. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.003248>
- de Carlo, T. E., Romano, A., Waheed, N. K., & Duker, J. S. (2015). A review of optical coherence tomography angiography (OCTA). *International Journal of Retina and Vitreous*, 1(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s40942-015-0005-8>
- de Montgolfier, O., Pinçon, A., Pouliot, P., Gillis, M.-A., Bishop, J., Sled, J. G., ... Thorin, É. (2019). High Systolic Blood Pressure Induces Cerebral Microvascular Endothelial Dysfunction, Neurovascular Unit Damage, and Cognitive Decline in Mice. *Hypertension*, 73(1), 217–228. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12048>
- de Montgolfier, O., Pouliot, P., Gillis, M.-A., Ferland, G., Lesage, F., Thorin-Trescases, N., & Thorin, É. (2019). Premature vascular aging in LDLr^{-/-}:hApoB^{+/+} mice drives

disruption of the neurovascular unit leading to cognitive decline. *GeroScience*, (in press).

- Desjardins, M., Berti, R., Lefebvre, J., Dubeau, S., & Lesage, F. (2014). Aging-related differences in cerebral capillary blood flow in anesthetized rats. *Neurobiology of Aging*, 35(8), 1947–1955. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2014.01.136>
- Desjardins, M., Berti, R., Pouliot, P., Dubeau, S., & Lesage, F. (2014). Multimodal study of the hemodynamic response to hypercapnia in anesthetized aged rats. *Neuroscience Letters*, 563, 33–37. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2014.01.027>
- Devor, A., Sakadzic, S., Saisan, P. A., Yaseen, M. A., Roussakis, E., Srinivasan, V. J., ... Boas, D. A. (2011). “Overshoot” of O₂ is required to maintain baseline tissue oxygenation at locations distal to blood vessels. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(38), 13676–13681. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1968-11.2011>
- Doesch, C. (2014). Diagnosis and management of ischemic cardiomyopathy: Role of cardiovascular magnetic resonance imaging. *World Journal of Cardiology*, 6(11), 1166. <https://doi.org/10.4330/wjc.v6.i11.1166>
- Drexler, W., Morgner, U., Kärtner, F. X., Pitris, C., Boppart, S. A., Li, X. D., ... Fujimoto, J. G. (1999). In vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Optics Letters*, 24(17), 1221. <https://doi.org/10.1364/OL.24.001221>
- Drexler, Wolfgang, Morgner, U., Ghanta, R. K., Kärtner, F. X., Schuman, J. S., & Fujimoto, J. G. (2001). Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography. *Nature Medicine*, 7(4), 502–507. <https://doi.org/10.1038/86589>
- Drouin, A., Bolduc, V., Thorin-Trescases, N., Bélanger, É., Fernandes, P., Baraghis, E., ... Thorin, E. (2011). Catechin treatment improves cerebrovascular flow-mediated dilation and learning abilities in atherosclerotic mice. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 300(3), H1032-43. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00410.2010>
- Drouin, A., Farhat, N., Bolduc, V., Thorin-Trescases, N., Gillis, M.-A., Villeneuve, L., ...

- Thorin, E. (2011). Up-regulation of thromboxane A2 impairs cerebrovascular eNOS function in aging atherosclerotic mice. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, *462*(3), 371–383. <https://doi.org/10.1007/s00424-011-0973-y>
- Dubeau, S., Ferland, G., Gaudreau, P., Beaumont, E., & Lesage, F. (2011). Cerebrovascular hemodynamic correlates of aging in the Lou/c rat: A model of healthy aging. *NeuroImage*, *56*(4), 1892–1901. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2011.03.076>
- Ellulu, M. S., Patimah, I., Khaza'ai, H., Rahmat, A., Abed, Y., & Ali, F. (2016). Atherosclerotic cardiovascular disease: a review of initiators and protective factors. *Inflammopharmacology*, *24*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10787-015-0255-y>
- Emini Veseli, B., Perrotta, P., De Meyer, G. R. A., Roth, L., Van der Donckt, C., Martinet, W., & De Meyer, G. R. Y. (2017). Animal models of atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology*, *816*, 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.05.010>
- Erdener, Ş. E., Tang, J., Sajjadi, A., Kılıç, K., Kura, S., Schaffer, C. B., & Boas, D. A. (2019). Spatio-temporal dynamics of cerebral capillary segments with stalling red blood cells. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *39*(5), 886–900. <https://doi.org/10.1177/0271678X17743877>
- Faber, D. J., Mik, E. G., Aalders, M. C. G., & van Leeuwen, T. G. (2005). Toward assessment of blood oxygen saturation by spectroscopic optical coherence tomography. *Optics Letters*, *30*(9), 1015–1017. <https://doi.org/10.1364/ol.30.001015>
- Falk, E. (2006). Pathogenesis of Atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, *47*(8 Supplement), C7 LP-C12. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.09.068>
- Fan, Y., Shen, F., Frenzel, T., Zhu, W., Ye, J., Liu, J., ... Yang, G.-Y. (2010). Endothelial progenitor cell transplantation improves long-term stroke outcome in mice. *Annals of Neurology*, *67*(4), 488–497. <https://doi.org/10.1002/ana.21919>
- Fercher, A.F., Hitzenberger, C. K., Kamp, G., & El-Zaiat, S. Y. (1995). Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry. *Optics Communications*, *117*(1–2), 43–48. [https://doi.org/10.1016/0030-4018\(95\)00119-S](https://doi.org/10.1016/0030-4018(95)00119-S)

- Fercher, Adolf F., Leitgeb, R., Hitzinger, C. K., Sattmann, H., & Wojtkowski, M. (1998). Complex spectral interferometry OCT. In G. B. Altshuler, S. Andersson-Engels, R. Birngruber, P. Bjerring, A. F. Fercher, H. J. Geschwind, ... H. J. C. M. Sterenborg (Eds.), *Complex spectral interferometry OCT* (Vol. 3564, pp. 173–178). International Society for Optics and Photonics. <https://doi.org/10.1117/12.339152>
- Finikova, O. S., Lebedev, A. Y., Aprelev, A., Troxler, T., Gao, F., Garnacho, C., ... Vinogradov, S. A. (2008). Oxygen Microscopy by Two-Photon-Excited Phosphorescence. *ChemPhysChem*, 9(12), 1673–1679. <https://doi.org/10.1002/cphc.200800296>
- Flaherty, M. L., Kissela, B., Khoury, J. C., Alwell, K., Moomaw, C. J., Woo, D., ... Kleindorfer, D. (2013). Carotid artery stenosis as a cause of stroke. *Neuroepidemiology*, 40(1), 36–41. <https://doi.org/10.1159/000341410>
- Fluri, F., Schuhmann, M. K., & Kleinschnitz, C. (2015). Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 3445–3454. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S56071>
- Foley, J. R. J., Plein, S., & Greenwood, J. P. (2017). Assessment of stable coronary artery disease by cardiovascular magnetic resonance imaging: Current and emerging techniques. *World Journal of Cardiology*, 9(2), 92–108. <https://doi.org/10.4330/wjc.v9.i2.92>
- Frangi, A. F., Niessen, W. J., Vincken, K. L., & Viergever, M. A. (1998). Multiscale vessel enhancement filtering (pp. 130–137). Springer, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/BFb0056195>
- Fujimoto, J. G., Pitris, C., Boppart, S. A., & Brezinski, M. E. (2000). Optical coherence tomography: an emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 2(1–2), 9–25. <https://doi.org/10.1038/sj.neo.7900071>
- Garcia-Garcia, H. M., Costa, M. A., & Serruys, P. W. (2010). Imaging of coronary atherosclerosis: intravascular ultrasound. *European Heart Journal*, 31(20), 2456–2469. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehq280>
- García-García, H. M., Mintz, G. S., Lerman, A., Vince, D. G., Margolis, M. P., van Es, G.-

- A., ... Serruys, P. W. (2009). Tissue characterisation using intravascular radiofrequency data analysis: recommendations for acquisition, analysis, interpretation and reporting. *EuroIntervention : Journal of EuroPCR in Collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology*, 5(2), 177–189. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20449928>
- Gerega, A., Zolek, N., Soltysinski, T., Milej, D., Sawosz, P., Toczyłowska, B., & Liebert, A. (2011). Wavelength-resolved measurements of fluorescence lifetime of indocyanine green. *Journal of Biomedical Optics*, 16(6), 067010. <https://doi.org/10.1117/1.3593386>
- Good, D. C. (1990). *Cerebrovascular Disease*. (W. HK, H. WD, & H. JW, Eds.), *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations* (3rd ed.). Boston: Butterworths. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21250219>
- Göttinger, E., Pircher, M., Leitgeb, R. A., & Hitzenberger, C. K. (2005). High speed full range complex spectral domain optical coherence tomography. *Optics Express*, 13(2), 583. <https://doi.org/10.1364/OPEX.13.000583>
- Gould, I. G., Tsai, P., Kleinfeld, D., & Linninger, A. (n.d.). The capillary bed offers the largest hemodynamic resistance to the cortical blood supply. <https://doi.org/10.1177/0271678X16671146>
- Hadjistassou, C., Bejan, A., & Ventikos, Y. (2015). Cerebral oxygenation and optimal vascular brain organization. *Journal of the Royal Society, Interface*, 12(107). <https://doi.org/10.1098/rsif.2015.0245>
- Haffner, C., Malik, R., & Dichgans, M. (2016). Genetic factors in cerebral small vessel disease and their impact on stroke and dementia. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 36(1), 158–171. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.71>
- Hakon, J., Quattromani, M. J., Sjölund, C., Tomasevic, G., Carey, L., Lee, J.-M., ... Bauer, A. Q. (2018). Multisensory stimulation improves functional recovery and resting-state functional connectivity in the mouse brain after stroke. *NeuroImage: Clinical*, 17,

717–730. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.11.022>

- Hall, C. N., Reynell, C., Gesslein, B., Hamilton, N. B., Mishra, A., Sutherland, B. A., ... Attwell, D. (2014). Capillary pericytes regulate cerebral blood flow in health and disease. *Nature*, *508*(7494), 55–60. <https://doi.org/10.1038/nature13165>
- Hannah, R., & Max, R. (2017). Causes of death. Published online at OurWorldInData.org. Retrieved from <https://ourworldindata.org/causes-of-death>
- Hara, Y. (2015). Brain Plasticity and Rehabilitation in Stroke Patients. *Journal of Nippon Medical School*, *82*(1), 4–13. <https://doi.org/10.1272/jnms.82.4>
- Harrison, T. C., Silasi, G., Boyd, J. D., & Murphy, T. H. (2013). Displacement of Sensory Maps and Disorganization of Motor Cortex After Targeted Stroke in Mice. *Stroke*, *44*(8), 2300–2306. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001272>
- Häusler, G., & Lindner, M. W. (1998). “Coherence Radar” and “Spectral Radar”—New Tools for Dermatological Diagnosis. *Journal of Biomedical Optics*, *3*(1), 21. <https://doi.org/10.1117/1.429899>
- Head, T., Daunert, S., & Goldschmidt-Clermont, P. J. (2017). The Aging Risk and Atherosclerosis: A Fresh Look at Arterial Homeostasis. *Frontiers in Genetics*, *8*, 216. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00216>
- Heit, J. J., & Wintermark, M. (2016). Perfusion Computed Tomography for the Evaluation of Acute Ischemic Stroke. *Stroke*, *47*(4), 1153–1158. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.011873>
- Hilderbrand, S. A., & Weissleder, R. (2010). Near-infrared fluorescence: application to in vivo molecular imaging. *Current Opinion in Chemical Biology*, *14*(1), 71–79. <https://doi.org/10.1016/J.CBPA.2009.09.029>
- Hillman, E. M. C. (2007). Optical brain imaging in vivo: techniques and applications from animal to man. *Journal of Biomedical Optics*, *12*(5), 051402. <https://doi.org/10.1117/1.2789693>
- Huang, D., Swanson, E., Lin, C., Schuman, J., Stinson, W., Chang, W., ... Et, A. (1991). Optical coherence tomography. *Science*, *254*(5035), 1178–1181.

<https://doi.org/10.1126/science.1957169>

- Huber, R., Wojtkowski, M., Fujimoto, J. G., Jiang, J. Y., & Cable, A. E. (2005). Three-dimensional and C-mode OCT imaging with a compact, frequency swept laser source at 1300 nm. *Optics Express*, *13*(26), 10523. <https://doi.org/10.1364/OPEX.13.010523>
- Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME). (2018). Global Burden of Disease Collaborative Network. Global Burden of Disease Study 2016 (GBD 2016) Results. Retrieved from <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool>
- Itoh, Y., & Suzuki, N. (2012a). Control of brain capillary blood flow. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *32*(7), 1167–1176. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.5>
- Itoh, Y., & Suzuki, N. (2012b). Control of brain capillary blood flow. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *32*(7), 1167–1176. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.5>
- Izatt, J. A., Kulkarni, M. D., Yazdanfar, S., Barton, J. K., & Welch, A. J. (1997). In vivo bidirectional color Doppler flow imaging of picoliter blood volumes using optical coherence tomography. *Optics Letters*, *22*(18), 1439–1441. <https://doi.org/10.1364/ol.22.001439>
- Jang, I.-K., Bouma, B. E., Kang, D.-H., Park, S.-J., Park, S.-W., Seung, K.-B., ... Tearney, G. J. (2002). Visualization of coronary atherosclerotic plaques in patients using optical coherence tomography: comparison with intravascular ultrasound. *Journal of the American College of Cardiology*, *39*(4), 604–609. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01799-5](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01799-5)
- Jang, I.-K., Tearney, G. J., MacNeill, B., Takano, M., Moselewski, F., Iftima, N., ... Bouma, B. E. (2005). In Vivo Characterization of Coronary Atherosclerotic Plaque by Use of Optical Coherence Tomography. *Circulation*, *111*(12), 1551–1555. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000159354.43778.69>
- Janssen, B. J. A., De Celle, T., Debets, J. J. M., Brouns, A. E., Callahan, M. F., & Smith, T. L. (2004). Effects of anesthetics on systemic hemodynamics in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *287*(4), H1618–H1624. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01192.2003>

- Jickling, G. C., Liu, D., Ander, B. P., Stamova, B., Zhan, X., & Sharp, F. R. (2015). Targeting Neutrophils in Ischemic Stroke: Translational Insights from Experimental Studies. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35(6), 888–901. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.45>
- Jonathan, E., Enfield, J., & Leahy, M. J. (2010). Correlation mapping method for generating microcirculation morphology from optical coherence tomography (OCT) intensity images. *Journal of Biophotonics*, 4(9), n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/jbio.201000103>
- Kalaria, R. N. (2012). Cerebrovascular Disease and Mechanisms of Cognitive Impairment. *Stroke*, 43(9), 2526–2534. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.112.655803>
- Kalaria, R. N., & Ballard, C. (2001). Stroke and cognition. *Current Atherosclerosis Reports*, 3(4), 334–339. <https://doi.org/10.1007/s11883-001-0028-5>
- Kehl, F., Shen, H., Moreno, C., Farber, N. E., Roman, R. J., Kampine, J. P., & Hudetz, A. G. (2002). Isoflurane-induced cerebral hyperemia is partially mediated by nitric oxide and epoxyeicosatrienoic acids in mice in vivo. *Anesthesiology*, 97(6), 1528–1533. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12459681>
- Kim, J., Brown, W., Maher, J. R., Levinson, H., & Wax, A. (2015). Functional optical coherence tomography: principles and progress. *Physics in Medicine and Biology*, 60(10), R211–37. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/60/10/R211>
- Kini, A. S., Vengrenyuk, Y., Yoshimura, T., Matsumura, M., Pena, J., Baber, U., ... Narula, J. (2017). Fibrous Cap Thickness by Optical Coherence Tomography In Vivo. *Journal of the American College of Cardiology*, 69(6), 644–657. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.10.028>
- Kojima, T., Hirota, Y., Ema, M., Takahashi, S., Miyoshi, I., Okano, H., & Sawamoto, K. (2010). Subventricular Zone-Derived Neural Progenitor Cells Migrate Along a Blood Vessel Scaffold Toward the Post-Stroke Striatum. *STEM CELLS*, 28(3), N/A-N/A. <https://doi.org/10.1002/stem.306>
- Koren-Morag, N., Tanne, D., Graff, E., & Goldbourt, U. (2002). Low- and High-Density Lipoprotein Cholesterol and Ischemic Cerebrovascular Disease. *Archives of Internal*

Medicine, 162(9), 993. <https://doi.org/10.1001/archinte.162.9.993>

- Kraft, P., Schuhmann, M. K., Garz, C., Jandke, S., Urlaub, D., Mencl, S., ... Schreiber, S. (2017). Hypercholesterolemia induced cerebral small vessel disease. *PLoS One*, 12(8), e0182822. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182822>
- Kraus, M. F., Potsaid, B., Mayer, M. A., Bock, R., Baumann, B., Liu, J. J., ... Fujimoto, J. G. (2012). Motion correction in optical coherence tomography volumes on a per A-scan basis using orthogonal scan patterns. *Biomedical Optics Express*, 3(6), 1182. <https://doi.org/10.1364/BOE.3.001182>
- Kubo, T., Imanishi, T., Takarada, S., Kuroi, A., Ueno, S., Yamano, T., ... Akasaka, T. (2007). Assessment of Culprit Lesion Morphology in Acute Myocardial Infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 50(10), 933–939. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.04.082>
- Kume, T., Akasaka, T., Kawamoto, T., Ogasawara, Y., Watanabe, N., Toyota, E., ... Yoshida, K. (2006). Assessment of Coronary Arterial Thrombus by Optical Coherence Tomography. *The American Journal of Cardiology*, 97(12), 1713–1717. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.01.031>
- Larin, K. V., & Sampson, D. D. (2017). Optical coherence elastography – OCT at work in tissue biomechanics [Invited]. *Biomedical Optics Express*, 8(2), 1172. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.001172>
- Lee, J. H., Han, D., Danad, I., Hartaigh, B. Ó., Lin, F. Y., & Min, J. K. (2016). Multimodality Imaging in Coronary Artery Disease: Focus on Computed Tomography. *Journal of Cardiovascular Ultrasound*, 24(1), 7–17. <https://doi.org/10.4250/jcu.2016.24.1.7>
- Lee, J. M., Grabb, M. C., Zipfel, G. J., & Choi, D. W. (2000). Brain tissue responses to ischemia. *The Journal of Clinical Investigation*, 106(6), 723–731. <https://doi.org/10.1172/JCI11003>
- Lee, J., Srinivasan, V., Radhakrishnan, H., & Boas, D. A. (2011). Motion correction for phase-resolved dynamic optical coherence tomography imaging of rodent cerebral cortex. *Optics Express*, 19(22), 21258. <https://doi.org/10.1364/OE.19.021258>

- Lee, Y. T., Lin, H. Y., Chan, Y. W. F., Li, K. H. C., To, O. T. L., Yan, B. P., ... Tse, G. (2017). Mouse models of atherosclerosis: a historical perspective and recent advances. *Lipids in Health and Disease*, *16*(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0402-5>
- Lefebvre, J., Castonguay, A., & Lesage, F. (2018). Imaging whole mouse brains with a dual resolution serial swept-source optical coherence tomography scanner. In Q. Luo & J. Ding (Eds.), *Neural Imaging and Sensing 2018* (Vol. 10481, p. 12). SPIE. <https://doi.org/10.1117/12.2288521>
- Leitgeb, R. A., Villiger, M., Bachmann, A. H., Steinmann, L., & Lasser, T. (2006). Extended focus depth for Fourier domain optical coherence microscopy. *Optics Letters*, *31*(16), 2450. <https://doi.org/10.1364/OL.31.002450>
- Leitgeb, R., Hitzengerger, C., & Fercher, A. (2003). Performance of fourier domain vs time domain optical coherence tomography. *Optics Express*, *11*(8), 889. <https://doi.org/10.1364/OE.11.000889>
- Leitgeb, Rainer A., Hitzengerger, C. K., Fercher, A. F., & Bajraszewski, T. (2003). Phase-shifting algorithm to achieve high-speed long-depth-range probing by frequency-domain optical coherence tomography. *Optics Letters*, *28*(22), 2201. <https://doi.org/10.1364/OL.28.002201>
- Leitgeb, Rainer A., Werkmeister, R. M., Blatter, C., & Schmetterer, L. (2014). Doppler Optical Coherence Tomography. *Progress in Retinal and Eye Research*, *41*, 26–43. <https://doi.org/10.1016/J.PRETEYERES.2014.03.004>
- Leitgeb, Rainer A, Schmetterer, L., Hitzengerger, C. K., Fercher, A. F., Berisha, F., Wojtkowski, M., & Bajraszewski, T. (2004). Real-time measurement of in vitro flow by Fourier-domain color Doppler optical coherence tomography. *OPTICS LETTERS*, *29*(2). <https://doi.org/10.1364/OL.29.000171>
- Leitgeb, Rainer, Schmetterer, L. F., Wojtkowski, M., Hitzengerger, C. K., Sticker, M., & Fercher, A. F. (2002). Flow velocity measurements by frequency domain short coherence interferometry. In V. V. Tuchin, J. A. Izatt, & J. G. Fujimoto (Eds.) (Vol. 4619, p. 16). International Society for Optics and Photonics. <https://doi.org/10.1117/12.470477>

- Lexer, F., Hitzengerger, C. K., Drexler, W., Molebny, S., Sattmann, H., Sticker, M., & Fercher, A. F. (1999). Dynamic coherent focus OCT with depth-independent transversal resolution. *Journal of Modern Optics*, *46*(3), 541–553. <https://doi.org/10.1080/09500349908231282>
- Lin, A., Rawal, S., Agid, R., & Mandell, D. M. (2018). Cerebrovascular Imaging: Which Test is Best? *Neurosurgery*, *83*(1), 5–18. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyx325>
- Lindenstrøm, E., Boysen, G., & Nyboe, J. (1994). Influence of total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, and triglycerides on risk of cerebrovascular disease: the Copenhagen City Heart Study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, *309*(6946), 11–15. <https://doi.org/10.1136/bmj.309.6946.11>
- Liu, G., & Chen, Z. (2013). Advances in Doppler OCT. *Chinese Optics Letters : COL*, *11*(1), 11702. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24443649>
- Lorenser, D., Yang, X., & Sampson, D. D. (2012). Ultrathin fiber probes with extended depth of focus for optical coherence tomography. *Optics Letters*, *37*(10), 1616. <https://doi.org/10.1364/OL.37.001616>
- Lu, C.-W., Lee, C.-K., Tsai, M.-T., Wang, Y.-M., & Yang, C. C. (2008). Measurement of the hemoglobin oxygen saturation level with spectroscopic spectral-domain optical coherence tomography. *Optics Letters*, *33*(5), 416–418. <https://doi.org/10.1364/ol.33.000416>
- Lücker, A., Secomb, T. W., Weber, B., & Jenny, P. (2017). The relative influence of hematocrit and red blood cell velocity on oxygen transport from capillaries to tissue. *Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)*, *24*(3). <https://doi.org/10.1111/micc.12337>
- Lücker, A., Secomb, T. W., Weber, B., & Jenny, P. (2018). The Relation Between Capillary Transit Times and Hemoglobin Saturation Heterogeneity. Part 1: Theoretical Models. *Frontiers in Physiology*, *9*, 420. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00420>
- Makita, S., Fabritius, T., & Yasuno, Y. (2008a). Full-range, high-speed, high-resolution 1- μm spectral-domain optical coherence tomography using BM-scan for volumetric imaging of the human posterior eye. *Optics Express*, *16*(12), 8406.

<https://doi.org/10.1364/OE.16.008406>

- Makita, S., Fabritius, T., & Yasuno, Y. (2008b). Quantitative retinal-blood flow measurement with three-dimensional vessel geometry determination using ultrahigh-resolution Doppler optical coherence angiography. *Optics Letters*, 33(8), 836. <https://doi.org/10.1364/OL.33.000836>
- Makita, S., Hong, Y., Yamanari, M., Yatagai, T., & Yasuno, Y. (2006). Optical coherence angiography. *Optics Express*, 14(17), 7821. <https://doi.org/10.1364/OE.14.007821>
- Mancini, G. B. J., Gosselin, G., Chow, B., Kostuk, W., Stone, J., Yvorchuk, K. J., ... Zimmermann, R. (2014). Canadian Cardiovascular Society Guidelines for the Diagnosis and Management of Stable Ischemic Heart Disease. *Canadian Journal of Cardiology*, 30(8), 837–849. <https://doi.org/10.1016/J.CJCA.2014.05.013>
- Mariampillai, A., Leung, M. K. K., Jarvi, M., Standish, B. A., Lee, K., Wilson, B. C., ... Yang, V. X. D. (2010). Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Optics Letters*, 35(8), 1257. <https://doi.org/10.1364/OL.35.001257>
- Mariampillai, A., Standish, B. A., Moriyama, E. H., Khurana, M., Munce, N. R., Leung, M. K. K., ... Yang, V. X. D. (2008). Speckle variance detection of microvasculature using swept-source optical coherence tomography. *Optics Letters*, 33(13), 1530. <https://doi.org/10.1364/OL.33.001530>
- Masamoto, K., & Kanno, I. (2012). Anesthesia and the quantitative evaluation of neurovascular coupling. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 32(7), 1233–1247. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.50>
- Matta, B. F., Ch, M. B. B., Heath, K. J., Tipping, K., & Summors, A. C. (1999). Direct Cerebral Vasodilatory Effects of Sevoflurane and Isoflurane. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 91(3), 677–680. Retrieved from https://watermark.silverchair.com/0000542-199909000-00019.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485y sgAAAf0wggH5BgkqhkiG9w0BBwagggHqMIIB5gIBADCCAd8GCSqGSIB3DQE HATAeBglghkgBZQMEAS4wEQQMP0kSuibJdPyOrYdnAgEQgIIBsLmP-

pZHoJaMERcQ9vjvdoHoeKKgzjF

- Matthews, S. D., & Frishman, W. H. (2017). A Review of the Clinical Utility of Intravascular Ultrasound (IVUS) and Optical Coherence Tomography (OCT) in the Assessment and Treatment of Coronary Artery Disease. *Cardiology in Review*, 1. <https://doi.org/10.1097/CRD.0000000000000128>
- Mintz, G. S., & Guagliumi, G. (2017). Intravascular imaging in coronary artery disease. *The Lancet*, 390(10096), 793–809. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31957-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31957-8)
- Miura, M., Makita, S., Iwasaki, T., & Yasuno, Y. (2012). An Approach to Measure Blood Flow in Single Choroidal Vessel Using Doppler Optical Coherence Tomography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53(11), 7137. <https://doi.org/10.1167/iovs.12-10666>
- Moeini, M., Lu, X., Avti, P. K., Damseh, R., Bélanger, S., Picard, F., ... Lesage, F. (2018). Compromised microvascular oxygen delivery increases brain tissue vulnerability with age. *Scientific Reports*, 8(1), 8219. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26543-w>
- Mok, V. C. T., Lam, B. Y. K., Wang, Z., Liu, W., Au, L., Leung, E. Y. L., ... Wong, A. (2016). Delayed-onset dementia after stroke or transient ischemic attack. *Alzheimer's & Dementia*, 12(11), 1167–1176. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.05.007>
- Mostany, R., & Portera-Cailliau, C. (2008). A Craniotomy Surgery Procedure for Chronic Brain Imaging. *Journal of Visualized Experiments*, (12), e680. <https://doi.org/10.3791/680>
- Murphy, T. H., Li, P., Betts, K., & Liu, R. (2008). Two-Photon Imaging of Stroke Onset In Vivo Reveals That NMDA-Receptor Independent Ischemic Depolarization Is the Major Cause of Rapid Reversible Damage to Dendrites and Spines. *Journal of Neuroscience*, 28(7), 1756–1772. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5128-07.2008>
- Murphy, Timothy H., & Corbett, D. (2009). Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(12), 861–872. <https://doi.org/10.1038/nrn2735>
- Nam, H. S., & Yoo, H. (2018). Spectroscopic optical coherence tomography: A review of

- concepts and biomedical applications. *Applied Spectroscopy Reviews*, 53(2–4), 91–111. <https://doi.org/10.1080/05704928.2017.1324876>
- Ohab, J. J., Fleming, S., Blesch, A., & Carmichael, S. T. (2006). A Neurovascular Niche for Neurogenesis after Stroke. *Journal of Neuroscience*, 26(50), 13007–13016. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4323-06.2006>
- Pantoni, L. (2010). *Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges*. *The Lancet Neurology* (Vol. 9). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70104-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70104-6)
- Park, C. S., & Payne, S. J. (2016). Modelling the effects of cerebral microvasculature morphology on oxygen transport. *Medical Engineering & Physics*, 38(1), 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2015.09.004>
- Paschotta, R. (2008). numerical aperture. In *Encyclopedia of Laser Physics and Technology* (1st ed.). Wiley-VCH.
- Patel, K., Tarkin, J., Serruys, P. W., Tenekecioglu, E., Foin, N., Zhang, Y.-J., ... Bourantas, C. V. (2017). Invasive or non-invasive imaging for detecting high-risk coronary lesions? *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 15(3), 165–179. <https://doi.org/10.1080/14779072.2017.1297231>
- Pedersen, C. J., Huang, D., Shure, M. A., & Rollins, A. M. (2007). Measurement of absolute flow velocity vector using dual-angle, delay-encoded Doppler optical coherence tomography. *Optics Letters*, 32(5), 506–508. <https://doi.org/10.1364/ol.32.000506>
- Perez-de-Puig, I., Miró-Mur, F., Ferrer-Ferrer, M., Gelpi, E., Pedragosa, J., Justicia, C., ... Planas, A. M. (2015). Neutrophil recruitment to the brain in mouse and human ischemic stroke. *Acta Neuropathologica*, 129(2), 239–257. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1381-0>
- Perry, R., Joseph, M. X., Chew, D. P., Aylward, P. E., & De Pasquale, C. G. (2013). Coronary Artery Wall Thickness of the Left Anterior Descending Artery Using High Resolution Transthoracic Echocardiography - Normal Range of Values. *Echocardiography*, 30(7), 759–764. <https://doi.org/10.1111/echo.12136>

- Pierce, M. C., Strasswimmer, J., Hyle Park, B., Cense, B., & de Boer, J. F. (2004). Advances in Optical Coherence Tomography Imaging for Dermatology. *Journal of Investigative Dermatology*, 123(3), 458–463. <https://doi.org/10.1111/J.0022-202X.2004.23404.X>
- Pircher, M., Götzinger, E., & Hitzenberger, C. K. (2006). Dynamic focus in optical coherence tomography for retinal imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 11(5), 054013. <https://doi.org/10.1117/1.2358960>
- Podoleanu, A. G. (2000). Unbalanced versus balanced operation in an optical coherence tomography system. *Applied Optics*, 39(1), 173. <https://doi.org/10.1364/AO.39.000173>
- Popescu, D. P., Choo-Smith, L.-P., Flueraru, C., Mao, Y., Chang, S., Disano, J., ... Sowa, M. G. (2011). Optical coherence tomography: fundamental principles, instrumental designs and biomedical applications. *Biophysical Reviews*, 3(3), 155. <https://doi.org/10.1007/s12551-011-0054-7>
- Powell-Braxton, L., Véniant, M., Latvala, R. D., Hirano, K.-I., Won, W. B., Ross, J., ... Davidson, N. O. (1998). A mouse model of human familial hypercholesterolemia: Markedly elevated low density lipoprotein cholesterol levels and severe atherosclerosis on a low-fat chow diet. *Nature Medicine*, 4(8), 934–938. <https://doi.org/10.1038/nm0898-934>
- Pries, A. R., Secomb, T. W., & Gaetgens, P. (1996). Relationship between structural and hemodynamic heterogeneity in microvascular networks. *The American Journal of Physiology*, 270(2 Pt 2), H545-53. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1996.270.2.H545>
- Proskurin, S. G., He, Y., & Wang, R. K. (2003). *Determination of flow velocity vector based on Doppler shift and spectrum broadening with optical coherence tomography. OPTICS LETTERS* (Vol. 28). Retrieved from https://www.osapublishing.org/DirectPDFAccess/EB8E493A-DD44-BECD-49F9C9E7583D0BF6_73307/ol-28-14-1227.pdf?da=1&id=73307&seq=0&mobile=no
- Puliafito, C. A., Hee, M. R., Lin, C. P., Reichel, E., Schuman, J. S., Duker, J. S., ...

- Fujimoto, J. G. (1995). Imaging of Macular Diseases with Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology*, *102*(2), 217–229. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(95\)31032-9](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(95)31032-9)
- Qi, B., Phillip Himmer, A., Maggie Gordon, L., Victor Yang, X. D., David Dickensheets, L., & Alex Vitkin, I. (2004). Dynamic focus control in high-speed optical coherence tomography based on a microelectromechanical mirror. *Optics Communications*, *232*(1–6), 123–128. <https://doi.org/10.1016/J.OPTCOM.2004.01.015>
- Ralston, T. S., Marks, D. L., Scott Carney, P., & Boppart, S. A. (2007). Interferometric synthetic aperture microscopy. *Nature Physics*, *3*(2), 129–134. <https://doi.org/10.1038/nphys514>
- Ramírez, C., Sierra, S., Tercero, I., Vázquez, J. A., Pineda, A., Manrique, T., & Burgos, J. S. (2011). ApoB100/LDLR^{-/-} Hypercholesterolaemic Mice as a Model for Mild Cognitive Impairment and Neuronal Damage. *PLoS ONE*, *6*(7), e22712. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022712>
- Rathod, K. S., Hamshere, S. M., Jones, D. A., & Mathur, A. (2015). Intravascular Ultrasound Versus Optical Coherence Tomography for Coronary Artery Imaging – Apples and Oranges? *Interventional Cardiology Review*, *10*(1), 8. <https://doi.org/10.15420/icr.2015.10.1.8>
- Rezakhaniha, R., Agianniotis, A., Schrauwen, J. T. C., Griffa, A., Sage, D., Bouten, C. V. C., ... Stergiopoulos, N. (2012). Experimental investigation of collagen waviness and orientation in the arterial adventitia using confocal laser scanning microscopy. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, *11*(3–4), 461–473. <https://doi.org/10.1007/s10237-011-0325-z>
- Rollins, A. M., & Izatt, J. A. (1999). *Optimal interferometer designs for optical coherence tomography*. *OPTICS LETTERS* (Vol. 24). Retrieved from https://www.osapublishing.org/DirectPDFAccess/7C0FC061-A78E-C4A7-4F6AC3E45AE43855_37503/ol-24-21-1484.pdf?da=1&id=37503&seq=0&mobile=no
- Row, B. W. (2007). Intermittent Hypoxia and Cognitive Function: Implications from

Chronic Animal Models (pp. 51–67). Springer, Boston, MA.
https://doi.org/10.1007/978-0-387-75434-5_5

Rudijanto, A. (2007). The role of vascular smooth muscle cells on the pathogenesis of atherosclerosis. *Acta Medica Indonesiana*, 39(2), 86–93. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17933075>

Sakadžić, S., Mandeville, E. T., Gagnon, L., Musacchia, J. J., Yaseen, M. A., Yucel, M. A., ... Boas, D. A. (2014). Large arteriolar component of oxygen delivery implies a safe margin of oxygen supply to cerebral tissue. *Nature Communications*, 5(1), 5734. <https://doi.org/10.1038/ncomms6734>

Sakadžić, S., Roussakis, E., Yaseen, M. A., Mandeville, E. T., Srinivasan, V. J., Arai, K., ... Boas, D. A. (2010). Two-photon high-resolution measurement of partial pressure of oxygen in cerebral vasculature and tissue. *Nature Methods*, 7(9), 755–759. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1490>

Sakuma, H. (2011). Coronary CT versus MR Angiography: The Role of MR Angiography. *Radiology*, 258(2), 340–349. <https://doi.org/10.1148/radiol.10100116>

Sanan, D. A., Newland, D. L., Tao, R., Marcovina, S., Wang, J., Mooser, V., ... Hobbs, H. H. (1998). Low density lipoprotein receptor-negative mice expressing human apolipoprotein B-100 develop complex atherosclerotic lesions on a chow diet: no accentuation by apolipoprotein(a). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(8), 4544–4549. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.8.4544>

Sanz, J., & Fayad, Z. A. (2008). Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature*, 451(7181), 953–957. <https://doi.org/10.1038/nature06803>

Sato, Y., Nakajima, S., Shiraga, N., Atsumi, H., Yoshida, S., Koller, T., ... Kikinis, R. (1998). Three-dimensional multi-scale line filter for segmentation and visualization of curvilinear structures in medical images. *Medical Image Analysis*, 2(2), 143–168. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10646760>

Schächinger, V., & Zeiher, A. M. (2000). Atherosclerosis-associated endothelial dysfunction. *Zeitschrift Für Kardiologie*, 89(21), IX70–IX74.

<https://doi.org/10.1007/s003920070033>

- Schrandt, C. J., Kazmi, S. S., Jones, T. A., & Dunn, A. K. (2015). Chronic Monitoring of Vascular Progression after Ischemic Stroke Using Multiexposure Speckle Imaging and Two-Photon Fluorescence Microscopy. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35(6), 933–942. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.26>
- Schwinn, D. A., McIntyre, R. W., & Reves, J. G. (1990). Isoflurane-induced vasodilation: role of the alpha-adrenergic nervous system. *Anesthesia and Analgesia*, 71(5), 451–459. <https://doi.org/10.1213/00000539-199011000-00001>
- Shen, K., Lu, H., Baig, S., & Wang, M. R. (2017). Improving lateral resolution and image quality of optical coherence tomography by the multi-frame superresolution technique for 3D tissue imaging. *Biomedical Optics Express*, 8(11), 4887–4918. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.004887>
- Shih, L. C., Saver, J. L., Alger, J. R., Starkman, S., Leary, M. C., Vinuela, F., ... Kidwell, C. S. (2003). Perfusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging Thresholds Identifying Core, Irreversibly Infarcted Tissue. *Stroke*, 34(6), 1425–1430. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000072998.70087.E9>
- Shimamura, M., Nakagami, H., Shimizu, H., Wakayama, K., Kawano, T., Ikeda, Y., ... Morishita, R. (2018). Therapeutic Effects of Systemic Administration of the Novel RANKL-Modified Peptide, MHP1, for Ischemic Stroke in Mice. *BioMed Research International*, 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/4637084>
- Shin, E.-S., Garcia-Garcia, H. M., Ligthart, J. M. R., Witberg, K., Schultz, C., van der Steen, A. F. W., & Serruys, P. W. (2011). In vivo findings of tissue characteristics using iMap™ IVUS and Virtual Histology™ IVUS. *EuroIntervention*, 6(8), 1017–1019. <https://doi.org/10.4244/EIJV6I8A175>
- Shin, P., Choi, W., Joo, J., & Oh, W.-Y. (2018). Quantitative hemodynamic analysis of cerebral blood flow and neurovascular coupling using optical coherence tomography angiography. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 0271678X1877343. <https://doi.org/10.1177/0271678X18773432>
- Srinivasan, V. J., Jiang, J. Y., Yaseen, M. A., Radhakrishnan, H., Wu, W., Barry, S., ...

- Boas, D. A. (2010). Rapid volumetric angiography of cortical microvasculature with optical coherence tomography. *Optics Letters*, 35(1), 43–45. <https://doi.org/10.1364/OL.35.000043>
- Srinivasan, V. J., Mandeville, E. T., Can, A., Blasi, F., Climov, M., Daneshmand, A., ... Ayata, C. (2013). Multiparametric, Longitudinal Optical Coherence Tomography Imaging Reveals Acute Injury and Chronic Recovery in Experimental Ischemic Stroke. *PLoS ONE*, 8(8), e71478. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071478>
- Srinivasan, V. J., Radhakrishnan, H., Jiang, J. Y., Barry, S., & Cable, A. E. (2012). Optical coherence microscopy for deep tissue imaging of the cerebral cortex with intrinsic contrast. *Optics Express*, 20(3), 2220. <https://doi.org/10.1364/OE.20.002220>
- Srinivasan, V. J., Sakadžić, S., Gorczynska, I., Ruvinskaya, S., Wu, W., Fujimoto, J. G., & Boas, D. A. (2009). Depth-resolved microscopy of cortical hemodynamics with optical coherence tomography. *Optics Letters*, 34(20), 3086–3088. <https://doi.org/10.1364/OL.34.003086>
- Srinivasan, V. J., Sakadžić, S., Gorczynska, I., Ruvinskaya, S., Wu, W., Fujimoto, J. G., & Boas, D. A. (2010). Quantitative cerebral blood flow with Optical Coherence Tomography. *Optics Express*, 18(3), 2477. <https://doi.org/10.1364/OE.18.002477>
- Standish, B. A., Lee, K. K. C., Mariampillai, A., Munce, N. R., Leung, M. K. K., Yang, V. X. D., & Vitkin, I. A. (2010). *In vivo* endoscopic multi-beam optical coherence tomography. *Physics in Medicine and Biology*, 55(3), 615–622. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/55/3/004>
- Statistique Canada. (2018). Tableau 102-0561 - Les principales causes de décès, population totale, selon le groupe d'âge. CANSIM (base de données). Retrieved from <https://www150.statcan.gc.ca/t1/tb11/en/tv.action?pid=1310039401>
- Su, J. P., Li, Y., Tang, M., Liu, L., Pechauer, A. D., Huang, D., & Liu, G. (2015). Imaging the anterior eye with dynamic-focus swept-source optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 20(12), 126002. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.12.126002>
- Süle, Z., Mracskó, É., Bereczki, E., Sántha, M., Csont, T., Ferdinandy, P., ... Farkas, E.

- (2009). Capillary injury in the ischemic brain of hyperlipidemic, apolipoprotein B-100 transgenic mice. *Life Sciences*, 84(25–26), 935–939. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2009.04.011>
- Szkulmowska, A., Szkulmowski, M., Szlag, D., Kowalczyk, A., & Wojtkowski, M. (2009). Three-dimensional quantitative imaging of retinal and choroidal blood flow velocity using joint Spectral and Time domain Optical Coherence Tomography. *Optics Express*, 17(13), 10584–10598. <https://doi.org/10.1364/oe.17.010584>
- Szkulmowski, M., Tamborski, S., & Wojtkowski, M. (2016). Spectrometer calibration for spectroscopic Fourier domain optical coherence tomography. *Biomedical Optics Express*, 7(12), 5042. <https://doi.org/10.1364/BOE.7.005042>
- Takuwa, H., Autio, J., Nakayama, H., Matsuura, T., Obata, T., Okada, E., ... Kanno, I. (2011). Reproducibility and variance of a stimulation-induced hemodynamic response in barrel cortex of awake behaving mice. *Brain Research*, 1369, 103–111. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2010.11.007>
- Tamborski, S., Lyu, H. C., Dolezyczek, H., Malinowska, M., Wilczynski, G., Szlag, D., ... Szkulmowski, M. (2016). Extended-focus optical coherence microscopy for high-resolution imaging of the murine brain. *Biomedical Optics Express*, 7(11), 4400. <https://doi.org/10.1364/BOE.7.004400>
- Taoufik, E., & Probert, L. (2008). Ischemic neuronal damage. *Current Pharmaceutical Design*, 14(33), 3565–3573. <https://doi.org/10.2174/138161208786848748>
- The Lancet Neurology. (2017). Vascular disease and neurodegeneration: advancing together. *The Lancet Neurology*, 16(5), 333. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30086-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30086-8)
- Thored, P., Wood, J., Arvidsson, A., Cammenga, J., Kokaia, Z., & Lindvall, O. (2007). Long-Term Neuroblast Migration Along Blood Vessels in an Area With Transient Angiogenesis and Increased Vascularization After Stroke. *Stroke*, 38(11), 3032–3039. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.488445>
- van Rooij, F. G., Schaapsmeeders, P., Maaijwee, N. A. M., van Duijnhoven, D. A. H. J., de Leeuw, F.-E., Kessels, R. P. C., & van Dijk, E. J. (2014). Persistent Cognitive

- Impairment After Transient Ischemic Attack. *Stroke*, 45(8), 2270–2274. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.005205>
- Vinegoni, C., Botnaru, I., Aikawa, E., Calfon, M. A., Iwamoto, Y., Folco, E. J., ... Jaffer, F. A. (2011). Indocyanine Green Enables Near-Infrared Fluorescence Imaging of Lipid-Rich, Inflamed Atherosclerotic Plaques. *Science Translational Medicine*, 3(84), 84ra45-84ra45. <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.3001577>
- Walther, J., Gaertner, M., Cimalla, P., Burkhardt, A., Kirsten, L., Meissner, S., & Koch, E. (2011). Optical coherence tomography in biomedical research. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400(9), 2721–2743. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5052-x>
- Wang, R. K., & An, L. (2011). Multifunctional imaging of human retina and choroid with 1050-nm spectral domain optical coherence tomography at 92-kHz line scan rate. *Journal of Biomedical Optics*, 16(5), 050503. <https://doi.org/10.1117/1.3582159>
- Wang, R. K., Jacques, S. L., Ma, Z., Hurst, S., Hanson, S. R., & Gruber, A. (2007). Three dimensional optical angiography. *Optics Express*, 15(7), 4083. <https://doi.org/10.1364/OE.15.004083>
- Wang, R. K., Zhang, Q., Li, Y., & Song, S. (2017). Optical coherence tomography angiography-based capillary velocimetry. *Journal of Biomedical Optics*, 22(6), 066008. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.22.6.066008>
- Wang, L. V., & Wu, H.-I. (2009). *Biomedical Optics*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9780470177013>
- Wang, L. V., & Wu, H. (2007). *Biomedical optics : principles and imaging*. Wiley-Interscience.
- Wang, Y., Bower, B. A., Izatt, J. A., Tan, O., & Huang, D. (2007). In vivo total retinal blood flow measurement by Fourier domain Doppler optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 12(4), 041215. <https://doi.org/10.1117/1.2772871>
- Wang, Y., Fawzi, A., Tan, O., Gil-Flamer, J., & Huang, D. (2009). Retinal blood flow detection in diabetic patients by Doppler Fourier domain optical coherence tomography. *Optics Express*, 17(5), 4061–4073.

<https://doi.org/10.1364/oe.17.004061>

- Wardlaw, J. M., Smith, C., & Dichgans, M. (2013). *Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: insights from neuroimaging*. *The Lancet Neurology* (Vol. 12). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70060-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70060-7)
- Watson, B. D., Dietrich, W. D., Busto, R., Wachtel, M. S., & Ginsberg, M. D. (1985). Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Annals of Neurology*, *17*(5), 497–504. <https://doi.org/10.1002/ana.410170513>
- Werkmeister, R. M., Dragostinoff, N., Pircher, M., Götzinger, E., Hitzenberger, C. K., Leitgeb, R. A., & Schmetterer, L. (2008). Bidirectional Doppler Fourier-domain optical coherence tomography for measurement of absolute flow velocities in human retinal vessels. *Optics Letters*, *33*(24), 2967. <https://doi.org/10.1364/OL.33.002967>
- Wojtkowski, M., Kowalczyk, A., Leitgeb, R., & Fercher, A. F. (2002). Full range complex spectral optical coherence tomography technique in eye imaging. *Optics Letters*, *27*(16), 1415. <https://doi.org/10.1364/OL.27.001415>
- Wojtkowski, Maciej, Leitgeb, R., Kowalczyk, A., Bajraszewski, T., & Fercher, A. F. (2002). In vivo human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, *7*(3), 457. <https://doi.org/10.1117/1.1482379>
- Wolf, G., Lotan, A., Lifschytz, T., Ben-Ari, H., Kreisel Merzel, T., Tatarsky, P., ... Lerer, B. (2017). Differentially Severe Cognitive Effects of Compromised Cerebral Blood Flow in Aged Mice: Association with Myelin Degradation and Microglia Activation. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *9*, 191. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00191>
- Xu, C., Ye, J., Marks, D. L., & Boppart, S. A. (2004). Near-infrared dyes as contrast-enhancing agents for spectroscopic optical coherence tomography. *Optics Letters*, *29*(14), 1647–1649. <https://doi.org/10.1364/ol.29.001647>
- Yaqoob, Z., Wu, J., & Yang, C. (2005). Spectral domain optical coherence tomography: a better OCT imaging strategy. *BioTechniques*, *39*(6S), S6–S13. <https://doi.org/10.2144/000112090>
- Yasuno, Y., Sugisaka, J., Sando, Y., Nakamura, Y., Makita, S., Itoh, M., & Yatagai, T.

- (2006). Non-iterative numerical method for laterally superresolving Fourier domain optical coherence tomography. *Optics Express*, *14*(3), 1006. <https://doi.org/10.1364/OE.14.001006>
- Yin, B., Chu, K. K., Liang, C.-P., Singh, K., Reddy, R., & Tearney, G. J. (2016). μ OCT imaging using depth of focus extension by self-imaging wavefront division in a common-path fiber optic probe. *Optics Express*, *24*(5), 5555. <https://doi.org/10.1364/OE.24.005555>
- Yu, L., Nguyen, E., Liu, G., Choi, B., & Chen, Z. (2010). Spectral Doppler optical coherence tomography imaging of localized ischemic stroke in a mouse model. *Journal of Biomedical Optics*, *15*(6), 066006. <https://doi.org/10.1117/1.3505016>
- Yu, L., Rao, B., Zhang, J., Su, J., Wang, Q., Guo, S., & Chen, Z. (2007). Improved lateral resolution in optical coherence tomography by digital focusing using two-dimensional numerical diffraction method. *Optics Express*, *15*(12), 7634. <https://doi.org/10.1364/OE.15.007634>
- Yun, S., Tearney, G., Bouma, B., Park, B., & de Boer, J. (2003). High-speed spectral-domain optical coherence tomography at 13 μ m wavelength. *Optics Express*, *11*(26), 3598. <https://doi.org/10.1364/OE.11.003598>
- Zagaynova, E., Gladkova, N., Shakhova, N., Gelikonov, G., & Gelikonov, V. (2008). Endoscopic OCT with forward-looking probe: clinical studies in urology and gastroenterology. *Journal of Biophotonics*, *1*(2), 114–128. <https://doi.org/10.1002/jbio.200710017>
- Zeng, L., He, X., Wang, Y., Tang, Y., Zheng, C., Cai, H., ... Yang, G.-Y. (2014). MicroRNA-210 overexpression induces angiogenesis and neurogenesis in the normal adult mouse brain. *Gene Therapy*, *21*(1), 37–43. <https://doi.org/10.1038/gt.2013.55>
- Zhang, A., Zhang, Q., Chen, C.-L., & Wang, R. K. (2015). Methods and algorithms for optical coherence tomography-based angiography: a review and comparison. *Journal of Biomedical Optics*, *20*(10), 100901. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.10.100901>
- Zhang, C., Tabatabaei, M., Bélanger, S., Girouard, H., Moeini, M., Lu, X., & Lesage, F. (2017). Astrocytic endfoot Ca^{2+} correlates with parenchymal vessel responses during

4-AP induced epilepsy: An in vivo two-photon lifetime microscopy study. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 0271678X1772541. <https://doi.org/10.1177/0271678X17725417>

Zhang, H., Sun, A., Shen, Y., Jia, J., Wang, S., Wang, K., & Ge, J. (2004). Artery interposed to vein did not develop atherosclerosis and underwent atrophic remodeling in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*, 177(1), 37–41. <https://doi.org/10.1016/J.ATHEROSCLEROSIS.2004.06.019>

Zhang, J., & Chen, Z. (2005). In vivo blood flow imaging by a swept laser source based Fourier domain optical Doppler tomography. *Optics Express*, 13(19), 7449–7457. <https://doi.org/10.1364/opex.13.007449>

Zhao, Y., Chen, Z., Ding, Z., Ren, H., & Nelson, J. S. (2002). Real-time phase-resolved functional optical coherence tomography by use of optical Hilbert transformation. *Optics Letters*, 27(2), 98–100. <https://doi.org/10.1364/ol.27.000098>

Zhao, Y., Chen, Z., Saxer, C., Xiang, S., de Boer, J. F., & Nelson, J. S. (2000). Phase-resolved optical coherence tomography and optical Doppler tomography for imaging blood flow in human skin with fast scanning speed and high velocity sensitivity. *Optics Letters*, 25(2), 114. <https://doi.org/10.1364/OL.25.000114>