

**Titre:** Imagerie multispectrale intraopératoire pour la détection des propriétés optiques et de la réponse hémodynamique associée à l'épilepsie  
**Title:**

**Auteur:** Audrey Laurence  
**Author:**

**Date:** 2022

**Type:** Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

**Référence:** Laurence, A. (2022). Imagerie multispectrale intraopératoire pour la détection des propriétés optiques et de la réponse hémodynamique associée à l'épilepsie [Thèse de doctorat, Polytechnique Montréal]. PolyPublie.  
**Citation:** <https://publications.polymtl.ca/10447/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**  
Open Access document in PolyPublie

**URL de PolyPublie:** <https://publications.polymtl.ca/10447/>  
**PolyPublie URL:**

**Directeurs de recherche:** Frédéric Leblond  
**Advisors:**

**Programme:** Génie biomédical  
**Program:**

**POLYTECHNIQUE MONTRÉAL**

affiliée à l'Université de Montréal

**Imagerie multispectrale intraopératoire pour la détection des propriétés optiques et de la  
réponse hémodynamique associée à l'épilepsie**

**AUDREY LAURENCE**

Institut de génie biomédical

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

Génie biomédical

Juillet 2022

© Audrey Laurence, 2022.

**POLYTECHNIQUE MONTRÉAL**

affiliée à l'Université de Montréal

Cette thèse intitulée :

**Imagerie multispectrale intraopératoire pour la détection des propriétés optiques et de la réponse hémodynamique associée à l'épilepsie**

présentée par **Audrey LAURENCE**

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

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

**Caroline BOUDOUX**, présidente

**Frédéric LEBLOND**, membre et directeur de recherche

**Mathieu DEHAES**, membre

**Pablo Andres VALDES QUEVEDO**, membre externe

## DÉDICACE

*À Gaston.*



## REMERCIEMENTS

J'aimerais remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de cette thèse durant les dernières années. Tout d'abord, merci à mon directeur de recherche, Frédéric Leblond, pour tout son support. Fred, je suis très reconnaissante d'avoir eu l'opportunité de travailler avec toi (depuis 2012 !), dans un environnement aussi stimulant et plein d'opportunités. Merci pour ton œil si avisé lors de toutes nos rencontres, ton soutien, ta vision, ton écoute et tes conseils.

Merci à Dr. Nguyen et son équipe pour toute l'aide indispensable concernant la dimension médicale de ce projet. Merci à Manon Robert pour sa grande disponibilité, à Dr. Toffa pour toute l'aide avec l'analyse des données cliniques, à Dr. Bouthillier pour la générosité de son temps en salle d'opération, à Ke Peng pour ses conseils sur l'analyse des données et à tout le personnel médical.

Merci à tous les membres du Laboratoire de Radiologie Optique qui ont été présent à un moment ou un autre de mon parcours : François, Katie, Tien, Fabien, Fredo, Arthur, Nassim, Ali, Guillaume, Sandryne, Esmat, Joannie et Karl. L'équipe multidisciplinaire que nous formons est stimulante et enrichissante. Merci à Amélie pour toute l'aide et les nombreuses discussions rassurantes ; à Émile, Julien et Leticia pour le travail de collaboration ; à tous les collègues de bureau à Polytechnique qui m'ont permis de me changer les idées et à Anne-Laurence pour les échanges, le support (tout particulièrement ces derniers mois) et les sorties à vélo.

Un merci tout spécial à mon amie Marlène qui m'a soutenue à travers ce parcours durant les dernières années. Tes encouragements verbaux et dansés, ton soutien et tes conseils ont été précieux. Merci aussi à Marie-Ève, Maude et Marie-Line d'être à l'écoute depuis toutes ces années. Merci à mes parents Manon et Christian et à mon frère Nicolas de m'avoir encouragé à travers ces longues études. Merci aussi à toute la famille, tout spécialement à mon plus grand fan Gaston, qui finalement nous aura quitté avant d'assister à la conclusion de cette thèse. Merci à mon amoureux, qui m'a si bien aidé à trouver l'énergie nécessaire et à la focaliser au bon endroit pour terminer ce grand chapitre.

Finalement, merci aux organismes subventionnaires FRQNT, CRSNG et Mitacs pour le support financier.

## RÉSUMÉ

L'épilepsie est une condition neurologique caractérisée par des crises récurrentes, causées par une hyperexcitabilité des neurones. La principale méthode permettant de contrôler les crises est le traitement pharmacologique, qui est efficace chez environ 70% des patients. Pour les autres, un traitement alternatif possible est la neurochirurgie, visant à retirer la zone cérébrale responsable des crises. Plusieurs techniques d'imagerie structurelles et fonctionnelles sont alors utilisées pour planifier la chirurgie, afin de bien localiser le tissu à réséquer et de minimiser les risques d'atteinte aux fonctions cérébrales. Bien que les techniques d'imagerie soient nombreuses pour la planification préopératoire, peu d'entre elles peuvent être utilisées durant la chirurgie pour valider la zone à retirer ou pour évaluer la progression de la résection.

L'objectif de cette thèse est de développer un système d'imagerie optique pouvant être utilisé lors de la neurochirurgie afin de détecter la zone responsable des crises d'épilepsie. Deux modalités complémentaires d'imagerie ont été choisies afin de permettre la détection de marqueurs fonctionnels et structurels spécifiques à l'épilepsie : l'imagerie de la réponse hémodynamique et l'imagerie dans le domaine des fréquences spatiales (SFDI). L'imagerie de la réponse hémodynamique mesure l'augmentation de l'apport en oxygène par les vaisseaux sanguins à la suite d'une activité neuronale. Elle est à la base de certaines techniques d'imagerie fonctionnelle, qui permettent de localiser les zones cérébrales associées à des fonctions spécifiques. L'étude de la réponse hémodynamique dans certaines activités anormales telles que les crises d'épilepsie permet de mieux comprendre les processus physiologiques impliqués et pourrait améliorer la précision des techniques d'imagerie fonctionnelle. Le SFDI, quant à lui, permet l'imagerie des propriétés optiques des tissus (coefficient d'absorption et de diffusion réduit), qui peuvent servir d'indicateurs de modifications tissulaires, comme des altérations au niveau vasculaire ou au niveau de la structure cellulaire.

Dans le cadre de cette thèse, un système d'imagerie multispectrale a été développé pour la détection de la réponse hémodynamique à la surface du cortex associée aux pointes épileptiques, qui sont de brèves décharges neuronales. Le système a été calibré, validé et testé lors de 18 neurochirurgies. Une première étude a permis d'établir les algorithmes de calibration et de traitement de données sur quelques patients. Une seconde étude a permis d'évaluer la sensibilité du système à distinguer la réponse hémodynamique de différentes structures, soit les vaisseaux sanguins, le cortex et le

sang et a mené à l'élaboration de critères numériques permettant de les distinguer. La troisième étude a permis la mesure de la fonction de réponse hémodynamique chez huit patients, permettant de démontrer les capacités du système d'imagerie multispectrale, conjointement à l'électrocorticographie, à mesurer la réponse avec une bonne résolution spatiale, temporelle et une grande sensibilité aux pointes épileptiques. L'étude a également montré le potentiel à localiser les zones démontrant des changements hémodynamiques associés aux pointes épileptiques. Un deuxième système, basé sur la méthode SFDI, a aussi été conçu et validé sur des échantillons (fantômes optiques et échantillons *ex vivo*). Les développements techniques ont permis de reconstruire les coefficients d'absorption et de diffusion réduits avec une bonne précision, même pour des échantillons non-planaires et à forte absorption. Une version du système intégrée à un microscope neurochirurgical a démontré la possibilité d'intégrer ces outils pour une utilisation facile par le chirurgien.

Le travail de cette thèse s'inscrit dans le développement d'outils d'imagerie intraopératoire pour la neurochirurgie, avec l'objectif final d'améliorer le guidage chirurgical et d'aider à approfondir les connaissances sur l'épilepsie. En continuant le développement technologique, les prochaines générations de systèmes permettront de fournir aux médecins des outils faciles d'utilisation, ayant une haute sensibilité, spécificité et résolution spatiale, et comportant un risque minimal pour le patient. Ceci permettra d'améliorer le taux de succès des chirurgies, d'approfondir les connaissances sur différentes conditions neurologiques et même d'aider à la cartographie des fonctions cérébrales.

## ABSTRACT

Epilepsy is a neurological condition characterized by seizures caused by hyperexcitability of neurons. Seizure control is mainly achieved with pharmacological treatment, which is effective in about 70% of patients. An alternative treatment to intractable epilepsy is neurosurgery, in which the area of the brain responsible for the seizures is resected. Several physiological tests and neuroimaging techniques (both structural and functional) are used to properly locate the epileptic tissue to be resected while minimizing the risk of damaging brain functions. Although there are numerous imaging techniques for preoperative planning, only a few of them can be used during surgery to verify the area to be removed or to assess the resection progress.

The objective of this thesis is to develop optical imaging systems that can be used during neurosurgery to detect the area responsible for epileptic seizures. Two complementary imaging modalities were chosen for the detection of functional and structural markers specific to epilepsy: hemodynamic response imaging and Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI). The hemodynamic response describes the changes in tissue oxygen concentration following neuronal activity. It is at the basis of functional imaging techniques, used to locate cerebral areas associated with a specific function. Studying the hemodynamic response in some abnormal activities such as epileptic seizures allows for better understanding of the involved physiological processes and could improve functional imaging techniques' accuracy. The SFDI technique, on the other hand, allows tissue optical properties imaging (absorption and reduced scattering coefficients), which can be an indicator of some tissue modifications, such as vascular or cellular structure alterations.

As part of this thesis, a multispectral imaging system was developed for hemodynamic response detection at the surface of the cortex and associated with epileptic spikes, which are brief neuronal discharges. The system was calibrated, validated, and tested in 18 neurosurgeries. The first study allowed implementation of the calibration and data processing algorithms used throughout all the thesis project. The second study assessed the sensitivity of the system to distinguish the hemodynamic response of different structures, i.e. blood vessels, cortex and blood, and led to the development of numerical criteria to distinguish them. The third study measured the hemodynamic response function associated with epileptic spikes in eight patients and demonstrated that the multispectral imaging system is capable, together with electrocorticography, of measuring the hemodynamic response with good spatial and temporal resolution and high sensitivity to epileptic

spikes. The study also showed the potential of the system to locate areas demonstrating hemodynamic changes associated with spikes. A second system, based on SFDI, was designed and validated on tissue phantoms samples as well as *ex vivo* brain and prostate samples. Results show imaging of the absorption and reduced scattering coefficients with good precision, even for non-planar samples and those with high absorption. A version of the system was also integrated in a neurosurgical microscope to facilitate use by the neurosurgeon.

The work achieved in this thesis contributes to the development of intraoperative imaging tools for neurosurgery, with the final objective of improving surgical guidance and increasing knowledge about epilepsy. With continuous technological development, the next generations of optical imaging systems will provide surgeons with easy-to-use tools that have high sensitivity, specificity, and spatial resolution, and with minimal risk for the patient. This will improve the success rate of surgeries, deepen knowledge about different neurological conditions and even help in mapping brain functions.

## TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS .....	IV
RÉSUMÉ.....	V
ABSTRACT .....	VII
TABLE DES MATIÈRES .....	IX
LISTE DES TABLEAUX.....	XIV
LISTE DES FIGURES.....	XV
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS .....	XVIII
LISTE DES ANNEXES.....	XX
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Mise en contexte.....	1
1.2 Objectifs du projet de recherche.....	2
1.3 Organisation du document .....	3
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE .....	5
2.1 L'épilepsie : causes, symptômes et chirurgie.....	5
2.2 Imagerie optique diffuse.....	8
2.2.1 Propriétés optiques et transport de la lumière dans les tissus .....	8
2.2.2 Méthodes d'imagerie en optique diffuse .....	12
2.3 La réponse hémodynamique.....	18
2.3.1 Calcul de [HbO] et [HbR] .....	19
2.3.2 Imagerie de la réponse hémodynamique.....	21
2.3.3 La réponse hémodynamique dans le cas de l'épilepsie.....	23
CHAPITRE 3 MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE.....	26

3.1	Développement d'un système d'imagerie multispectrale .....	26
3.2	Développement d'un système SFDI.....	27
3.3	Méthode de détection de vaisseaux sanguins basée sur l'analyse de la réponse hémodynamique .....	28
3.4	Mesure de la réponse hémodynamique associée aux pointes épileptiques .....	29
CHAPITRE 4 ARTICLE 1: INTRAOPERATIVE VIDEO-RATE HEMODYNAMIC RESPONSE ASSESSMENT IN HUMAN CORTEX USING SNAPSHOT HYPERSPECTRAL OPTICAL IMAGING .....		31
4.1	Mise en contexte de l'article .....	31
4.2	Abstract .....	32
4.3	Introduction .....	32
4.4	Methods.....	34
4.4.1	Intraoperative imaging system .....	34
4.4.2	Calibration procedure.....	36
4.4.3	Tissue phantom experiments.....	38
4.4.4	Intraoperative neurovascular coupling assessment .....	39
4.5	Results .....	42
4.5.1	Tissue phantom experiments.....	42
4.5.2	Intraoperative neurovascular coupling assessment .....	44
4.6	Discussion .....	48
4.7	Acknowledgments.....	49
CHAPITRE 5 SYSTÈME D'IMAGERIE DANS LE DOMAINE DES FRÉQUENCES SPATIALES .....		50
5.1	Introduction .....	50
5.2	Théorie .....	51

5.2.1	Réflectance en fonction de la fréquence spatiale des patrons .....	52
5.2.2	Algorithmes de modulation de signal et de calibration.....	54
5.2.3	Correction pour un échantillon non-planaire .....	57
5.3	Développement d'un système d'imagerie SFDI pour l'étude d'échantillons .....	58
5.3.1	Système d'imagerie .....	59
5.3.2	Acquisition, traitement de données et calibration géométrique .....	60
5.3.3	Validation sur fantômes liquides.....	61
5.3.4	Résultats de la calibration du profil 3D.....	63
5.3.5	Résultats sur des échantillons <i>ex vivo</i> .....	65
5.4	Développement d'un système d'imagerie SFDI intégré à un microscope neurochirurgical .....	66
5.5	Discussion sommaire.....	68
CHAPITRE 6 ARTICLE 2 : MULTISPECTRAL DIFFUSE REFLECTANCE CAN DISCRIMINATE BLOOD VESSELS AND BLEEDING DURING NEUROSURGERY BASED ON LOW-FREQUENCY HEMODYNAMICS.....		
6.1	Mise en contexte de l'article .....	70
6.2	Abstract .....	71
6.3	Introduction .....	72
6.4	Methods.....	73
6.4.1	Multispectral imaging system .....	73
6.4.2	Hemodynamic activity characteristics of cortex, blood vessels, and bleeding .....	74
6.4.3	Segmentation algorithm using reflectance spectra and hemodynamic activity .....	75
6.5	Results .....	78
6.5.1	Hemodynamic activity of cortex, blood vessels, and bleeding.....	78
6.5.2	Segmentation of blood vessels, bleeding, and cortex.....	80



6.5.3	Minimal acquisition time analysis.....	82
6.6	Discussion .....	83
6.7	Disclosures .....	84
CHAPITRE 7 ARTICLE 3: MULTISPECTRAL INTRAOPERATIVE IMAGING FOR THE DETECTION OF THE HEMODYNAMIC RESPONSE TO INTERICTAL EPILEPTIFORM DISCHARGES .....		85
7.1	Mise en contexte de l'article .....	85
7.2	Abstract .....	86
7.3	Introduction .....	86
7.4	Methods.....	88
7.4.1	Patient selection.....	88
7.4.2	Intraoperative multispectral imaging .....	89
7.4.3	Optical data calibration and processing .....	89
7.4.4	Electrocorticography and interictal epileptiform discharge identification.....	91
7.4.5	Average hemodynamic response to interictal epileptiform discharges.....	93
7.4.6	Cortex pixel selection.....	93
7.5	Results .....	94
7.5.1	Hemodynamic response function to interictal epileptiform discharges .....	94
7.5.2	Localization of interictal epileptiform discharges activity.....	96
7.6	Discussion .....	98
7.6.1	Hemodynamic response function to interictal epileptiform discharges .....	98
7.6.2	Localization of interictal epileptiform discharges activity.....	100
7.6.3	System improvements .....	100
7.7	Acknowledgments.....	102
7.8	Data Availability .....	102

7.9	Disclosures .....	102
CHAPITRE 8 DISCUSSION GÉNÉRALE .....		103
8.1	Système d'imagerie multispectrale .....	104
8.2	Détection de vaisseaux sanguins à partir des changements hémodynamiques .....	106
8.3	Analyse de la réponse hémodynamique aux pointes épileptiques .....	107
8.4	Imagerie dans le domaine des fréquences spatiales .....	110
8.5	Combinaison des deux systèmes d'imagerie.....	111
8.6	Autres contributions .....	112
CHAPITRE 9 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS .....		113
BIBLIOGRAPHIE .....		115
ANNEXES .....		131

**LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 5.1 Valeurs des propriétés optiques des fantômes liquides.....	62
Tableau 5.2 Valeurs des propriétés optiques des fantômes solides.....	64

## LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 Zones corticales impliquées dans l'épilepsie.....	6
Figure 2.2 Imagerie multimodale de l'épilepsie pour la planification de la chirurgie.....	7
Figure 2.3 Grille d'électrodes pour l'électrocorticographie.....	7
Figure 2.4 Absorption et diffusion de la lumière dans les tissus biologiques.....	8
Figure 2.5 a) Coefficient d'absorption des principaux absorbeurs dans les tissus biologiques et b) Coefficient de diffusion de certains tissus.....	9
Figure 2.6 Distribution angulaire de la diffusion élastique de type Rayleigh ou Mie (pour une lumière non-polarisée).....	10
Figure 2.7 Simulations Monte Carlo pour le transport de photons.....	11
Figure 2.8 Techniques d'imagerie basées sur l'optique diffuse.....	13
Figure 2.9 Comparaison de l'imagerie RGB, multispectrale et hyperspectrale.....	14
Figure 2.10 Méthodes d'acquisition en imagerie hyperspectrale.....	15
Figure 2.11 Fonctions de modulation de transfert (MTF) simulées avec un algorithme White Monte Carlo pour différentes propriétés optiques.....	17
Figure 2.12 a) Schéma d'un système SFDI et b) vue d'ensemble de la méthode.....	17
Figure 2.13 a) Types cellulaires impliqués dans le couplage neuro-vasculaire.....	18
Figure 2.14 Fonction de réponse hémodynamique à une activité neuronale a) signal BOLD utilisé en IRM et b) réponse mesurée en fNIRS (O <sub>2</sub> Hb correspond à HbO et HHb correspond à HbR) .....	19
Figure 2.15 Identification de la zone du langage identifiée par l'IRMf.....	21
Figure 2.16 Calcul du signal hémodynamique attendu par convolution de la fonction de la réponse hémodynamique (HRF) avec le paradigme de tâches.....	23
Figure 3.1 Système d'imagerie multispectrale connecté au microscope neurochirurgical.....	27
Figure 4.4.1: Neurosurgical imaging system.....	36
Figure 4.2: Tissue phantom experiments.....	43

Figure 4.3: Spectral unmixing of three dyes (blue, yellow, and red) live during video acquisition. .....	44
Figure 4.4: (a) False-color image of segmented blood vessels (red) and regions with capillaries and cortex. (b) Absorbance changes for one ROI calculated relative to the average reflectance spectra of this ROI. The HbO and HbR absorption spectra were fitted to the experimental data (black line) with (blue-circle markers) and without (green-square markers) differential pathlength (DP) correction. ....	45
Figure 4.5: In vivo relative concentration maps of oxygenated hemoglobin (HbO), deoxygenated hemoglobin (HbR), and total hemoglobin content (HbT) of surface cortex during intraoperative acquisitions.....	46
Figure 4.6: Frequency spectrum of the hemodynamic response in the two representative regions of interest (ROI 1 and ROI 2) shown in Fig. 4.4. ....	47
Figure 4.7: Frequency spectra for ROI 1 (a) and ROI 2 (b) in Fig. 4.4 with the low frequencies (<0.15 Hz) represented in darker colors: HbO (red), HbR (blue), and HbT (green). ....	47
Figure 4.8: Time-sequences of the hemodynamics associated with the <0.15 Hz frequency components for (a) ROI 1 and (b) ROI 2 (see Fig. 4.4): HbO (red), HbR (blue), HbT (green). .....	48
Figure 5.1 Schéma de la source d'illumination modulée selon la direction x et la fluence résultante modulée selon les mêmes paramètres. ....	53
Figure 5.2 Schéma de la réflectance modulée. ....	55
Figure 5.3 Étapes de traitement de données du système d'imagerie SFDI. ....	56
Figure 5.4 Système SFDI pour un échantillon non-planaire. ....	58
Figure 5.5 Système d'imagerie SFDI-fluorescence pour l'étude d'échantillons <i>ex vivo</i> .....	59
Figure 5.6 Propriétés optiques mesurées et théoriques de fantômes optiques. ....	63
Figure 5.7 Effet de la correction de hauteur sur le coefficient (a) d'absorption et (b) de diffusion réduit d'un fantôme en forme d'escalier. ....	65

Figure 5.8 Coefficient d'absorption et coefficient de diffusion à 435 nm d'une tranche d'échantillon de prostate et photographie (à droite).....	66
Figure 5.9 Imagerie des coefficients d'absorption et de diffusion sur une tranche de cerveau de veau. ....	66
Figure 5.10 Schéma du microscope OPMI Pentero de Zeiss et de ses ports optiques.....	67
Figure 5.11 (a) Schéma et (b) photographie du système SFDI connecté au microscope neurochirurgical .....	68
Figure 6.1: Hemodynamic activity profiles of cortex, blood vessels, and bleeding .....	79
Figure 6.2: Distribution of the intensity of the SNV-normalized temporal frequency HbO spectra of each pixel comprised within the segmented components of bleeding (B), cortex (C), and blood vessels (V) for each patient (labeled 1, 2 and 3): (a) 0.03-0.3 Hz, (b) 1.0-1.7 Hz.....	80
Figure 6.3: Semi-automatic segmentation of bleeding, blood vessels, and brain cortex in patient 1 .....	81
Figure 6.4: Bleeding, blood vessels, and cortex segmentation on two patients.....	82
Figure 7.1: Intraoperative multispectral imaging and electrocorticography (ECoG) .....	91
Figure 7.2: Interictal epileptiform discharge ( <i>aka</i> spike) identification and localization procedure using electrocorticography. ....	92
Figure 7.3: Average HRF intensity map (HbO at the top and HbR at the bottom) for patient #2 illustrated from -5 to 10 seconds after spike events. Amplitude of the concentration changes were normalized between -1 and 1 for HbO and HbR independently. Pixels corresponding to blood vessels are blacked out. (See Visualization 1) .....	95
Figure 7.4: Hemodynamic response function to interictal epileptiform discharges and the effect of signal-to-noise ratio (SNR). ....	96
Figure 7.5: a) Subregion identified with the clustering algorithm based on the hemodynamic response for patients # 1, 2, and 6 (orange), b) Electrode region detecting IEDs before the imaging session (green), c) HRF corresponding to pixels identified in a). The two white cables visible in a)-P1 and b)-P1 are depth electrodes.....	98

## LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

2D	2 Dimensions
3D	3 Dimensions
BOLD	<i>Blood Oxygen Level Dependent</i>
CCD	<i>Charge-Coupled Device</i>
CHUM	Centre Hospitalier de l'Université de Montréal
CRCHUM	Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal
DEL	Diode Électroluminescente
ECoG	Électrocorticographie
EEG	Électroencéphalographie
EMCCD	<i>Electron Multiplying Charge-Coupled Device</i>
FCD	<i>Focal Cortical Dysplasia</i> , dysplasie corticale focale
fNIRS	<i>functional Near-Infrared Spectroscopy</i>
HbO	Hémoglobine oxygénée
HbR	Hémoglobine désoxygénée (ou hémoglobine réduite)
HRF	<i>Hemodynamic Response Function</i> , fonction de réponse hémodynamique
IED	<i>Interical Epileptiform Discharges</i> , décharges épileptiformes interictales
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
IRMf	Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle
LCTF	<i>Liquid Crystal Tunable Filter</i> , filtre accordable à cristaux liquides
LRO	Laboratoire de Radiologie Optique
MEG	Magnétoencéphalographie
MTF	<i>Modulation Transfer Function</i>
NIR	<i>Near-Infrared</i> , ou proche infra-rouge

NIRS	<i>Near-Infrared Spectroscopy</i>
PDMS	Polydimethylsiloxane
ROI	<i>Region of Interest</i> , region d'intérêt
RGB	<i>Red-Green-Blue</i>
RTE	<i>Radiative Transfer Equation</i> , équation radiative de transport
SFDI	<i>Spatial Frequency Domain Imaging</i>
SPECT	<i>Single-Photon Emission Computerized Tomography</i>
SWIR	<i>Short-Wave Infrared</i> , infrarouge à ondes courtes
TEP	Tomographie par Émission de Positrons
UV	Ultra-Violet



## LISTE DES ANNEXES

Annexe A – Protocole de fabrication de fantômes solides.....	131
Annexe B – Support à polariseur pour un microscope neurochirurgical .....	134
Annexe C – Liste des contributions scientifiques .....	137

## CHAPITRE 1 INTRODUCTION

### 1.1 Mise en contexte

C'est à l'hôpital neurologique de Montréal, dans les années 50, que le Dr. Penfield a développé une méthode novatrice permettant d'opérer les patients atteints d'épilepsie. Connue mondialement sous le nom de la « procédure de Montréal », cette intervention consistait à stimuler électriquement des zones cérébrales durant la chirurgie, afin d'identifier précisément la zone responsable des crises d'épilepsie et de la retirer. Les travaux de Dr. Penfield ont également permis de construire un atlas des fonctions motrices et sensorielles du cortex, encore utilisé aujourd'hui. Depuis ces recherches, Montréal s'est positionnée comme un pôle mondial pour le traitement, l'imagerie et la recherche en épilepsie.

Aujourd'hui, les patients épileptiques qui sont sujets à une neurochirurgie ont accès à une série d'examens d'imagerie, d'examens médicaux et de tests physiologiques avant leur opération. Ces tests ont pour but de localiser l'origine des crises, de déterminer si cette zone peut être retirée et d'évaluer si les fonctions cérébrales des zones adjacentes risquent d'être atteintes [3]. Ce traitement s'adresse principalement aux patients ne répondant pas à la médication, soit environ 30% d'entre eux [1].

Les techniques de neuro-imagerie utilisées dans l'évaluation préopératoire permettent d'étudier le cerveau tant sur le plan structurel que fonctionnel. Selon les modalités d'imagerie, les contrastes observés peuvent provenir de modifications structurelles et de lésions (visibles à l'imagerie par résonance magnétique (IRM)), d'activité électrique des neurones (détectable à l'électroencéphalographie (EEG)) ou encore de l'apport en oxygène et en glucose suivant une crise (observable par la tomographie par émission de positrons (TEP)). La combinaison de plusieurs techniques d'imagerie permet de s'assurer de bien localiser le tissu à réséquer et de minimiser les risques d'atteinte aux tissus sains avoisinants afin d'éviter la perte de fonctions cérébrales chez le patient [2].

Bien que plusieurs techniques d'imagerie soient disponibles en évaluation préopératoire, peu d'entre elles peuvent être utilisées durant la chirurgie pour évaluer spécifiquement la progression de la résection. Un des principaux outils utilisés est le microscope neurochirurgical, qui permet d'augmenter la résolution optique lors de la résection, mais qui offre peu de contraste spécifique à

la lésion. L'électrocorticographie (ECoG), qui consiste à placer des électrodes directement à la surface du cortex, est couramment utilisée durant la chirurgie pour mesurer l'activité neuronale et ainsi valider les zones de forte activité épileptique. L'ECoG est très sensible pour détecter l'activité épileptique, mais elle possède une résolution spatiale limitée à environ 1 cm, ce qui n'est pas suffisant pour déterminer avec précision la zone de résection. L'IRM possède aussi quelques limitations pour le guidage chirurgical. Par exemple, plusieurs causes d'erreurs dues au mouvement du cerveau limitent les techniques de neuro-navigation utilisées pour positionner les outils chirurgicaux sur les images IRM préopératoires [3]. L'IRM est disponible dans certains centres hospitaliers durant la chirurgie pour valider l'étendue de la résection, mais son coût élevé et sa complexité limitent son utilisation [2], [4].

Basé sur ce besoin technologique, l'objectif de cette thèse est de développer un système d'imagerie optique pouvant être utilisé lors de la neurochirurgie afin de détecter la zone responsable des crises d'épilepsie. Deux modalités complémentaires d'imagerie ont été choisies afin de permettre la détection de marqueurs fonctionnels et structurels spécifiques à l'épilepsie. Le premier marqueur est la réponse hémodynamique, soit l'augmentation de l'apport en oxygène par les vaisseaux sanguins suivant une activité neuronale. En détectant la réponse hémodynamique spécifique à l'activité épileptique, il est possible de localiser la source de cette activité et ainsi potentiellement localiser la zone responsable des crises. Pour y arriver, un système d'imagerie multispectrale a été développé pour détecter les changements hémodynamiques se produisant à la surface du cortex. Le deuxième marqueur étudié concerne plutôt les changements structurels causés par des lésions cérébrales responsables de l'épilepsie. Ces changements ont un impact sur les coefficients d'absorption et de diffusion optique, qui peuvent être détectés à l'aide de l'imagerie dans le domaine des fréquences spatiales (SFDI, de l'anglais *Spatial Frequency Domain Imaging*). Un second système d'imagerie, basé sur la technique SFDI, a donc été développé dans le cadre de cette thèse.

## 1.2 Objectifs du projet de recherche

L'objectif général de ce projet de recherche est de développer un système d'imagerie à deux modalités permettant (1) de détecter la réponse hémodynamique liée à l'activité épileptique et (2) d'identifier des marqueurs structurels des tissus lors de la neurochirurgie (coefficients d'absorption et de diffusion réduit). Le projet a été divisé en deux objectifs principaux :

**Objectif 1** : Développer les systèmes d'imagerie et implémenter les algorithmes de traitement de données associés.

- **Objectif 1.1** : Développer un système d'imagerie multispectrale permettant la détection de changements hémodynamiques à la surface du cortex.
- **Objectif 1.2** : Développer un système d'imagerie SFDI permettant la reconstruction des coefficients d'absorption et de diffusion réduits des tissus.
- **Objectif 1.3** : Valider les performances des systèmes sur des échantillons (fantômes optiques) et sur des tissus biologiques.

**Objectif 2** : Démontrer que l'imagerie multispectrale peut détecter la réponse hémodynamique associée à l'activité épileptiques durant la neurochirurgie.

- **Objectif 2.1** : Évaluer la sensibilité du système à distinguer les réponses hémodynamiques de différentes régions tissulaires (cortex, vaisseaux sanguins et sang).
- **Objectif 2.2** : Détecter la réponse hémodynamique associée à l'activité épileptique (pointes épileptiques) à l'aide de l'imagerie multispectrale combinée à l'ECOG.

### 1.3 Organisation du document

Cette thèse par articles présente tout d'abord, au chapitre 2, une revue de littérature permettant de définir les concepts liés à l'épilepsie, l'imagerie par optique diffuse, l'imagerie multispectrale, l'imagerie de la réponse hémodynamique et la technique SFDI. Un survol des connaissances actuelles sur la réponse hémodynamique associée aux pointes épileptiques est également présenté. Le chapitre 3 décrit ensuite la méthodologie générale employée dans cette thèse, en précisant le lien entre les objectifs de recherche, les travaux réalisés et les articles publiés. Le chapitre 4 présente le développement du système d'imagerie multispectrale et sa validation, qui a résulté en un article publié dans la revue *Neurophotonics*. Le chapitre 5 présente la théorie associée à la méthode SFDI, le système développé ainsi que les travaux réalisés en lien avec cette modalité d'imagerie. Le chapitre 6 présente une application du système multispectrale, soit la détection de la signature hémodynamique de vaisseaux sanguins. Ces travaux ont mené à la publication d'un article dans le *Journal of Biomedical Optics*. Le chapitre 7 présente une analyse de la réponse hémodynamique aux pointes épileptiques réalisée à l'aide du système multispectral, ayant mené au

troisième article de cette thèse et soumis à *Biomedical Optics Express*. Le chapitre 8 discute de l'impact de chaque article dans le contexte de mes travaux, de ceux du Laboratoire de Radiologie Optique (LRO) à Polytechnique et pour la communauté scientifique. Une analyse est également présentée en discutant de certains choix scientifiques qui ont été faits, des limites à considérer lors du développement de systèmes optiques pour la neurochirurgie et, finalement, une série de recommandations est proposée pour la poursuite de ces travaux de recherche.

## CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

### 2.1 L'épilepsie : causes, symptômes et chirurgie

L'épilepsie est une condition neurologique caractérisée par des crises, qui sont le résultat d'une perturbation électrique dans le cerveau et durant lesquelles les neurones sont excités de façon excessive et incontrôlée. L'épilepsie affecte environ 1% des Canadiens et 50 millions de personnes mondialement [1], [5]. Les causes sont multiples et les manifestations varient beaucoup selon les individus et les zones cérébrales touchées. L'origine de l'épilepsie peut être génétique, due à une malformation cérébrale lors du développement, à un traumatisme, une inflammation cérébrale, des changements métaboliques, une tumeur, etc. [1]. Les manifestations physiologiques des crises peuvent donner lieu à des convulsions, des spasmes musculaires, des pertes de conscience brèves ou prolongées, des sensations et des émotions étranges et/ou des comportements anormaux [1]. La grande étendue de ces causes et symptômes nécessite l'utilisation de plusieurs tests complémentaires pour bien localiser la zone responsable des crises.

Les crises sont classées en deux grandes catégories : les crises généralisées, touchant les deux hémisphères cérébraux, et les crises focales, ne touchant qu'une zone du cerveau [1]. Bien que ce soient les crises qui caractérisent principalement l'épilepsie, d'autres types d'activité neuronale peuvent avoir lieu, qui prennent généralement origine dans la même zone cérébrale que les crises. Ces activités dites interictales (entre les crises) peuvent se manifester sous forme de pointes épileptiques (aussi appelées décharges épileptiformes interictales, IED, de l'anglais *Interictal Epileptiform Discharges*), qui sont des pics d'activités très brefs (20-200 millisecondes).

La chirurgie vise à retirer la plus petite zone possible permettant l'arrêt des crises. Cette zone est définie comme la zone épileptogène. Le succès de la chirurgie dépend du degré de complétion de la résection de cette zone, mais aucune méthode ne permet de l'identifier clairement [6], [7]. Différentes zones sont définies qui servent d'indicateurs de la zone épileptogène (Figure 2.1) :

- La zone de début des crises (*seizure onset zone*) est celle responsable de la génération des crises telle que détectée à l'EEG;
- La zone irritative est celle générant des pointes épileptiques telle que détectée à l'EEG ou la magnétoencéphalographie (MEG);
- La lésion épileptogène est la zone démontrant une anomalie à l'IRM;

- La zone de déficit fonctionnel est celle touchée par les crises et ayant des impacts sur les fonctions du patient [6].

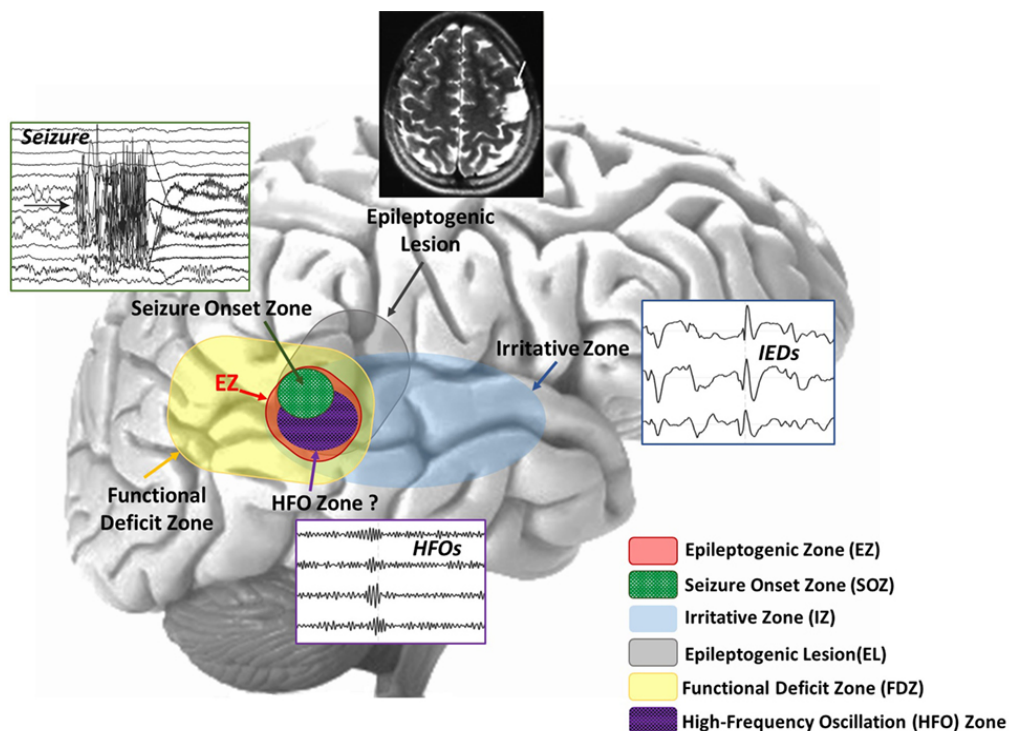


Figure 2.1 Zones corticales impliquées dans l'épilepsie. Reproduit avec permission de [6]

Ces nuances entre les différentes zones illustrent la complexité de l'analyse des résultats d'imagerie en épilepsie. La combinaison de modalités d'imagerie fonctionnelles et structurales permet de comprendre la nature des crises, de localiser leur provenance et d'établir avec précision le plan chirurgical.

Les techniques d'imagerie les plus utilisées sont l'IRM, l'EEG, la magnétoencéphalographie (MEG), le *Single-Photon Emission Computerized Tomography* (SPECT) et la TEP. La Figure 2.2 illustre les différentes techniques multimodales combinées utilisées dans la planification de la chirurgie.

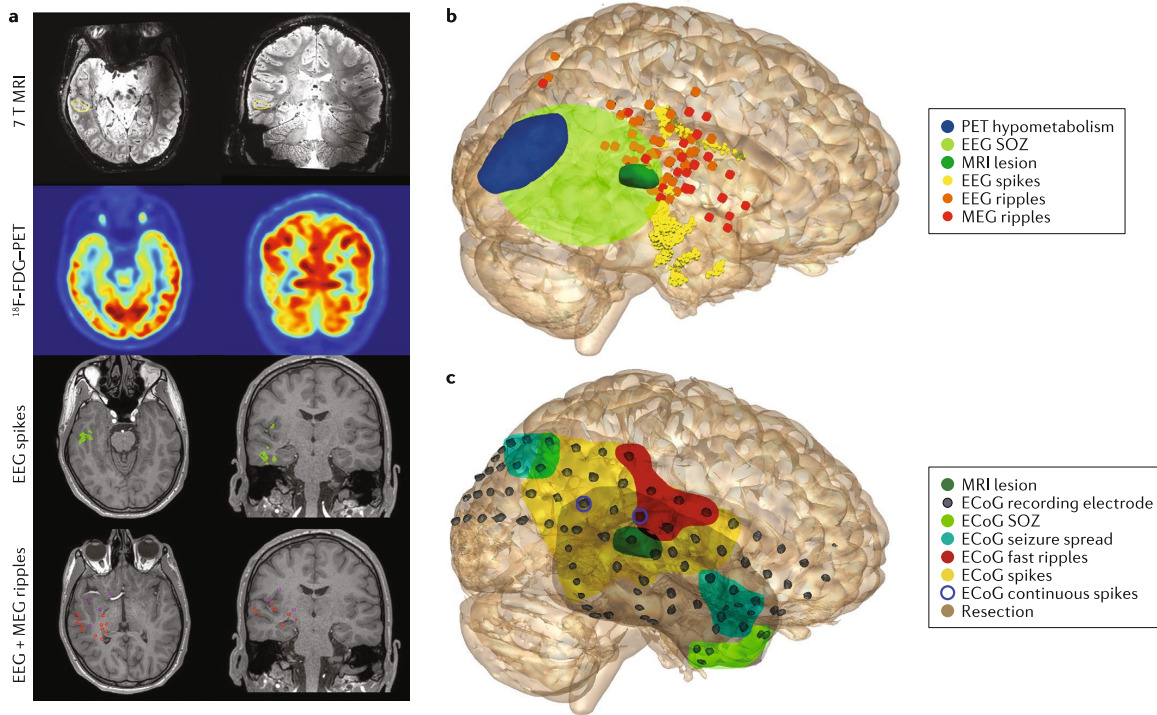


Figure 2.2 Imagerie multimodale de l'épilepsie pour la planification de la chirurgie. a) IRM 7 T, TEP, EEG et MEG. b) Combinaison des données issues de techniques non invasives, c) Combinaison des résultats issus de techniques invasives. La zone de résection est identifiée en brun. Tiré de [7].

Dans certains cas, il peut être nécessaire d'utiliser l'électrocorticographie (ECoG), qui consiste à placer des électrodes directement à la surface du cortex pour mesurer l'activité neuronale de façon plus précise et avec une meilleure résolution spatiale que l'EEG (Figure 2.3).

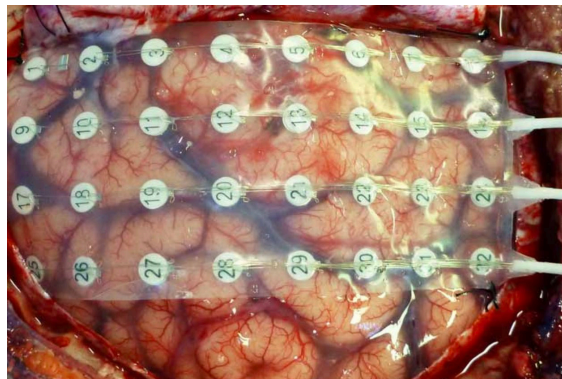


Figure 2.3 Grille d'électrodes pour l'électrocorticographie.



## 2.2 Imagerie optique diffuse

Cette section présente quelques notions théoriques utiles à la compréhension des techniques d'imagerie développées dans le cadre de cette thèse et fait un survol des technologies existantes en imagerie optique diffuse.

### 2.2.1 Propriétés optiques et transport de la lumière dans les tissus

Les deux phénomènes principaux de l'interaction de la lumière avec les tissus biologiques sont l'absorption et la diffusion (Figure 2.4). Lorsqu'un faisceau de lumière incident frappe un tissu, une portion de la lumière est directement réfléchi à la surface (réflexion spéculaire) étant donné la différence d'indices de réfraction ( $n$ ). La lumière qui pénètre dans le tissu subit plusieurs événements d'absorption et de diffusion. En termes macroscopiques, l'intensité de la portion de lumière ressortant à la surface du tissu (réflectance diffuse) dépend des probabilités d'occurrence de ces phénomènes, qui sont décrites par les propriétés optiques du milieu : le coefficient d'absorption ( $\mu_a$ ) et le coefficient de diffusion ( $\mu_s$ ) (unités en  $\text{mm}^{-1}$ ).

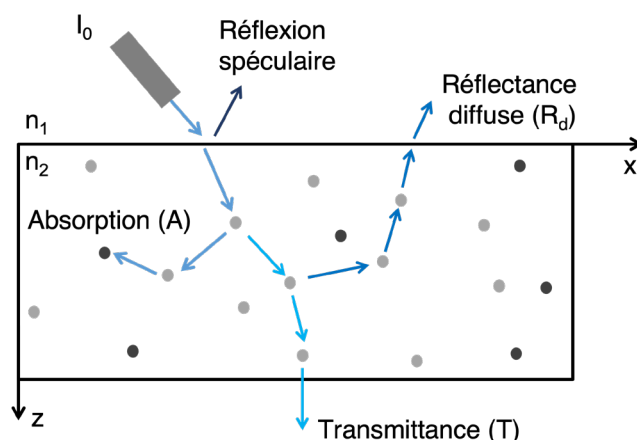


Figure 2.4 Absorption et diffusion de la lumière dans les tissus biologiques. Un faisceau incident d'intensité  $I_0$  est réfléchi à l'interface (réflexion spéculaire), diffusé et absorbé par les différentes structures cellulaires et molécules.

L'absorption correspond au transfert d'énergie du photon à un atome ou à une molécule [8]. Les principales molécules responsables de l'absorption dans les tissus biologiques sont l'hémoglobine oxygénée (HbO), l'hémoglobine désoxygénée (HbR), la mélanine, l'eau, les lipides et certaines

protéines. La Figure 2.5a illustre les spectres d'absorption de ces principaux chromophores pour la portion visible, ultra-violet (UV) et proche-infrarouge (NIR) du spectre électromagnétique.

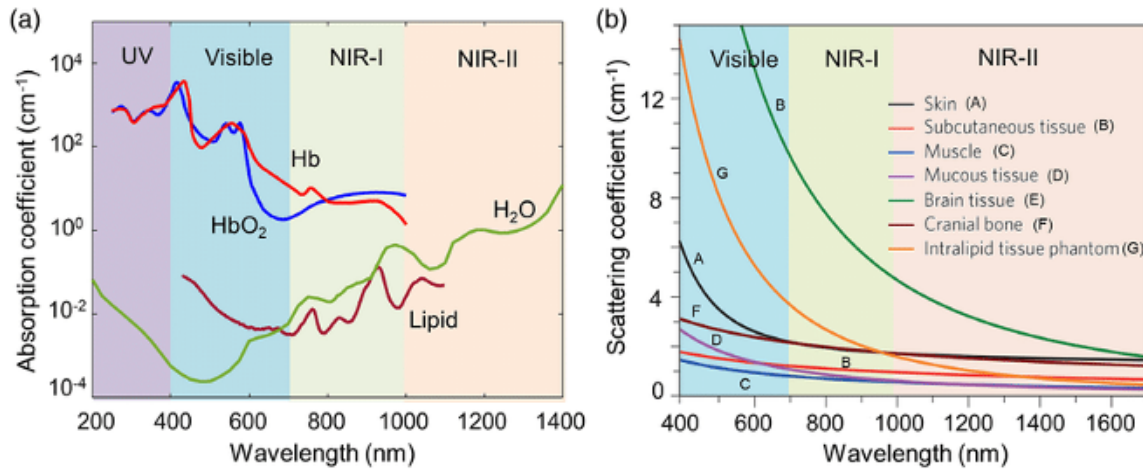


Figure 2.5 a) Coefficient d'absorption des principaux absorbeurs dans les tissus biologiques et b) Coefficient de diffusion de certains tissus. Tiré de [9]

La diffusion se produit quant à elle lorsque le photon fait osciller le nuage électronique d'une molécule, qui réémet à son tour un photon de même énergie (dans le cas de diffusion élastique) [8]. Elle est causée par de petites particules, c'est-à-dire des composants intracellulaires et des structures cellulaires. La diffusion de Mie permet de modéliser l'efficacité, l'anisotropie et la dépendance spectrale de la diffusion pour des particules. Son développement mathématique étant complexe, une approximation lorsque les particules sont très petites par rapport à la longueur d'onde ( $\lambda$ ) est souvent utilisée : la diffusion Rayleigh [10]. Selon leur taille, on peut considérer que les particules produisent de la diffusion de Mie (ex. mitochondries, lysosomes, vésicules) ou de la diffusion Rayleigh (ex. fibres de collagène, macromolécules), affectant la direction de propagation de la lumière (Figure 2.6). Pour illustrer le caractère isotrope de la diffusion, un coefficient d'anisotropie ( $g$ ) est défini pour le tissu, en fonction de l'angle moyen de réémission du photon

$$g = \langle \cos(\theta) \rangle \quad (2.1)$$

où  $\theta$  est l'angle entre la direction du faisceau incident et le faisceau réémis. Il est commun d'employer le coefficient de diffusion réduit ( $\mu'_s$ ), qui combine le coefficient de diffusion et le coefficient d'anisotropie selon l'équation

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g) \quad (2.2)$$

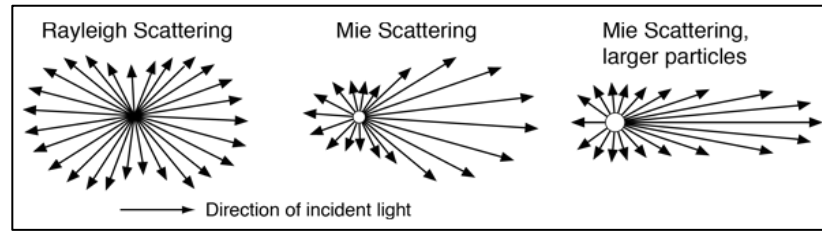


Figure 2.6 Distribution angulaire de la diffusion élastique de type Rayleigh ou Mie (pour une lumière non-polarisée). Tiré de [11].

La probabilité de diffusion Rayleigh est inversement proportionnelle à  $\lambda^4$ , donc les longueurs d'ondes plus courtes ont une plus grande probabilité d'être diffusées. De façon générale dans les tissus, le coefficient de diffusion peut être décrit par une loi de puissance décroissante,  $\mu_s = a\lambda^{-b}$ , où les paramètres  $a$  et  $b$  varient en fonction des tissus (Figure 2.5b).

Le transport de la lumière dans un milieu se résout de façon analytique avec l'équation de Boltzmann (ou l'équation radiative de transport (RTE)), qui est une équation intégral-différentielle. Pour simplifier sa résolution, il est possible d'utiliser l'approximation de la diffusion, qui est valide lorsque le coefficient de diffusion du milieu est très grand comparé à son coefficient d'absorption [12]. La forme de cette équation de la diffusion sans dépendance temporelle pour un milieu homogène est définie par

$$\nabla^2 \varphi - \mu_{eff}^2 \varphi = -3\mu_{tr} q, \quad (5.3)$$

où  $\varphi$  est la fluence,  $q$  est la source,  $\mu_{tr} = (\mu_a + \mu'_s)$  est le coefficient de transport et  $\mu_{eff} = (3\mu_a \mu_{tr})^{\frac{1}{2}}$ . Cette approximation est valide pour la plupart des tissus biologiques et principalement pour des longueurs d'onde correspondant à la partie rouge et proche-infrarouge du spectre électromagnétique (~600-1000 nm). Plus la longueur d'onde diminue (vers le bleu, ~400 nm), plus le coefficient d'absorption augmente à cause de la forte absorption de l'hémoglobine, et moins la condition de la diffusion est respectée. La profondeur de pénétration de la lumière est aussi influencée par cette forte absorption aux basses longueurs d'onde : elle diminue lorsque la longueur d'onde tend vers le bleu.

Lorsque la condition de l'approximation de la diffusion n'est plus respectée, il est possible d'utiliser des simulations Monte Carlo pour calculer numériquement la trajectoire et l'intensité de

la lumière dans les tissus. Ces simulations sont basées sur une approche stochastique des interactions entre les photons et les molécules du milieu interrogé (Figure 2.7). Elles sont réalisées en simulant un milieu avec une géométrie imitant le tissu et en définissant les paramètres optiques du milieu ( $\mu_a$ ,  $\mu_s$ ,  $g$ ,  $n$ ). Un faisceau de lumière composé d'un grand nombre de photons (typiquement autour de  $10^7$  à  $10^9$  photons) est ensuite simulé. Pour chaque photon envoyé dans le milieu, sa trajectoire est évaluée en lui faisant passer un arbre de décision basé sur des probabilités d'interactions (Figure 2.7a). La direction de diffusion, la survie ou l'absorption du photon est alors déterminée. Il est possible d'évaluer l'amplitude de la réflectance à la surface du milieu en considérant la somme de tous les photons simulés (Figure 2.7b et c). Les simulations Monte Carlo donnent des résultats plus précis que l'équation de la diffusion, mais requièrent beaucoup de puissance de calcul et des temps de calcul importants.

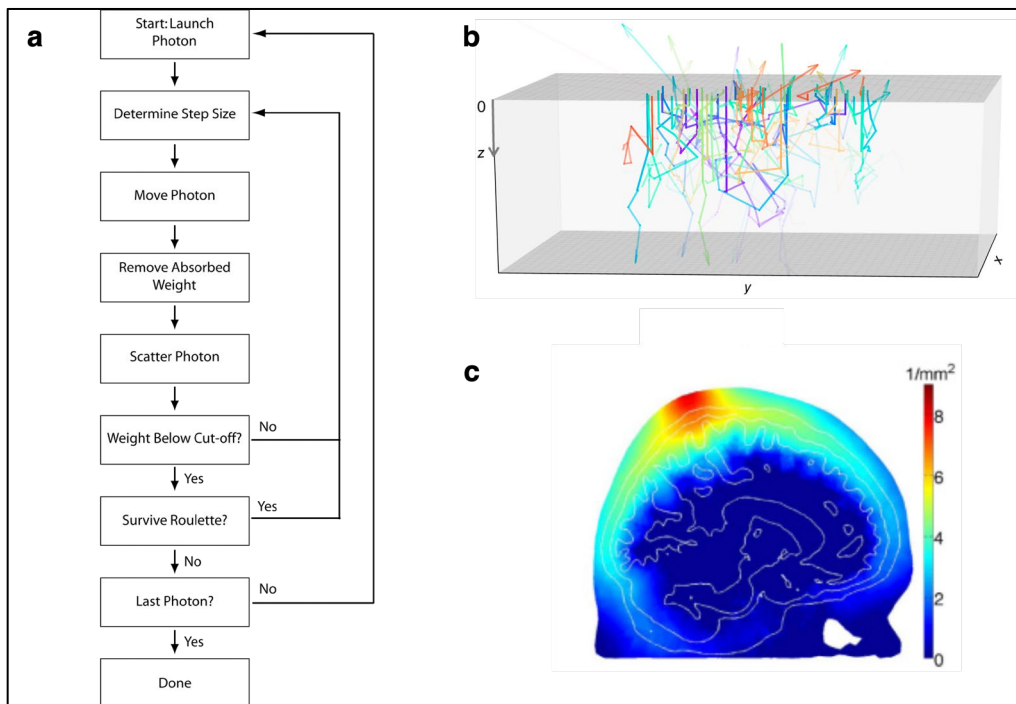


Figure 2.7 Simulations Monte Carlo pour le transport de photons. a) Pseudo-algorithme Monte Carlo simplifié pour un milieu de taille infinie. b) Visualisation de la trajectoire de photons après événements de diffusion et d'absorption. Les photons sortant de la surface supérieure sont ceux qui composent la réflectance diffuse. c) Visualisation de la fluence dans une simulation faite sur un cerveau. Figure adaptée de [13], [14]

## 2.2.2 Méthodes d'imagerie en optique diffuse

L'étude des propriétés optiques est à la base de plusieurs techniques d'imagerie et de spectroscopie appliquées au domaine médical. Un des contrastes moléculaires les plus exploités est celui de l'hémoglobine, qui permet par exemple de détecter des vaisseaux sanguins situés autour d'une tumeur, d'observer la présence d'hématomes ou encore de déterminer la fréquence cardiaque et le taux d'oxygénation sanguin d'un patient [15]. Une vue d'ensemble de différentes technologies optiques est présentée à la Figure 2.8. Par exemple, la tomographie par optique diffuse, qui permet de générer une reconstruction 3D de façon non-ionisante, peut être appliquée aux mammographies pour générer des volumes représentant la concentration d'hémoglobine, la saturation en oxygène et le coefficient de diffusion réduit (Figure 2.8a) [16]. Ces images servent ainsi à compléter les images classiques en rayons X utilisées lors des examens cliniques. L'imagerie optique étant souvent limitée par la profondeur de pénétration de la lumière dans les tissus, plusieurs des techniques sont appliquées à l'étude de petits animaux (ex. souris, rats), qui servent de modèles pour l'étude de certaines pathologies ou pour le développement de médicaments (Figure 2.8b) [15]. Un autre exemple de spectroscopie optique est celui de l'oxymètre de pouls, qui évalue la fréquence cardiaque et le taux d'oxygénation sanguin d'un patient basé sur les fluctuations temporelles des molécules d'hémoglobine. Cet instrument de mesure est tellement répandu aujourd'hui, qu'il est disponible dans tous les hôpitaux pour le suivi médical d'un patient et même dans la majorité des montres sportives pour évaluer les performances d'un athlète (Figure 2.8c). La détection de l'hémoglobine est aussi à la base de l'imagerie par spectroscopie dans le proche infrarouge (NIRS), utilisée pour la détection de l'oxygénation cérébrale et pour l'étude des fonctions cérébrales. Depuis ses premières démonstrations dans les années 80 [17], le NIRS s'est établi comme une technique essentielle pour la surveillance non-invasive de l'oxygénation cérébrale. La technique se base sur les changements temporels de la réflectance qui sont principalement causés par les fluctuations de la concentration d'hémoglobine dans le sang. Ces changements peuvent être dus à des événements physiologiques comme le battement cardiaque et la respiration, mais aussi à des activités neuronales stimulées ou spontanées. Le NIRS peut également être utilisé pour localiser les zones cérébrales associées à certaines fonctions : on parle alors de NIRS fonctionnel (fNIRS). Le fNIRS est utilisé dans le domaine des neurosciences, mais également pour le suivi et l'étude de certaines conditions médicales (ex. épilepsie, Alzheimer) [18], [19].

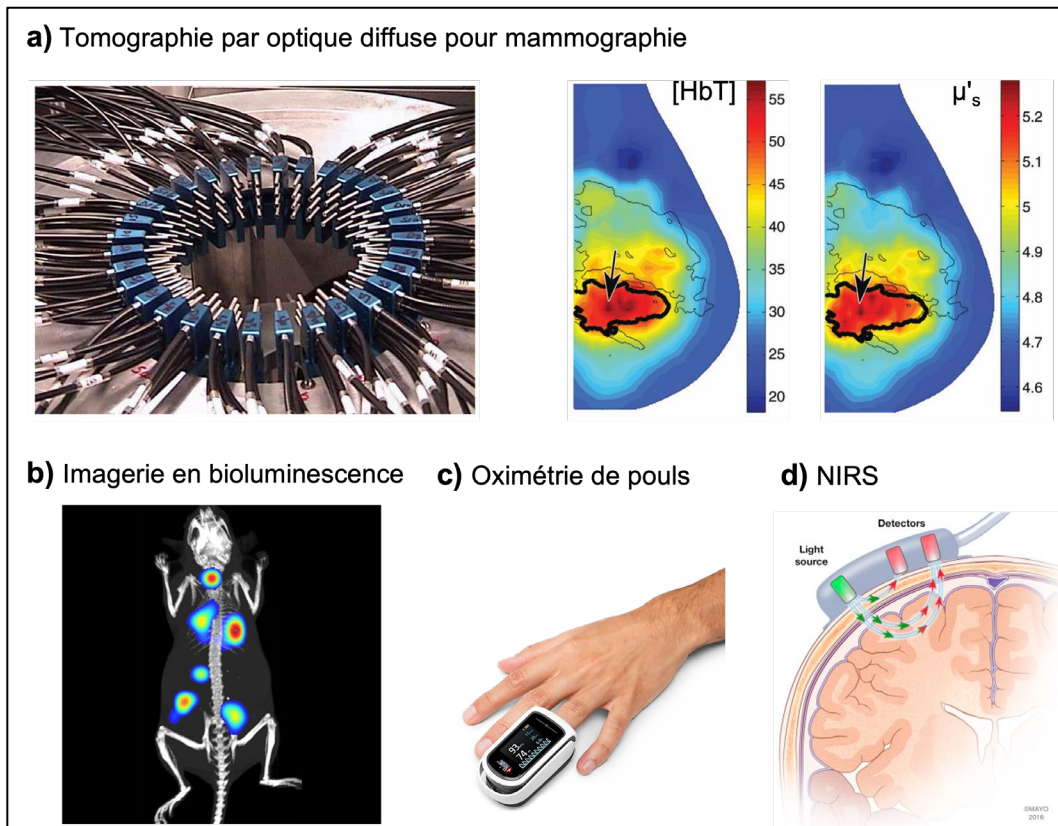


Figure 2.8 Techniques d'imagerie basées sur l'optique diffuse. a) Mammographie à partir d'un système de tomographie par optique diffuse avec le système d'imagerie à gauche, la concentration d'hémoglobine totale et le coefficient de diffusion réduit à droite, b) Métastases observées chez une souris à l'aide d'imagerie par bioluminescence, c) Oxymètre de pouls et d) Optode de spectroscopie proche infra-rouge (NIRS) pour la détection de l'hémoglobine à travers le crâne. Tiré de [16], [20]–[23]

Les exemples ci-haut démontrent l'utilisation de plus en plus grande de l'optique diffuse dans le domaine médical, qui est en partie expliquée par sa facilité d'utilisation, son caractère non-ionisant, son faible coût par rapport à d'autres techniques disponibles et son grand éventail de possibilités. Les prochaines sections présentent plus en détail les deux technologies optiques utilisées dans cette thèse : l'imagerie multispectrale et l'imagerie dans le domaine des fréquences spatiales.

### 2.2.2.1 Imagerie multispectrale

L'imagerie multispectrale est une technique qui permet d'obtenir des images à plusieurs longueurs d'onde, comparativement aux trois longueurs d'onde utilisées dans une caméra RGB standard. Chaque pixel d'une image peut alors être traité comme un spectre afin d'en étudier sa signature en réflectance. Lorsque le spectre est continu et contient beaucoup de points, on parle d'imagerie hyperspectrale, mais lorsque seulement certaines bandes spectrales discrètes sont imagées, on parle plutôt d'imagerie multispectrale (Figure 2.9).

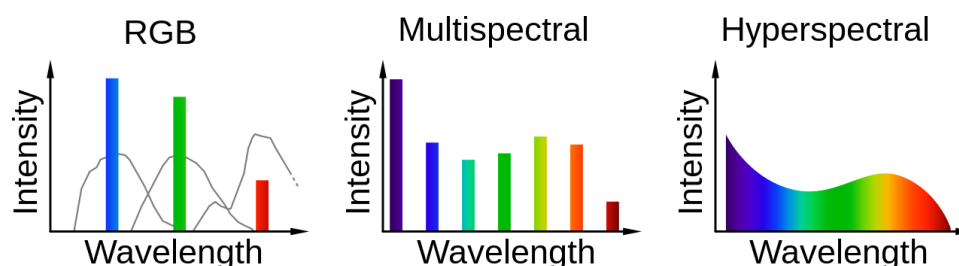


Figure 2.9 Comparaison de l'imagerie RGB, multispectrale et hyperspectrale. Image libre de droits. Licence CC-BY 4.0 [24]

Différentes technologies permettent l'acquisition de l'ensemble de données spectroscopiques, tel que résumé à la Figure 2.10. La première consiste à mesurer le spectre d'un point en utilisant un spectromètre, puis d'effectuer un balayage spatial (en  $x$  et  $y$ ) pour obtenir ensuite une image. Cette technique permet d'obtenir des données avec une très bonne résolution spatiale et spectrale selon les paramètres choisis, mais nécessite un temps d'acquisition assez élevé. Une autre technique consiste à utiliser une caméra spectromètre, qui permet selon un axe du capteur la mesure en longueur d'onde et selon l'autre axe une mesure spatiale. Dans ce cas, un balayage dans une seule dimension spatiale est nécessaire (*line scanning* ou *pushbroom*). Des techniques de balayage en longueur d'onde peuvent également être utilisées à l'aide de roulettes de filtres ou de filtres accordables à cristaux liquides (LCTF) combinés à une caméra. Dans ce cas, la résolution spatiale est généralement élevée et c'est la résolution spectrale (ou un nombre de points spectraux) qui est plus faible. Finalement, depuis quelques années, des caméras dites *snapshot* sont développées, qui permettent la mesure simultanée des images à différentes longueurs d'onde. Ces caméras doivent généralement faire un compromis sur la quantité de données pouvant être mesurées simultanément, sacrifiant soit la résolution spectrale ou spatiale, mais permettent la mesure de phénomènes rapides.



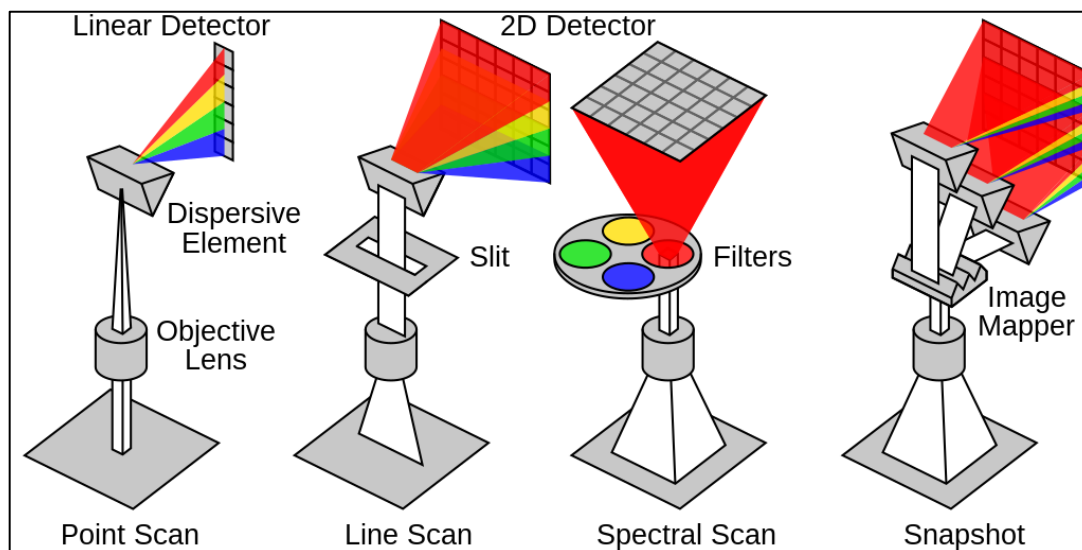


Figure 2.10 Méthodes d'acquisition en imagerie hyperspectrale. Image libre de droits. Licence CC-BY 4.0 [25]

L'imagerie multi ou hyperspectrale a été développée dans les années 80 pour l'exploration spatiale et est aujourd'hui utilisée dans des domaines comme l'agro-alimentaire, l'astronomie et le domaine médical [26]. Pour la médecine, l'imagerie hyperspectrale a été appliquée entre autres à la détection de pathologie basée sur la signature spectrale de certaines molécules, comme la détection du cancer (col de l'utérus, sein, peau, colon, *etc.*) et à l'étude de pathologies cardiovasculaires, de la peau et de la rétine [26]. L'imagerie hyperspectrale est intégrée à des systèmes servant d'outils de diagnostics *in vitro*, *ex vivo* ou *in vivo*. Plusieurs études rapportent également le développement de systèmes d'imagerie pour le guidage chirurgical. Les systèmes peuvent être utilisés dans ce cas pour déterminer l'étendue des tumeurs, qui sont généralement difficiles à discerner visuellement par le chirurgien, ou peuvent être utilisés pour détecter l'oxygénation des tissus durant la procédure, servant d'indicateur à la viabilité des tissus [26]. L'imagerie hyperspectrale est utilisée en neurochirurgie dans le cadre de résection de tumeurs (ex : glioblastomes, méningiomes, métastases), afin de reconnaître les différents types de tissus, mieux délimiter les frontières de la tumeur, accélérer le déroulement des chirurgies et maximiser la résection de la lésion cancéreuse [27]–[29].

Plusieurs développements technologiques au niveau du traitement de données ont eu lieu dans les dernières années pour augmenter la résolution spatiale et/ou spectrale des systèmes et ainsi fournir davantage de données [30]. Ces ensembles de données, très riches en information, mais aussi très



lourds en terme de mémoire numérique, sont utilisés par des algorithmes d'intelligence artificielle (IA) afin d'extraire des *features* (spectrales et/ou spatiales) représentant les informations les plus pertinentes afin de bâtir des modèles de classification pour différentes pathologies [30].

### 2.2.2.2 SFDI

La technique d'imagerie dans le domaine des fréquences spatiales (SFDI, de l'anglais *Spatial Frequency Domain Imaging*) est une méthode d'imagerie à champ large publiée en 2009 par un laboratoire de l'Université Irvine en Californie afin d'imager les coefficients d'absorption ( $\mu_a$ ) et de diffusion réduit ( $\mu'_s$ ) des tissus [31]. Cette méthode offre l'avantage de fournir rapidement des informations sur un grand champ de vue, tout en s'intégrant facilement dans un contexte médical, chirurgical ou pour la mesure d'échantillons biologiques [32].

Le SFDI se base sur la projection de patrons de lumière sur l'échantillon à imager. Un projecteur digital de lumière (DLP, de l'anglais *Digital Light Projector*) formé d'une matrice de micro-miroirs est utilisé pour projeter des patrons sinusoïdaux de différentes fréquences et phases (généralement trois phases : 0 (référence),  $2\pi/3$ ,  $4\pi/3$  radians). Des algorithmes de démodulation de signal sont ensuite utilisés pour retrouver les fonctions de transfert du tissu (MTF, de l'anglais *Modulation Transfer Function*), qui décrivent l'atténuation du signal en fonction de la fréquence spatiale des patrons. Les détails de ces algorithmes seront présentés à la section 5.2 de la thèse. Étant donné que les MTF sont spécifiques aux propriétés optiques  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  du tissu (Figure 2.11), il est possible de comparer les résultats expérimentaux à des courbes MTF simulées par la méthode Monte Carlo afin de retrouver les valeurs de  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  en chaque point de la zone imagée.

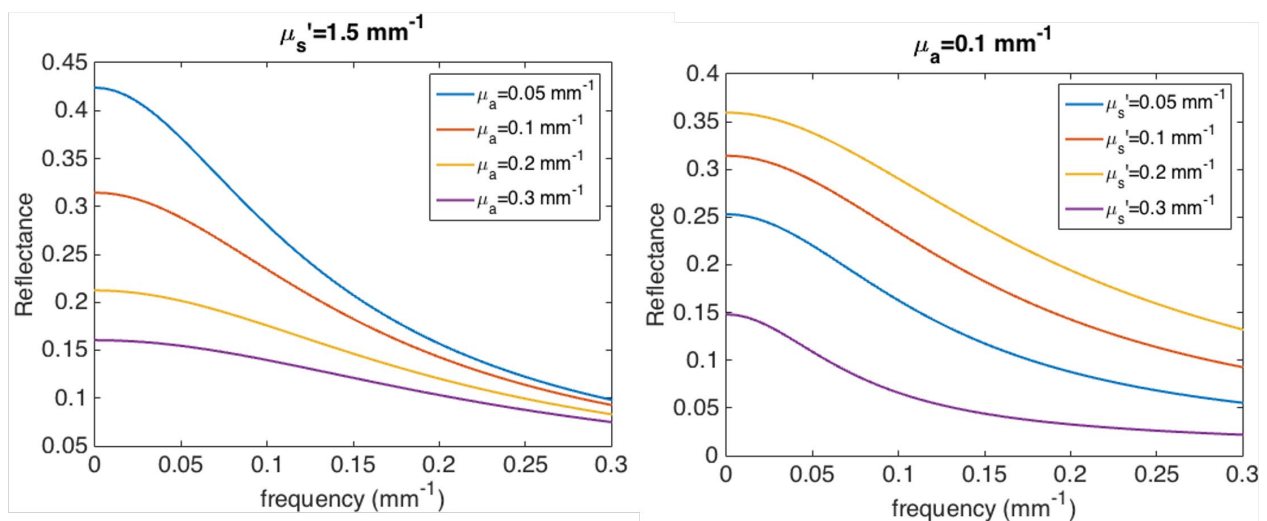


Figure 2.11 Fonctions de modulation de transfert (MTF) simulées avec un algorithme White Monte Carlo pour différentes propriétés optiques

Un montage typique de SFDI est présenté à la Figure 2.12, où l'on peut voir un projecteur muni d'un *spatial light modulator* permettant la création de patrons de lumière qui sont dirigés vers l'échantillon. Un système de détection avec une caméra CCD permet ensuite d'imager la réponse d'un échantillon.

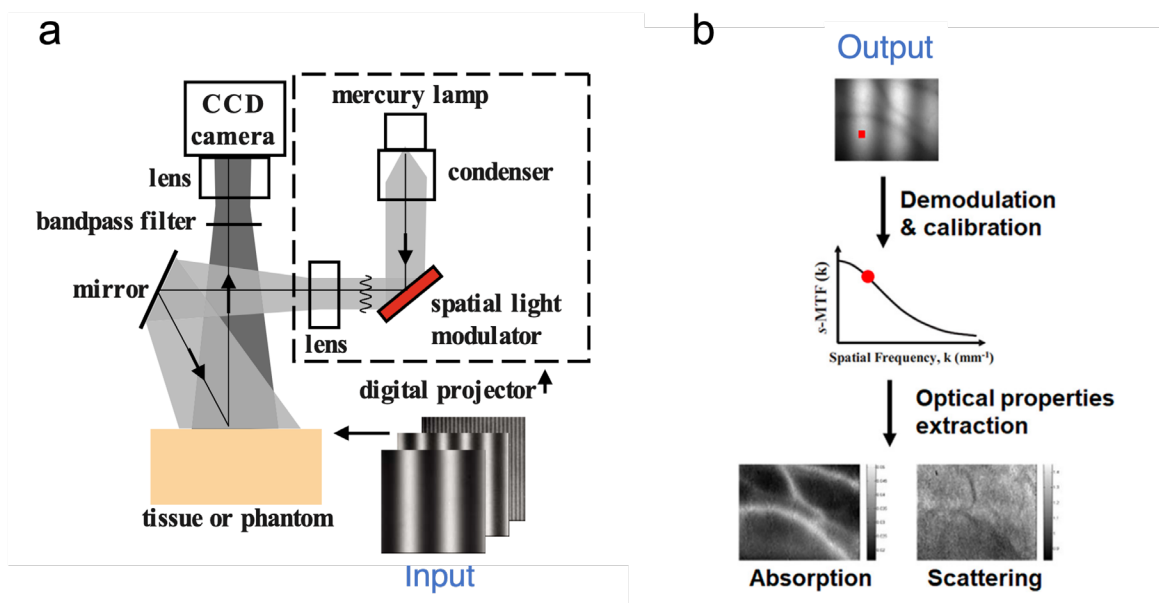


Figure 2.12 a) Schéma d'un système SFDI et b) vue d'ensemble de la méthode. Adapté de [31], [32] Reproduction avec permission.

Un article de revue sur le SFDI publié en 2019 fait état de plusieurs développements théoriques et technologiques de la méthode depuis 2009, ciblant près de 130 publications sur le sujet [32]. Ces développements concernent entre autres les algorithmes de traitement de données, qui permettent maintenant d'améliorer la rapidité d'acquisition et de calcul et de tendre vers des acquisitions en temps réel [33]. Des techniques optimisées pour certains régimes de propriétés optiques (ex. forte absorption) ou pour tenir compte de la topologie de l'échantillon permettent également d'imager  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  avec une bonne précision [34]–[37]. Le développement d'algorithmes robustes a mené à l'utilisation du SFDI dans plusieurs applications comme le suivi de blessures chroniques cutanées chez les diabétiques en surveillant la circulation sanguine [38], l'analyse des brûlures sévères [39]–[42], le guidage chirurgical et la détection de cancer [43].

La connaissance des valeurs des propriétés optiques d'un tissu permet également de déterminer les concentrations absolues de certains chromophores, comme HbO et HbR. La cartographie du coefficient de diffusion peut aussi être utilisé comme un indicateur de certains changements structurels dans les tissus [44]. Ce sont ces deux aspects qui seront d'intérêt dans cette thèse et qui seront présentés au chapitre 5.

## 2.3 La réponse hémodynamique

Le couplage neuro-vasculaire décrit les processus qui relient l'activité neuronale avec le débit sanguin afin de subvenir aux besoins métaboliques des cellules actives. Ce couplage consiste en une cascade de réactions impliquant des neurones, des cellules médiatrices (les astrocytes) et des cellules situées en périphérie des capillaires (péricytes et cellules musculaires lisses), permettant la dilatation ou la constriction des vaisseaux sanguins (Figure 2.13) [45].

Lorsqu'une activité neuronale se produit, le taux de consommation en oxygène (CMRO<sub>2</sub>, de l'anglais *Cerebral Metabolic Rate for Oxygen*) des neurones actives augmente, ayant pour effet de diminuer localement la concentration en oxygène (et de HbO). Il se produit simultanément une dilatation des vaisseaux sanguins avoisinants, ce qui a pour effet d'augmenter le flux sanguin et le volume sanguin. L'augmentation du flux sanguin étant largement supérieure aux besoins métaboliques, l'oxygénation effective locale se trouve augmentée. Ces effets combinés donnent lieu à la réponse hémodynamique, qui se produit sur quelques secondes suivant une activité neuronale.

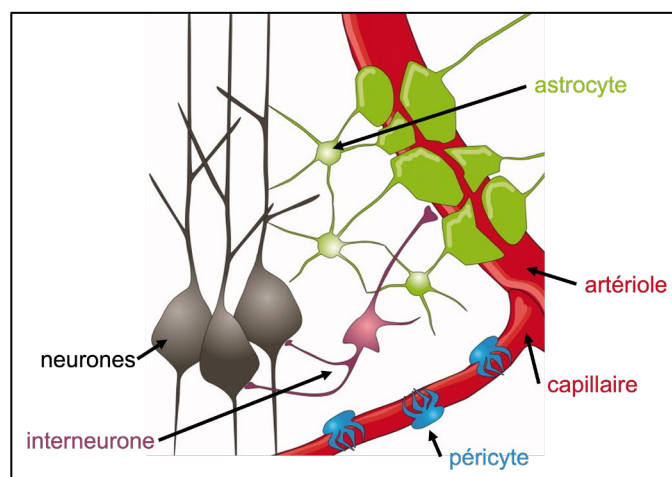


Figure 2.13 a) Types cellulaires impliqués dans le couplage neuro-vasculaire. Adapté de [46].

Une réponse hémodynamique typique se déroule en différentes étapes. Durant un court instant, la concentration locale en oxygène diminue, comme on peut l'observer sur la Figure 2.14. L'apport en hémoglobine oxygénée par les vaisseaux sanguins permet ensuite de compenser largement cette consommation en oxygène; on peut alors observer une augmentation de la concentration d'oxygène quelques secondes (~5-6 s) après l'événement neuronal. La réponse vasculaire se dissipe ensuite progressivement, entraînant une diminution de l'oxygène disponible et menant à un retour à la normale autour d'environ 10 secondes. Dans certains cas, une légère baisse peut être observée environ 15 secondes après l'événement. La Figure 2.14 illustre la fonction de réponse hémodynamique (HRF, de l'anglais *Hemodynamic Response Function*), c'est-à-dire la réponse impulsionnelle à un stimulus. Le signal *Blood Oxygen Level Dependent* (BOLD) tel qu'utilisé en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) est illustré en a, et la Figure 2.14b illustre une réponse hémodynamique mesurée en imagerie optique (HbO, HbR et HbT).

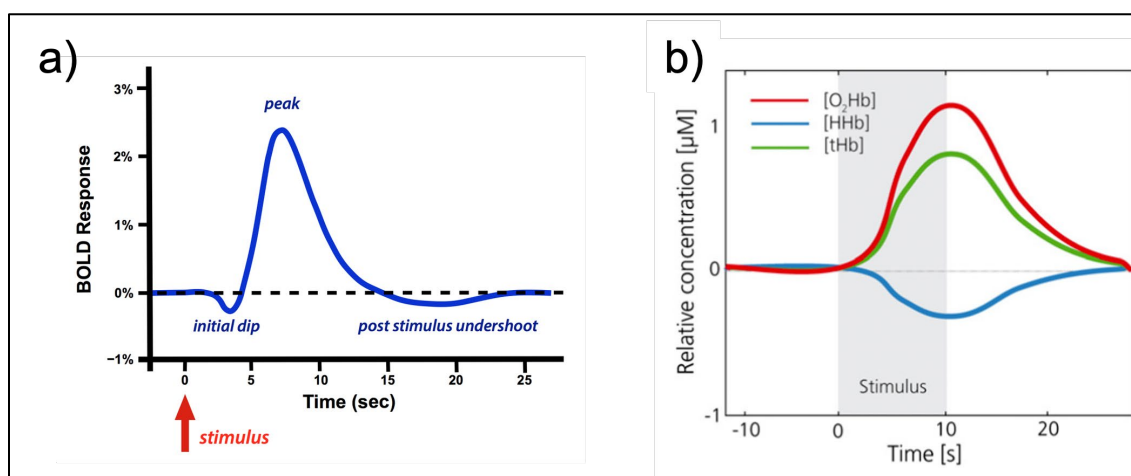


Figure 2.14 Fonction de réponse hémodynamique à une activité neuronale a) signal BOLD utilisé en IRM et b) réponse mesurée en fNIRS ( $\text{O}_2\text{Hb}$  correspond à HbO et HHb correspond à HbR) .

Tiré de [47], [48]

### 2.3.1 Calcul de [HbO] et [HbR]

La réponse hémodynamique peut être mesurée avec l'IRMf, le fNIRS et l'imagerie optique. L'IRMf utilise la signature paramagnétique de HbR comme méthode de contraste pour détecter les fluctuations de cette molécule dans le sang. En fNIRS et en imagerie optique, c'est le spectre

d'absorption de l'hémoglobine qui permet de reconstruire les concentrations de HbO et HbR. Contrairement au fNIRS où la plage de longueur d'onde utilisée permet l'imagerie du cerveau à travers le crâne, l'imagerie optique utilise plutôt des longueurs d'onde dans le visible, nécessitant l'imagerie du cortex exposé durant la neurochirurgie.

Comme présenté à la Figure 2.5, les spectres d'absorption de HbO et HbR sont distincts, ce qui permet d'imager leurs concentrations séparément. Le calcul des concentrations de HbO et HbR s'effectue à l'aide de la loi de Beer-Lambert modifiée [49], qui est une version de la loi de Beer-Lambert qui tient compte de la diffusion du milieu. Lorsqu'on considère les variations d'absorbance  $\Delta A$  entre deux instants, la loi modifiée peut s'écrire comme

$$\Delta A(\lambda) = [\varepsilon_{HbO}(\lambda)\Delta c_{HbO} + \varepsilon_{HbR}(\lambda)\Delta c_{HbR}] \cdot D_a(\lambda) \quad (2.4)$$

où  $\varepsilon$  est le coefficient d'extinction molaire ( $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ ),  $\Delta c$  est la variation de concentration et  $D_a$  est la longueur du chemin optique (*differential pathlength*, en  $cm^{-1}$ ). Ce terme distingue la loi de Beer-Lambert modifiée de sa version originale, en tenant compte de la variation du parcours moyen des photons causé par la diffusion dans le tissu [48]. Il peut être calculé comme la dérivée de l'absorbance par rapport à  $\mu_a$

$$D_a(\lambda) = \frac{\partial A(\lambda)}{\partial \mu_a(\lambda)} \quad (2.5)$$

en calculant l'absorbance à partir des propriétés optiques estimées du tissu d'intérêt, puis de l'équation de la diffusion [50]. Pour mesurer le changement d'absorbance, un ratio de l'intensité mesurée à un temps  $t_0$  ( $I_0$ ) et celle à un temps  $t$  ( $I$ ) peut être utilisé :

$$\Delta A(\lambda) = -\log_{10} \frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} \quad (2.6)$$

Les mesures à deux ou plusieurs longueurs d'onde permettent alors d'obtenir un système d'équations linéaires où  $\Delta c_{HbO}$  et  $\Delta c_{HbR}$  sont les variables à identifier :

$$\begin{bmatrix} \Delta A_{\lambda_1} \\ \vdots \\ \Delta A_{\lambda_n} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \varepsilon_{HbO,\lambda_1} \cdot D_{a,\lambda_1} & \varepsilon_{HbR,\lambda_1} \cdot D_{a,\lambda_1} \\ \vdots & \vdots \\ \varepsilon_{HbO,\lambda_n} \cdot D_{a,\lambda_n} & \varepsilon_{HbR,\lambda_n} \cdot D_{a,\lambda_n} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \Delta c_{HbO} \\ \vdots \\ \Delta c_{HbR} \end{bmatrix} \quad (2.7)$$

### 2.3.2 Imagerie de la réponse hémodynamique

En fNIRS et en imagerie optique, les signaux de HbO et HbR enregistrés sont une combinaison de plusieurs changements hémodynamiques ayant lieu simultanément. En effet, les changements peuvent être dus à une activité neuronale induite (ex. stimulus) via le couplage neuro-vasculaire, à une activité neuronale spontanée (ex. activité cérébrale de base) ou à des changements physiologiques systémiques (ex. des changements dans la pression sanguine et la pression partielle en CO<sub>2</sub>, le rythme cardiaque, la respiration ou les ondes de Mayer) [48]. En fNIRS, il faut aussi considérer des contributions de changements se produisant dans les tissus intermédiaires (crâne, peau, méninges, fluide cérébro-spinal). Ces variations sont absentes en imagerie optique intra-opératoire puisque le cortex est directement exposé, mais d'autres types de facteurs comme le mouvement du cerveau ou la présence de gouttes de sang créent des variations dans les signaux.



Figure 2.15 Identification de la zone du langage identifiée par l'IRMf. Tiré de [51]

Plusieurs types d'expérience et méthodes d'analyse statistiques peuvent être utilisées pour localiser l'activité neuronale ou pour caractériser la HRF. De façon générale, le concept est de faire répéter des tâches au patient entrecoupées de périodes de repos. Une analyse statistique des périodes *on* et *off* permet de déterminer les régions où une activité hémodynamique s'est produite lors des périodes *on* (ex. moyennage, *Statistical Parametric Mapping* (SPM), etc.), tel que montré à la Figure 2.15. Pour y parvenir, il est possible d'effectuer une moyenne des signaux obtenus à chacun des intervalles afin de calculer la réponse hémodynamique à un stimulus [52]. Une méthode basée sur la déconvolution des signaux (modèle linéaire général (GLM, de l'anglais *General Linear*

*Model*)) permet cependant une analyse plus précise de la réponse lorsque tous les facteurs sont inclus au modèle [52].

La Figure 2.16 montre un exemple simple de GLM, où une forme attendue de la réponse hémodynamique ( $h$ ) est choisie, puis convoluée au signal décrivant les stimuli/tâches exécutées ( $p$ ). Le produit ( $x$ ) est inclus au modèle du GLM (en plus de signaux décrivant le rythme cardiaque, la respiration, les oscillations basses fréquences, etc.), et une régression linéaire est effectuée sur les mesures expérimentales. Des tests statistiques réalisés sur les résultats du GLM permettent ensuite de localiser les pixels considérés comme actifs.

Cette méthode implique donc de choisir au préalable une forme attendue de la réponse hémodynamique. Étant donné que la réponse varie notamment en fonction des individus, de l'âge et des conditions neurologiques, il est important de tenir compte de ces variations pour réduire les causes d'erreurs. En effet, ne pas considérer ces particularités dans les modèles d'IRMf ou de fNIRS peut mener à des résultats erronés au niveau de la localisation des zones actives [53]. La plupart des modèles utilisés aujourd'hui comprennent des paramètres libres au niveau de la forme de la HRF (hauteur, délai, FWHM), mais peu d'entre eux sont spécifiques à l'épilepsie [53], [54].

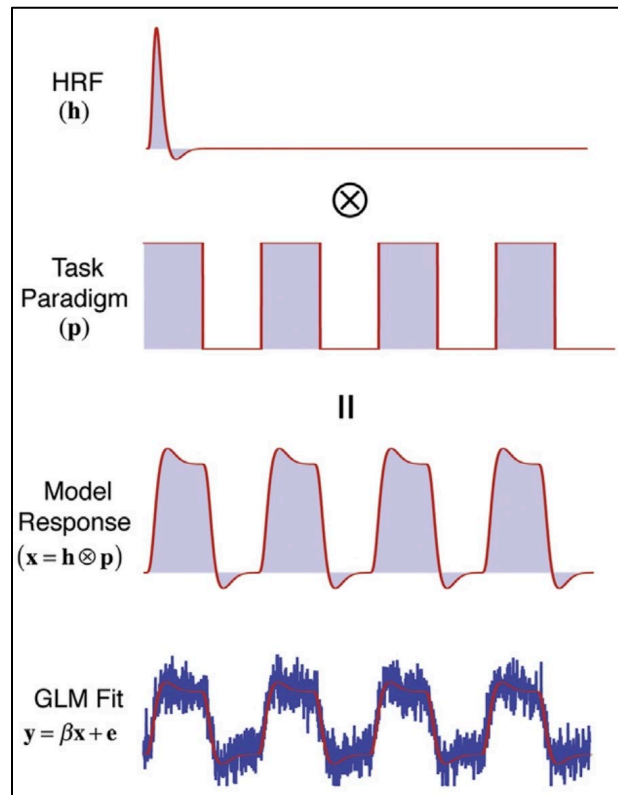


Figure 2.16 Calcul du signal hémodynamique attendu par convolution de la fonction de la réponse hémodynamique (HRF) avec le paradigme de tâches. Le signal attendu est ensuite utilisé dans un modèle statistique comme un modèle général linéaire (GLM) afin d'évaluer la corrélation du signal mesuré avec le signal attendu. Tiré de [55]

### 2.3.3 La réponse hémodynamique dans le cas de l'épilepsie

Bien que le mécanisme général du couplage neuro-vasculaire soit modélisé, les détails précis de son fonctionnement restent incomplets. Dans le cas de l'épilepsie, les modifications des mécanismes sont encore moins bien connus [45]. Les études sur la réponse hémodynamique durant les crises épileptiques démontrent des changements de grande amplitude du flux sanguin (CBF, de l'anglais *Cerebral Blood Flow*) et en apport en oxygène [18]. Cependant, savoir si l'augmentation en CBF lors des crises est suffisante pour répondre aux besoins métaboliques des cellules reste une question non résolue [56].

Un survol des différentes études montre des comportements plutôt hétérogènes lors de l'activité épileptique. Lors des crises, certaines études réalisées à l'aide du fNIRS et de l'imagerie optique ont détecté une augmentation importante de HbR dans les premiers instants suivant une crise et de



façon très localisée, puis une augmentation en HbO dans une zone plus étendue par la suite [45], [56]–[58]. Il semblerait alors que l’augmentation de la consommation en oxygène par les cellules dépassent momentanément l’apport en HbO. L’étude de cette zone d’hypoxie à l’aide de systèmes d’imagerie ayant une bonne résolution temporelle pourrait donc potentiellement servir à localiser spécifiquement la zone du début des crises [56]. Certaines études ont également démontré une augmentation du CBF près du foyer épileptique, mais une diminution loin du focus [45], [59]. De plus, des changements dans la réponse hémodynamique ont été mesurés avant même l’apparition des crises [60]. Ces changements sont étudiés par différents groupes de recherche pour prédire l’apparition des crises à l’aide d’imagerie continue en fNIRS [61].

Pour ce qui est des études sur les pointes épileptiques (ou IEDs), elles ont aussi démontré des changements hémodynamiques se produisant avant les événements électriques, tant à l’IRMf [62] qu’à l’imagerie optique chez les rats [63]. Des réponses inversées, c’est-à-dire des baisses de la concentration de HbO ont également été observées dans certains cas [64]. La présence de IEDs rapprochées et de haute intensité est également associée à une baisse d’oxygénation, potentiellement parce qu’une activation trop répétée ne permet pas au métabolisme de fournir tout l’oxygène nécessaire [65]. Il a été observé que la forme, l’amplitude et le délai des réponses dépend également de la zone cérébrale touchée et du type de lésion épileptique [66], [67]. Bien que la position des IEDs correspond généralement à la zone irritative, une étude en 2017 a démontré une bonne corrélation entre la position des IEDs avec la zone de début des crises [68], justifiant l’utilisation des IEDs pour détecter la zone à opérer.

Les études citées ci-haut possèdent toutefois plusieurs limites. Les résultats sont dans certains cas obtenus à l’aide de l’imagerie optique chez les rats, étant donné la facilité d’accès et de contrôle des paramètres. La translation des découvertes des animaux aux humains n’est cependant pas directe et il est sera nécessaire de reproduire certaines études chez les humains durant la neurochirurgie pour valider les résultats animaux. Ensuite, l’anesthésie a un effet sur la réponse hémodynamique, en réduisant l’amplitude des changements observés. Il faut donc en tenir compte lors des comparaisons des études intraopératoires avec celles effectuées en fNIRS [69]. De plus, lorsque des événements neuronaux sont très rapprochés, les changements hémodynamiques ne sont plus linéaires, c’est-à-dire que les changements ne sont pas simplement la somme des changements individuels. Il est alors important de considérer ces effets non-linéaires pour bien modéliser les

changements globaux, ou d'introduire des modèles non-linéaires dans les GLM [54], [70]. Sinon, les résultats d'étude des IEDs rapprochées pourraient être faussés.

En résumé, il n'y a pas de consensus sur la réponse hémodynamique aux pointes épileptiques puisqu'une grande variabilité des réponses apparaît dans la littérature. Il semble toutefois clair qu'il n'est pas juste d'utiliser une HRF standard pour étudier les pointes et qu'il serait préférable d'utiliser une réponse hémodynamique adaptée à chaque patient. En effet, des études rapportant l'utilisation de HRF spécifiques au patient dans le cas de l'épilepsie a permis d'obtenir de meilleurs scores statistiques par rapport à l'utilisation d'un modèle standard de la HRF, dans une étude en fNIRS-EEG [54], [71].

## CHAPITRE 3 MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE

Ce travail résulte de la collaboration entre le LRO, dirigé par Frédéric Leblond (Polytechnique, Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM)), du groupe de recherche dirigé par Dr. Nguyen (CRCHUM) et du neurochirurgien Dr. Bouthillier (CHUM).

### 3.1 Développement d'un système d'imagerie multispectrale

---

**Objectif 1.1** : Développer un système d'imagerie multispectrale permettant la détection de changements hémodynamiques à la surface du cortex.

**Objectif 1.3** : Valider les performances des systèmes sur des échantillons (fantômes optiques) et sur des tissus biologiques.

---

La première étape du projet a été la conception d'un système d'imagerie multispectrale utilisable durant la neurochirurgie. Le système a été conçu à partir d'une caméra multispectrale de type *snapshot* intégrant 16 filtres passe-bande centrés entre 480 et 630 nm. La caméra a été intégrée à un microscope neurochirurgical à l'aide d'un adaptateur fait sur mesure, en collaboration avec Leticia Angulo (Figure 3.1). Des méthodes de calibration spatiale, spectrale et temporelle ont été développées spécifiquement pour cette caméra. Afin de valider les méthodes de calibration implémentées, des tests sur des fantômes optiques ont premièrement été réalisés. Les expériences ont permis de reconstruire les spectres d'absorption de chromophores connus (colorants alimentaires) et de retrouver leur concentration relative en temps réel (à 20 images par secondes). Le système a ensuite été testé dans un contexte neurochirurgical. Des algorithmes de recalage d'image ont été implémentés pour corriger le mouvement du cerveau à chaque battement cardiaque et la loi de Beer-Lambert modifiée a été utilisée pour calculer les concentrations relatives de HbO et HbR en fonction du temps sur tout le champ de vue de la caméra. Cette étude a validé le bon fonctionnement du système durant une chirurgie et la performance des algorithmes de calibration. Les capacités du système à détecter les changements hémodynamiques à la surface du cortex ont été démontré, en faisant la preuve de concept sur un patient. Le travail a mené à la publication de l'article :

J. Pichette & A. Laurence, L. Angulo, F. Lesage, A. Bouthillier, D. K. Nguyen, F. Leblond, « Intraoperative video-rate hemodynamic response assessment in human cortex using snapshot hyperspectral optical imaging », *Neurophotonics* (2016).

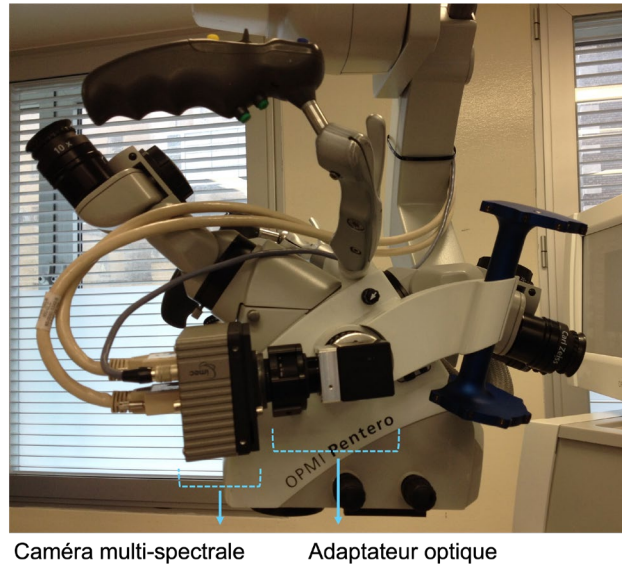


Figure 3.1 Système d'imagerie multispectrale connecté au microscope neurochirurgical.

### 3.2 Développement d'un système SFDI

---

**Objectif 1.2 :** Développer un système d'imagerie SFDI permettant la reconstruction des coefficients d'absorption et de diffusion réduite des tissus.

**Objectif 1.3 :** Valider les performances des systèmes sur des échantillons (fantômes optiques) et sur des tissus biologiques.

---

En parallèle au premier système, un deuxième système d'imagerie a été développé basé sur l'imagerie dans le domaine des fréquences spatiales (SFDI). Une version du système sur table optique a tout d'abord été conçue pour permettre le développement des composants et des algorithmes, d'établir la méthodologie d'acquisition et de valider la calibration des données. Ensuite, une version intégrée au microscope neurochirurgical a été développée en collaboration avec Leticia Angulo.

Le système contient une source lumineuse composée de sept DEL couplée à un projecteur de lumière permettant de former des patrons sinusoïdaux sur l'échantillon à imager. Une caméra couplée à un objectif de détection et à un filtre accordable à cristaux liquides (LCTF) permet de capturer les différents patrons à chaque longueur d'onde. Les algorithmes de SFDI développés par Cuccia *et al.* [31] ont été implémentés afin de retrouver  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  sur tout le champ de vue. Un algorithme de correction du profil de surface a été ajouté, basé sur la hauteur et l'angle de la surface de l'échantillon obtenus par profilométrie.

Des tests sur des fantômes optiques ont permis de valider les performances du système, puis des tests sur des échantillons *ex vivo* de cerveau de veau ont été effectués afin de démontrer les capacités du système à imager des tissus biologiques. Le système a été utilisé en collaboration avec Émile Beaulieu sur des échantillons de prostate *ex vivo*. Cette étude a mené à la publication d'un article pour lequel je suis deuxième auteur et les résultats de l'article où ma contribution est majoritaire sont présentés dans cette thèse.

E. Beaulieu, A. Laurence, M. Birlea, G. Sheehy, L. Angulo-Rodriguez, M. Latour, R. Albadine, F. Saad, D. Trudel, F. Leblond, «Development of a wide-field optical spectroscopy tissue characterisation system integrating reflectance spectroscopy and spatial frequency domain imaging to quantify intrinsic fluorescence in radical prostatectomy specimens», *Journal of Biomedical Optics* (2020).

Pour la version du système SFDI intégré au microscope neurochirurgical, des tests sur fantômes ont été réalisés, mais des contraintes liées à la pandémie de la COVID-19 ont empêché l'étude intra-opératoire prévue. La thèse présente toutefois des hypothèses sur les défis additionnels de l'imagerie *in vivo*, ainsi que des recommandations s'assurer des bonnes performances du système en salle d'opération.

### 3.3 Méthode de détection de vaisseaux sanguins basée sur l'analyse de la réponse hémodynamique

---

**Objectif 2.1 :** Évaluer la sensibilité du système à distinguer les réponses hémodynamiques de différentes régions tissulaires (cortex, vaisseaux sanguins et sang).

---

Une première application technologique du système d'imagerie multispectrale a été testée visant à détecter la réponse hémodynamique spécifique à certaines structures du cerveau. Une étude des changements dans les concentrations de HbO et HbR a été réalisée sur les régions correspondant au cortex, aux vaisseaux sanguins et à du sang. Des critères ont pu être établis permettant de distinguer ces trois composants, afin de produire une image segmentée.

Plus spécifiquement, le système a permis de détecter en première étape les différences spectrales entre le sang (gouttes de sang + vaisseaux sanguins) et le cortex afin de les distinguer automatiquement. Ensuite, les différences temporelles entre le sang contenu dans un vaisseau sanguin et le sang ayant coulé ont été évaluées. En combinant les deux étapes, l'étude a permis la segmentation des trois composantes. Le travail a mené à la publication de l'article

**A. Laurence**, A. Bouthillier, M. Robert, DK. Nguyen, F. Leblond, «Multispectral diffuse reflectance can discriminate blood vessels and bleeding during neurosurgery based on low-frequency hemodynamics», *Journal of Biomedical Optics* (2020).

Ces travaux ont permis de valider la sensibilité du système d'imagerie multispectrale à détecter la réponse hémodynamique spécifique à certaines structures. La méthode développée pourrait être appliquée à d'autres outils de guidage chirurgical où la distinction visuelle n'est pas possible, comme dans le cas de sondes intégrant des fibres optiques.

### **3.4 Mesure de la réponse hémodynamique associée aux pointes épileptiques**

---

**Objectif 2.2 :** Détecter la réponse hémodynamique associée à l'activité épileptique (pointes épileptiques) à l'aide de l'imagerie multispectrale combinée à l'ECoG.

---

Une fois le système multispectral calibré et caractérisé, une étude sur plusieurs patients a été effectuée afin d'étudier la réponse hémodynamique spécifique aux pointes épileptiques. Pour y arriver, des mesures simultanées de l'activité électrique (à l'aide de l'ECoG) et de l'activité hémodynamique ont été effectuées. Une analyse des enregistrements ECoG par un épiléptologue (Dr. Toffa) a permis d'identifier les moments où des pointes épileptiques se sont produites. Ensuite, la réponse hémodynamique associée à chacun de ces événements a été extraite et moyennée. La

fonction de réponse hémodynamique à chacune de ces « impulsions » a été caractérisée pour huit patients. Les travaux ont mené à la rédaction d'un article présentement en révision :

**A. Laurence**, D.H. Toffa, K. Peng, M. Robert, A. Bouthillier, DK. Nguyen, F. Leblond, «Hemodynamic response of interictal epileptiform discharges detected with multispectral intraoperative imaging», *Biomedical Optics Express* (Soumis en juin 2022).

Cette application du système a permis de démontrer que l'imagerie optique intraopératoire permet l'étude de la fonction de réponse hémodynamique dans le contexte de l'épilepsie. Elle offre des éléments complémentaires aux méthodes actuellement utilisées comme le fNIRS et l'IRMf, au niveau de la sensibilité aux pointes épileptiques, des résolutions spatiale et temporelle. L'étude a également évalué le potentiel de l'imagerie multispectrale pour localiser les zones d'activité épileptique, pouvant servir éventuellement comme outil de guidage chirurgical lors des résections.

## CHAPITRE 4    ARTICLE 1: INTRAOPERATIVE VIDEO-RATE HEMODYNAMIC RESPONSE ASSESSMENT IN HUMAN CORTEX USING SNAPSHOT HYPERSPECTRAL OPTICAL IMAGING

Julien Pichette,<sup>1,\*</sup> Audrey Laurence,<sup>1,\*</sup> Leticia Angulo,<sup>1</sup> Frederic Lesage,<sup>2</sup> Alain Bouthillier,<sup>3</sup>  
Dang Khoa Nguyen,<sup>4,5</sup> and Frederic Leblond,<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Polytechnique Montreal, Department of Engineering Physics, C.P. 6079, Succ. Centre-Ville, Montréal H3C 3A7, Canada

<sup>2</sup>Polytechnique Montreal, Department of Electrical Engineering, C.P. 6079, Succ. Centre-Ville, Montréal H3C 3A7, Canada

<sup>3</sup>Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Notre-Dame Hospital, Division of Neurosurgery, 1560 Sherbrooke Street East, Montréal H2L 4M1, Canada

<sup>4</sup>Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Notre-Dame Hospital, Division of Neurology, 1560 Sherbrooke Street East, Montréal H2L 4M1, Canada

<sup>5</sup>Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, 900 Saint-Denis, Montréal H2X 0A9, Canada

\* The first two authors contributed equally to this work.

Neurophotonics, 2016.

### 4.1 Mise en contexte de l'article

Cet article publié dans le journal *Neurophotonics* en 2016 présente les aspects techniques relatifs au développement du système d'imagerie multispectrale utilisé pour l'étude de changements hémodynamiques. Il décrit les composants optiques utilisés afin d'intégrer le système au microscope neurochirurgical. L'article présente aussi des méthodes de calibration spatiale, spectrale et temporelle qui peuvent être appliquées à d'autres systèmes d'imagerie utilisant une caméra de type *snapshot*. Une validation des données sur fantômes optiques est également présentée, suivie de données préliminaires des changements hémodynamiques mesurées sur un cerveau lors d'une chirurgie d'épilepsie.

Au moment de l'écriture de l'article, le terme *hyperspectral imaging* avait été choisi pour décrire le système d'imagerie à 16 longueurs d'onde. Cependant, aujourd'hui, il est plus précis d'utiliser



le terme *multispectral imaging* lorsque le système comporte quelques bandes spectrales seulement. Le terme multispectral a donc été utilisé dans le reste de la thèse.

Cet article a été réalisé en collaboration avec Julien Pichette, qui a développé plusieurs des algorithmes de calibration présentés. J'ai contribué au développement de ces algorithmes, à la conception du système d'imagerie, à son intégration au microscope neurochirurgical en salle d'opération et j'ai réalisé toutes les expériences présentées dans cet article. Ma contribution pour cet article est évaluée à 70%.

Cet article a eu un grand impact dans la communauté scientifique. En effet, en date de juin 2022, il avait été cité 57 fois.

## 4.2 Abstract

Using light, we are able to visualize the hemodynamic behavior of the brain to better understand neurovascular coupling and cerebral metabolism. *In vivo* optical imaging of tissue using endogenous chromophores necessitates spectroscopic detection to insure molecular specificity as well as sufficiently high imaging speed and signal-to-noise ratio, to allow dynamical physiological changes to be captured, isolated and used as surrogate of pathophysiological processes. An optical imaging system is introduced using a 16-bands on-chip hyperspectral camera. Using this system, we show that up to three dyes can be imaged and quantified in a tissue phantom at video-rate through the optics of a surgical microscope. In-human patient data is presented demonstrating brain hemodynamic response can be measured intraoperatively with molecular specificity at high speed.

## 4.3 Introduction

A variety of optical neuroimaging methods are being developed that may have an important impact on clinical practice. This includes techniques to monitor the functional status of the brain using the intrinsic contrast associated with changes in tissue optical properties following neuronal activity. These hemodynamic changes have been measured using visible and/or near-infrared light, either through-skull or during open-cranium surgery [48], [72]. The predominant sources of physiologically relevant optical contrast are then associated with the superficial layers of the neocortex. As a result, several groups have been working on the development of methods isolating signal components associated with light-cortex interactions, resulting in optical biomarkers that

can be used as surrogates for brain physiological parameters, including changes in blood volume and changes in the oxygen content of blood in the vicinity of active neurons [73]–[75]. Depending on the clinical application of interest, the coupling between local cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural activation can thus provide an indirect method to measure regional brain neuron activity which can in some cases be used to inform treatment and/or guide surgical excision of pathological tissue [56], [75], [76].

Here we present the development and proof-of-concept of an intraoperative optical imaging approach to guide resective surgery for patients with refractory epilepsy. This neurological disorder is characterized by seizures, caused by abnormal excessive neuronal discharges. Patients are candidates for surgical treatment when the area responsible for epileptiform activity is located in a region that can be removed with minimal risk and when seizures cannot be controlled by medication, which happens in about one third of patients [77]. For those patients, the accuracy of surgical excision is a key factor for postoperative seizure-freedom and improving quality of life while minimizing side effects. Currently, routine pre-operative investigations to localize the epileptic focus include magnetic resonance imaging (MRI) and scalp electroencephalography (EEG). During the last diagnostic stage, intraoperative electrocorticography (ECoG) to delineate areas generating interictal epileptiform discharges can also be carried out providing low-resolution (~1 cm) spatial neuronal activity information for surgical guidance [78]. Novel intraoperative optical imaging techniques could provide further insights in the neurovascular coupling of this pathology and could potentially complement the information provided by current pre-operative imaging and ECoG data to characterize the epileptic focus.

Intrinsic optical imaging techniques rely on wide-field imaging systems with spectroscopic data acquisition capabilities in conjunction with the development of light-transport modeling approaches to isolate the signal contribution of oxygenated haemoglobin (HbO) and deoxygenated haemoglobin (HbR) from light scattering, patient motion as well as physiological phenomena including heart rate and breathing [73], [74], [79]–[83]. Prominent clinical applications of tissue optical spectroscopy include tissue wound healing monitoring [84], [85] and brain hemodynamic assessment [57], [81], [83], [86]. For each of these applications, a range of optical imaging techniques have been developed leading to tissue functional status information, either provided in absolute terms – i.e. by evaluating the concentration of the chromophores – or relative to a baseline value, oftentimes in terms of variations with respect to signal detected at a specific time point. In

brain hemodynamic imaging, the information is either provided topographically with the information effectively being averaged over the penetration depth of the light [57], [73], [87]–[92], or tomographically exploiting the penetration of visible and/or near-infrared light to provide volumetric information up to a few millimeters or centimeters underneath the surface [83], [93]–[96]. Most tomographic approaches are implemented through-skull and lead to diffused functional cortex maps, while topographic approaches are most often used for intraoperative applications during open-cranium surgery with brain tissue being imaged without the need to correct for light attenuation caused by intervening tissue including skin and skull.

Current intraoperative optical techniques for open-cranium surgical applications are oftentimes associated with limited frame rates and consequently limited signal-to-noise ratios due to the limited number of spectral bands that can be acquired simultaneously [57], [73], [81]. To circumvent those limitations, here we present a hyperspectral imaging system using a 16-bands snapshot camera that was developed to monitor intrinsic optical tissue attenuation during neurosurgical procedures. Data acquired on optical phantoms are presented to demonstrate the capabilities of the system to image up to three absorbing dyes simultaneously in real-time. Preliminary *in vivo* human data acquired during a tissue resection procedure is then presented in which the hemodynamic response to epileptiform activity is measured for patient with refractory epilepsy.

## 4.4 Methods

### 4.4.1 Intraoperative imaging system

The imaging system is composed of a hyperspectral HSI Snapshot Mosaic sensor (imec, Leuven, Belgium) integrating a  $4 \times 4$  multispectral filter array (MSFA) disposed over a CMOSIS-CMV2000 CMOS chip. The camera allows simultaneous detection of 16 spectral bands using Fabry-Perot filters with sensitivity ranging from 481 nm to 632 nm and a spectral bandwidth (FWHM) of  $\sim 15$  nm for each band. The active area of the sensor is composed of  $1024 \times 2048$  pixels of  $5.5 \mu\text{m}$  across corresponding to  $256 \times 512$  “moxels” defined as mosaic elements associated with individual occurrences of the MSFA. The sensor can operate from 10 to 340 frames per second (fps) but for the experiments presented here the camera was operated at either 20 fps (in vivo experiment) or 30 fps (tissue phantom experiments), to be able to acquire images with integration

times long enough to ensure sufficient levels of signal to noise ratios. The effective bit depth of the sensor can be set to 8 or 10, the full well charge is 13.5 Ke-, the dark current is 125 e-/s (at 25°C), the dark noise is 13 e- (RMS) and the fixed pattern noise is <1 least significant bit (LSB).

For intraoperative use, the hyperspectral camera is connected to a side port of a neurosurgical microscope equipped with a broadband white-light source (Superlux, 300W xenon lamp). Integration of the camera onto the microscope is achieved using a custom optical adapter (TrueTex, USA) (Figure 4.4.1) composed of a polarizer, filters, lenses and mirrors forming an image of the surgical cavity onto the sensor chip with magnification (1:6 zoom ratio) and focus (working distance ranging from 20 to 50 cm) that can be adjusted electronically using a touch-screen display on the microscope. A shortpass filter with cutoff at 650 nm (Semrock, NY, USA) and a longpass filter with cutoff at 475 nm (Edmund Optics, NJ, USA) are inserted along the light path within the adapter. Since the sensor's Fabry-Perot filters have leakage in both UV and NIR regions, external cutoff filters are necessary to remove light outside the spectral range of interest. The filters were also selected to reduce the common signal between filters bands, which can decrease the efficiency of the spectral deconvolution algorithms (see Sec. 4.4.2 for details). Crossed linear polarizers (ThorLabs, NJ, USA) are used to minimize the impact of specular reflections. One of the polarizers is installed along the reemission light path, on an adjustable rotation mount within the optical adapter, and the other one is placed in front of the front lens of neurosurgical microscope directly in-line with the light path of the excitation white-light source. Before every imaging session, the rotational position of the polarizer within the adapter is adjusted to insure the polarization axes are as close as possible to being perpendicular. Data acquisition with the system is done using the HSIImager software (imec, Leuven, Belgium) allowing control over camera parameters including integration time and acquisition speed. Data storage and processing is achieved using a PC equipped with two 120 GB solid-state drives (SSD) mounted in RAID 0 and 16 GB of RAM to allow acquisition speed up to 30 fps. All data processing is done using a custom Matlab (Mathworks, USA) program.

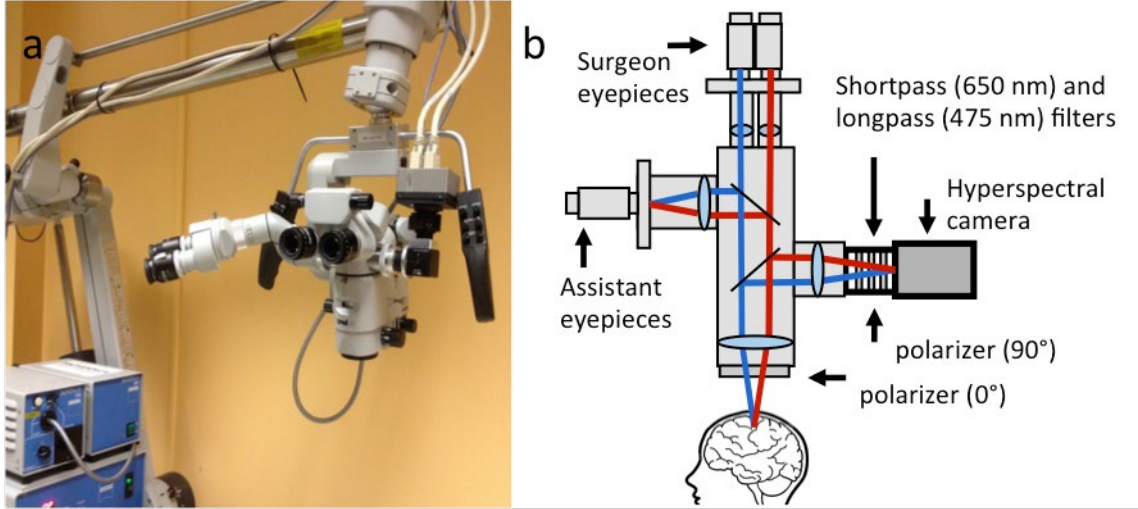


Figure 4.4.1: Neurosurgical imaging system. (a) Hyperspectral camera system connected to a side-port of the neurosurgical microscope. (b) Schematics of the imaging system affixed onto a free optical port.

#### 4.4.2 Calibration procedure

A calibration procedure is implemented on every spatiotemporal & spectral imaging dataset, leading to post-processed data specific to tissue diffuse reflectance. To compensate for the non-uniform spatial distribution of the light source and to correct for vignetting, every image frame is divided by a measurement made on a Spectralon diffuse reflectance standard (Labsphere, NH, USA). The standard is placed at the focal plane of the microscope, with the same zoom and focus settings as the main tissue acquisition. A darkcount dataset is acquired with the white-light source turned off. The dark noise is directly subtracted from all imaging datasets prior to normalization by division with the Spectralon dataset.

For each pixel imaged on the surface, the measured spectroscopic data  $M_n$  in the spectral band  $n$  ( $n = 1$  to 16) can be formally written as a product between the tissue specific diffuse reflectance for that band  $S_n$  and the instrument response function  $\Phi_n(\lambda)$  [97],

$$M_n = \int_{\lambda_{min}}^{\lambda_{max}} \Phi_n(\lambda) S_n d\lambda \quad (4.1)$$

where the integral runs from the  $\lambda_{\min} = 473$  nm to  $\lambda_{\max} = 641$  nm, corresponding to the lowest and highest wavelengths for which the system is light sensitive, respectively. The response function can be modeled using the product of the transmission curves of the sensor filters provided by the manufacturer with the spectral response of all other system components including the light source, the bandpass filters, the polarizers and the optics of the surgical microscope (lenses, dichroic filters, mirrors). Because of second order responses of the Fabry-Perot filters, there is a significant off-band contribution in the  $M_n$  measurements (parameterized by the function  $\Phi_n(\lambda)$ ) that cannot be simply removed by normalization with the Spectralon. Our approach to reduce the impact of those contributions consists in constructing an ideal theoretical instrument response function  $\Phi_m^{ideal}(\lambda)$  corresponding to a linear combination of the actual  $\Phi_n(\lambda)$ ,

$$\Phi_m^{ideal}(\lambda) = \sum_{n=1}^{16} x_{m,n} \Phi_n(\lambda) \quad (4.2)$$

The weighting coefficients  $x_{m,n}$  are obtained through mathematical optimization based on the constraint that the ideal response function has its peak located at the same position as  $\Phi_n(\lambda)$  with a FWHM of 15 nm but has no off-band contributions. For each ideal band  $m$  ( $m=1$  to 16), a least square approach is used to find the coefficients  $x_{m,n}$  that minimize the difference between the ideal response and the linear combination in eq.4.2. The resulting  $m$  by  $n$  correction matrix,

$$X = \begin{pmatrix} x_{1,1} & \cdots & x_{1,n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{m,1} & \cdots & x_{m,n} \end{pmatrix} \quad (4.3)$$

is then applied to both sides of eq.4.1 leading to a new set of normalized measurements  $M_n'$ ,

$$M_n' = M_n X \quad (4.4)$$

representing reconstituted measurements for which the off-band contributions associated with the interference filters has been removed. This provides spectra that are more readily interpretable based on the known basis spectra of tissue chromophores obtained from the literature.

### 4.4.3 Tissue phantom experiments

Experiments were performed using liquid tissue phantoms to validate the calibration procedure outlined in Sec. 4.4.2 and to develop video-rate spectral deconvolution of multiple absorbing molecules in preparation for *in vivo* intraoperative hemodynamics imaging experiments (Sec. 4.4.4). For all phantom experiments, the solutions were prepared using food coloring dyes (blue, red and yellow, Club House, Canada) and Intralipid™ (Fresenius Kabi Canada, Canada) mixed in water.

#### 4.4.3.1 Experiment 1: Basis chromophore spectra and deconvolution technique

Initially, four solutions were imaged for a single time frame with an integration time of 25 ms. A bulk solution corresponding to Intralipid™ mixed with water was imaged to be used as reference measurement. Then, three solutions were prepared and imaged containing either blue, red or yellow food coloring dyes mixed with Intralipid™. The absorbers were diluted to obtain solutions with maximum absorption coefficients of  $\mu_a \cong 0.035 \text{ mm}^{-1}$  at 630 nm, 526 nm or 482 nm for blue, red and yellow dyes respectively. The absorption coefficient of pure dyes was measured using a custom spectrophotometer (CUV-UV Cuvette Holder, Ocean Optics, Maya2000Pro spectrometer, Ocean Optics, white-light LED, ThorLabs). For all solutions, the Intralipid™ concentration was 0.2% V/V corresponding to a scattering coefficient of  $\mu_s' \cong 0.23 \text{ mm}^{-1}$  at 630 nm. The calibration procedure was implemented on all four datasets and the absorbance spectra  $A(\lambda)$  (a.u.) were obtained using Beer-Lambert law, with the Intralipid™-only dataset used as the reference intensity measurement[57],

$$A(\lambda) = \log_{10} I_{intra}(\lambda) - \log_{10} I_{dye}(\lambda) \quad (4.5)$$

where the labels *intra* and *dye* correspond to the Intralipid™-only and dye+Intralipid™ measurements, respectively. Normalization with the Intralipid™-only measurement effectively decouples scattering from absorption insuring  $A(\lambda)$  for each dye represents a basis spectrum that can be used for spectral deconvolution following multiplication with the normalization matrix in eq.4.4.

Equal parts of the three solutions (blue, yellow and red) were mixed together to form a homogenous solution. The solution was imaged and the data normalized as described in Sec. 4.4.2. Then, a

deconvolution technique (least square fit) was applied to each pixel in order to find the relative contribution of each dye using the basis spectra from eq.4.5.

#### **4.4.3.2 Experiment 2: Video-rate spectral deconvolution of multiple absorbers**

Images of a heterogeneous and time-dependent solution (in terms of the concentrations of red, blue, and yellow dyes) were acquired at video-rate to evaluate the capabilities of the instrument to isolate the contribution of multiple chromophores in real-time. During image acquisition, dyes in solution were injected from three different syringes into a 30 ml solution of Intralipid™ (0.2% V/V). Before the imaging session, each of the syringes was filled with 1 ml of either a blue, red, or yellow solution: 2% V/V for yellow, 0.2% V/V for blue and red. Data acquisition was done at 30 fps for 75 seconds resulting in an integration time of 25 ms for each hyperspectral image. The initial injection consisted in ~0.5 ml of the blue dye followed by sequential injection of the same amount of the red and yellow dye solutions. Following this injection sequence, the remainder of the solutions were injected in an arbitrary manner in order to insure all dyes became mixed together forming a complex and highly heterogeneous absorbing medium.

The calibration procedure outlined in Sec. 4.4.2 was applied to each imaging frame and the absorbance spectra for each pixel was calculated using eq.4.5. As with Experiment 1, spectral deconvolution was applied using the basis spectrum for each dye in order to extract the relative blue, yellow and red contribution for every pixel and for each imaged frame. Four 30 fps videos were then produced representing the contribution of each dye as well as reconstituted RGB images to display video information that can be easily interpretable and to illustrate the complexity of the imaged medium. The RGB images were obtained by averaging the signal of different bands to create red (from 582 to 632 nm), green (from 526 to 582 nm) and blue (from 481 to 526 nm) channels.

#### **4.4.4 Intraoperative neurovascular coupling assessment**

##### **4.4.4.1 Patient selection and intraoperative data acquisition**

The imaging system was used for a 35y female patient undergoing epileptogenic tissue resection at Notre-Dame Hospital (Montreal, Canada) for proof-of-concept demonstration that hemodynamic imaging can be achieved with the intraoperative hyperspectral instrument. The



patient received a complete preoperative neurological examination and standard clinical imaging, including electrocorticography (ECoG) recordings to locate the epileptic focus. Informed consent was obtained from the patient and monitored by the institutional ethics review board. Optical data acquisition was done immediately after craniotomy with the cortex fully exposed, prior to initiating tissue resection. Before the procedure, the camera was connected to the OPMI Pentero surgical microscope (Zeiss, Germany) through an unused optical side port. The data acquisition computer controlling the instrument was located on a cart outside of the sterile area. Spectroscopic imaging recordings were done for 4 minutes at a frame rate of 20 fps with an integration time of 40 ms per frame. Illumination of the surgical field was achieved with the internal microscope white light source set at 100% intensity. Heartbeat and respiratory rate were independently monitored and recorded. ECoG was performed during image acquisition, using electrodes located outside of the field of view of the microscope but near the epileptic focus.

#### 4.4.4.2 Calibration procedure and data processing

The calibration procedure described in Sec. 4.4.2 (normalization with the Spectralon, data correction with the unmixing matrix  $X$ ) was applied to each imaging frame using a custom *Matlab* program and a composite RGB image was reconstituted for each frame to display video information reproducing what is seen visually by the surgeon through the microscope eyepieces. All images (for each spectral band) were then corrected for the pulsatile brain motion otherwise causing a relative displacement between the imaging frames and leading to a loss of spatial resolution. An image registration algorithm was implemented using the Medical Image Registration Toolbox for Matlab [98]. For each frame, a combination of rigid and non-rigid transformations were calculated to fit the spatial features of a reference frame that was obtained by averaging all frames over time. The spatial deformations were calculated using data at 526 nm and 592 nm (average intensity) and the result was applied to all the wavelengths, over a region of interest (ROI) of 235 by 425 pixels. The relative concentrations of HbO and HbR were then computed using the calibrated and motion-corrected datasets and a spectral deconvolution technique similar to that presented in Sec. 4.4.2 was used based on hemoglobin absorption spectra [99]. However, instead of using the technique in eq.4.5 to account for scattering tissue properties, a pathlength correction was implemented that is based on the method described by Kohl et al [50]. The method is used to estimate the differential pathlength ( $D_a$ ) for every imaged pixel, which is a scaling factor to be included in a modified form

of the Beer-Lambert law in order to account for elastic scattering. The measured absorbance variations were modeled

$$\Delta A(\lambda) = \sum_i [\varepsilon_i(\lambda) \Delta c_i D_a(\lambda)] \quad (4.6)$$

to take into account the diffusive nature of the tissue and the wavelength dependence of the scattering coefficient. Experimental absorbance changes for each imaging frame are calculated compared to a reference frame, computed by averaging all frame over time. The method consists of five steps: Step 1 consists of modeling the optical properties (absorption and reduced scattering coefficients) of two brain regions labeled ‘capillaries/cortex’ and ‘blood vessels’. Here ‘blood vessels’ is defined as a region where the optical properties are associated only with hemoglobin, while ‘capillaries/cortex’ is defined as a vascularized region composed of brain matter and a small fraction of capillaries. Step 2 consists of using the standard diffusion approximation to radiative transport equation (diffusion equation for a semi-infinite geometry) to calculate the predicted reflectance associated with the optical properties for the two brain regions in Step 1. For step 3, images are segmented between ‘blood vessels’ and ‘capillaries/cortex’ regions using the computed reflectance spectra. Step 4 consists of calculating the absorbance spectra associated with the reflectance (in step 2) as a function of tissue optical properties (absorption and reduced scattering coefficients) for each pixel. Step 5 consists of calculating the differential pathlength ( $D_a$ ) defined as the first derivative of the absorbance with respect to the absorption coefficient. The differential pathlength (which is a function of wavelength) is then used in eq.

$$\Delta A(\lambda) = \sum_i [\varepsilon_i(\lambda) \Delta c_i D_a(\lambda)] \quad (4.6)$$

to model the absorbance changes due to variations in concentration of HbO and HbR ( $\Delta HbO$  and  $\Delta HbR$ ).

Absorption coefficients for blood vessels were calculated using a sum of the extinction coefficients of HbO and HbR weighted by their relative concentration [99]. In order to approximate the relative concentration of HbO and HbR, an oxygen saturation of 99% was used (read on the oximeter during the surgical procedure) and the baseline value for total hemoglobin concentration used was 150 g/L. To evaluate the baseline optical properties associated with ‘capillaries/cortex’ regions, we

estimated it is composed of 5% of capillaries with the remainder being associated with brain matter with a baseline absorption coefficient of  $0.05 \text{ mm}^{-1}$  [100], [101]. The equations for scattering coefficients of both blood (hemoglobin) and brain cortex were  $\mu'_s=22 (\lambda /500)^{-0.66} \text{ mm}^{-1}$  and  $\mu'_s=24.2 (\lambda /500)^{-1.611} \text{ mm}^{-1}$ , respectively, with  $\lambda$  in nm [102]. Using the reflectance spectra for ‘blood vessels’ and ‘capillaries/cortex’ computed in step 2, a least-square fitting approach was used to compare measured spectra with the reflectance models leading to images segmented between the two region types (Figure 4.4a). The images are used to determine which differential pathlength value is to be used for each pixel. More specifically, segmentation was achieved by fitting the theoretical reflectance spectra (calculated with the diffusion approximation equation in step 2) of ‘blood vessels’ and ‘capillaries/cortex’ to each pixel. The differential pathlength for each pixel was then calculated as the sum of the differential pathlength for each region weighed by the proportion of each region type in that pixel.

The cortex exhibits baseline variations in blood flow with temporal frequencies  $< \sim 0.2 \text{ Hz}$  [103] related with neurovascular coupling such as Mayer waves, vasomotion and resting state functional connectivity. In order to isolate low frequencies, those associated with respiration and heartbeat were removed from the imaging datasets using a low-pass filter ( $< 0.15 \text{ Hz}$ ) applied to the time-sequences of HbO and HbR for each imaged pixel.

## 4.5 Results

### 4.5.1 Tissue phantom experiments

#### 4.5.1.1 Experiment 1: Basis chromophore spectra and deconvolution technique

Figure 4.2a shows the calibrated spectra for the blue, yellow and red dyes compared with reference absorption spectra of pure dyes measured using a custom hyperspectral spectrophotometer. The calibrated spectra match the reference absorption spectra with a mean-square average error (across the spectral range) of 2.0% for the blue dye, 2.4% for the yellow dye and 1.9% for the red dye. Maximum discrepancies across the spectral range were 5.7%, 4.5% and 8.2% for the blue, yellow and red dyes, respectively.

Figure 4.2b shows data acquired on the homogenous tissue phantom consisting in a solution containing a mixture of all three dyes in equal parts. Calibrated measured data was compared with

a fitted spectrum corresponding to a weighed sum of the measured calibrated basis spectra associated with each of the dyes. The weighting coefficients resulting from the fit represent the predicted relative proportion of each dye in the solution, namely 0.25 for the blue dye, 0.20 for the red dye and 0.22 for the yellow dye. Since the dyes were mixed in equal amounts, the expected coefficients should all have been equal. As a result, the algorithm predicts the correct relative amounts within approximately 8%.

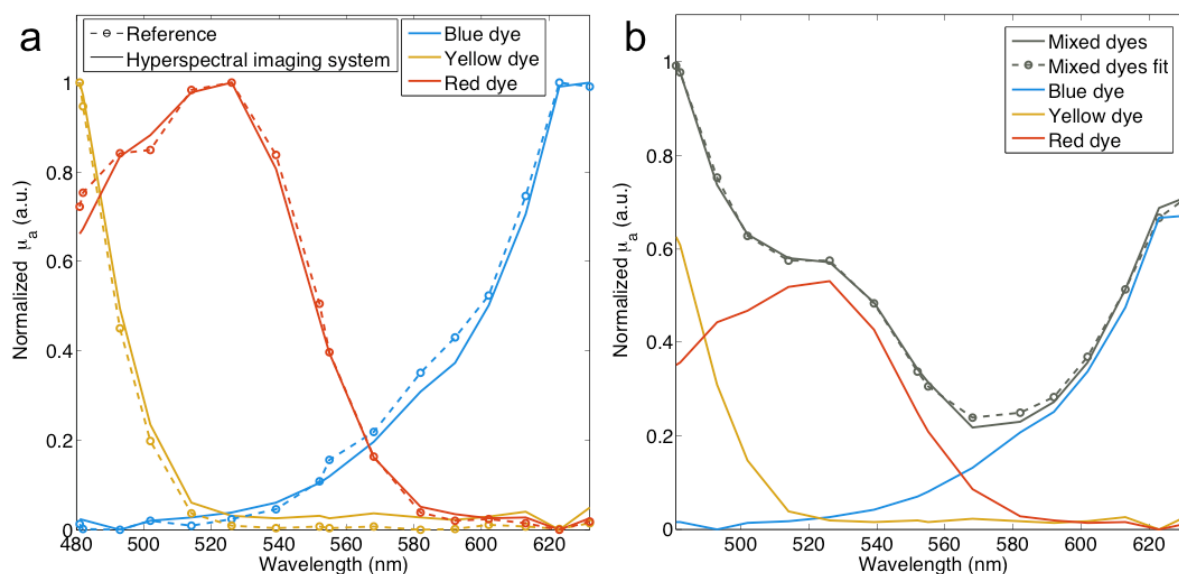


Figure 4.2: Tissue phantom experiments. (a) Calibrated spectra (blue, yellow, and red dyes) acquired with the hyperspectral imaging system compared with reference absorption spectra of pure dyes measured using a custom spectrophotometer. (b) Shown in gray are data representing measured (plain line) and fitted (circle markers) spectra of a phantom containing a mixture of the three dyes. The red, yellow, and red curves represent the fitted spectra for each dye with the amplitude representative of their relative concentrations.

#### 4.5.1.2 Experiment 2: Video-rate spectral deconvolution of multiple absorbers

Spectral unmixing of three dyes (blue, yellow, and red dyes) was then achieved live during video acquisition, as demonstrated in Figure 4.3. Images in the figure represent the reconstituted RGB image as well as images in terms of each of the three dyes for only one frame. A full video of the experiment is provided online (Video 1). The observed higher level of noise in the yellow dye image is due to lower gain of the camera within the 480-500 nm bands corresponding to the location

of the absorption peak of the dye. Figure 4.3 and Video 4.1 demonstrate the capabilities of the hyperspectral system to reconstruct at video-rate the relative concentration of different chromophores based on known basis spectra.

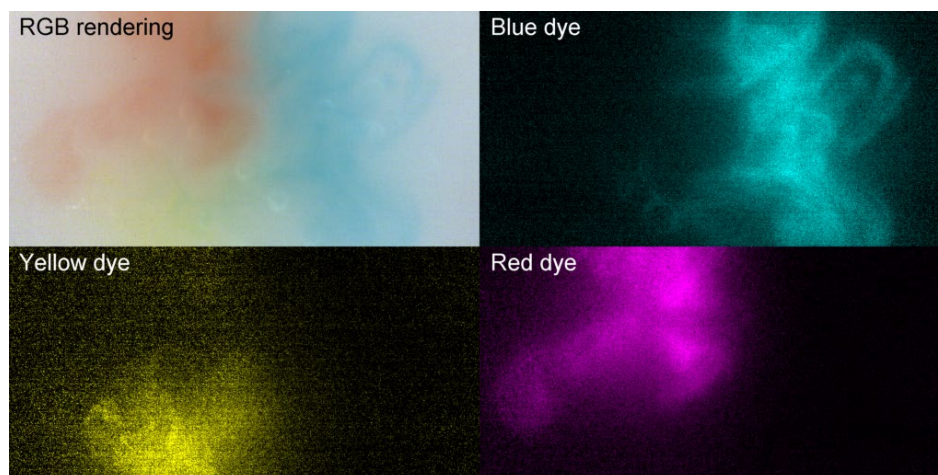


Figure 4.3: Spectral unmixing of three dyes (blue, yellow, and red) live during video acquisition.

The top-left image is a reconstituted RGB image and the other quadrants show relative dye concentration in cyan, yellow, and magenta (for full video see Video 4.1, MP4, 15.1 Mb). Real-time spectral unmixing of three dyes (blue, yellow, and red) (MPEG, 5.9 Mb) [URL: <http://dx.doi.org/10.1117/1.NPH.3.4.045003.1>].

## 4.5.2 Intraoperative neurovascular coupling assessment

Figure 4.4b demonstrates how the differential pathlength correction described in Section 4.4.4.2 can improve the modeling of tissue absorbance changes. Experimental absorbance changes ( $\Delta A$ ) for one ROI is shown and compared to the reconstituted absorbance after fitting the data with the HbO and HbR extinction coefficient spectra with and without the differential pathlength correction. The figure qualitatively shows that the error on the fit is smaller when the differential pathlength correction is applied. Quantitative determination of the improvements was assessed by calculating the average residual between measured data and predicted data across the whole field of view and for the whole duration of the imaging sequence. The residual with the differential pathlength correction is  $5.6 \times 10^{-4}$  (a.u.), which is approximately two times smaller than without the pathlength correction ( $10 \times 10^{-4}$  (a.u.)). The exclusion criteria that was used for this dataset was that fitted data with standardized residuals (calculated by normalizing the residuals by their standard deviation) greater than 2 (absolute value) were excluded, which corresponds to  $\sim 5\%$  of the whole dataset.

Figure 4.5 shows the intraoperative concentration changes of HbO, HbR and HbT for a single time frame. The red regions show an increase in relative concentration while the blue regions show a decrease. Those changes (decrease or increase) are measured relative to the average frame associated with the whole optical data acquisition sequence. Results are shown for filtered data with only the low-frequency components ( $<0.15$  Hz). The figure shows that on average regions with an increase in HbO are associated with regions associated with a decrease in HbR. In order to render more clearly the relatively smaller hemodynamic changes in capillaries, concentration changes in larger blood vessels were artificially attenuated to increase contrast of changes in the parenchyma. This is represented by dark areas in the HbO, HbR and HbT images. In practice, data from the larger blood vessels has stronger (when compared to smaller vessels in cortex) time-varying components associated with heartbeat & respiration rate, and they are associated with limited levels of SNR due to the high absorption coefficient caused by the large concentrations of hemoglobin. As a result, given the limited dynamical range of the camera used in this work, sufficient SNR allowing robust spectral separation between HbO and HbR could only be attained in the cortex. A different acquisition scheme (potentially using a lower frame rate) would be required to insure sufficient SNR across the brain surface. Areas represented in gray in Figure 4.5 correspond to brain regions where camera pixels were saturated due to specular reflections that could not be avoided despite using crossed polarizers in the light paths.

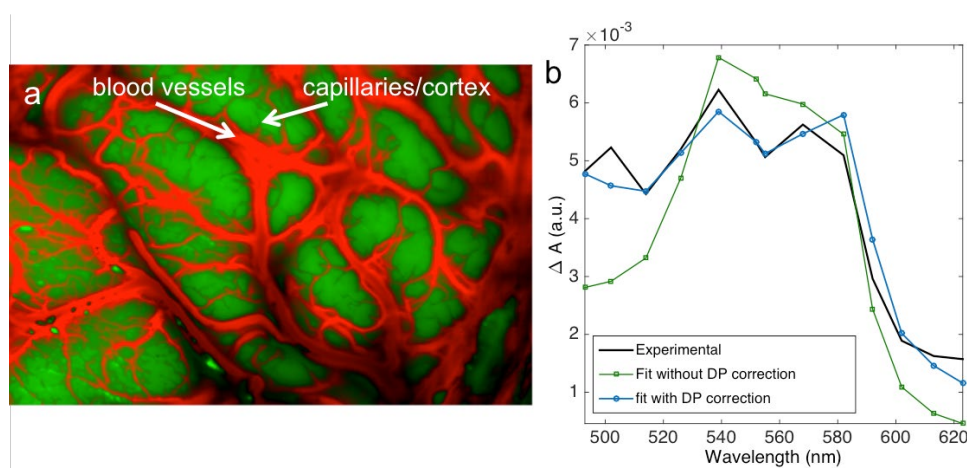


Figure 4.4: (a) False-color image of segmented blood vessels (red) and regions with capillaries and cortex. (b) Absorbance changes for one ROI calculated relative to the average reflectance spectra of this ROI. The HbO and HbR absorption spectra were fitted to the experimental data



(black line) with (blue-circle markers) and without (green-square markers) differential pathlength (DP) correction.

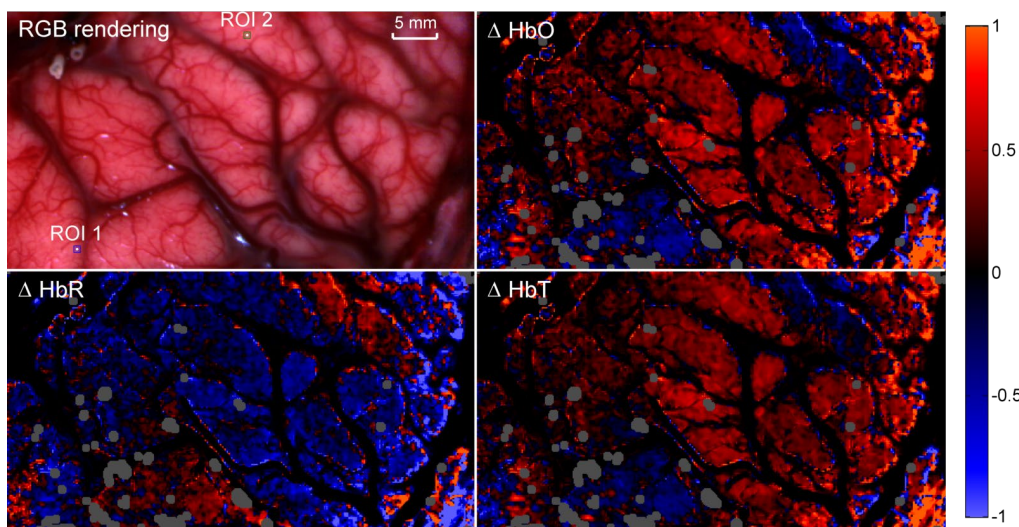


Figure 4.5: In vivo relative concentration maps of oxygenated hemoglobin (HbO), deoxygenated hemoglobin (HbR), and total hemoglobin content (HbT) of surface cortex during intraoperative acquisitions. The top-left image is a reconstituted RGB image where two regions of interest are shown (ROI 1 and ROI 2) where further analysis was made (for full video see Video 2). Real-time in vivo relative concentration maps of oxygenated hemoglobin (HbO), deoxygenated hemoglobin (HbR), and total hemoglobin content (HbT) of surface cortex during intraoperative acquisitions (MPEG, 9.2 Mb) [URL: <http://dx.doi.org/10.1117/1.NPH.3.4.045003.2>].

Top-left image in Figure 4.5 shows the reconstituted RGB image of the brain surface allowing blood vessels to be visualized. Two regions of interest (4 by 4 pixels), labeled ROI 1 and ROI 2, were selected to illustrate the frequency response and hemodynamic response of different areas of the brain. The frequency spectrum for those two regions of interest are shown in Figure 4.6. Areas of increased spectral power density are highlighted corresponding to: breathing and harmonic component (peaks 1 & 2), heartbeat and harmonic components (peaks 3, 4 & 5). In order to produce the HbO, HbR and HbT videos in Figure 4.5, all frequencies above 0.15 Hz were removed using a low-pass filter (Figure 4.7) resulting in only the very low frequencies being displayed. Figure 4.8 shows the  $<0.15$  Hz time-sequences for HbO, HbR and HbT associated with the two regions-of-interest. ECoG recordings indicated the presence of epileptic spikes near the focus during the imaging session. Relative changes in HbO, HbR and HbT therefore possibly represent a combination of Mayer waves, vasomotion and response to epileptic spikes.

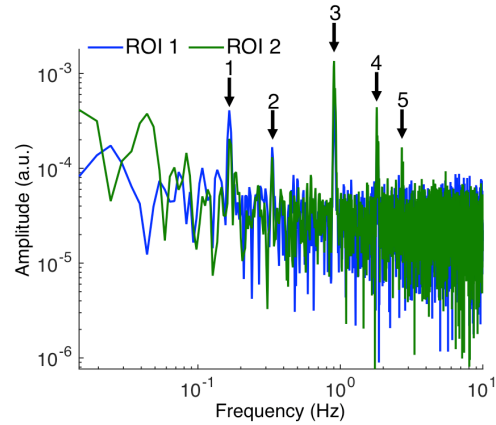


Figure 4.6: Frequency spectrum of the hemodynamic response in the two representative regions of interest (ROI 1 and ROI 2) shown in Fig. 4.4. Areas of increased spectral power density are highlighted corresponding to breathing and one of its harmonic components (peaks 1 and 2), heart rate and harmonic components (peaks 3, 4, and 5).

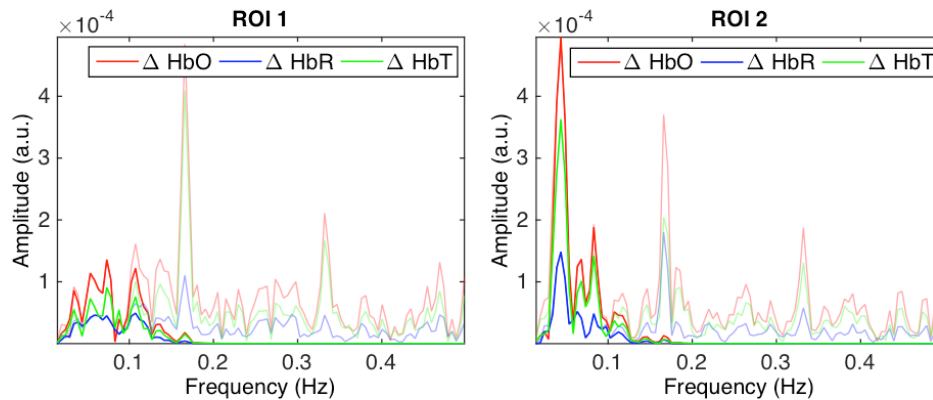


Figure 4.7: Frequency spectra for ROI 1 (a) and ROI 2 (b) in Fig. 4.4 with the low frequencies (<0.15 Hz) represented in darker colors: HbO (red), HbR (blue), and HbT (green). The >0.15 Hz power density spectrum is also shown in the background.



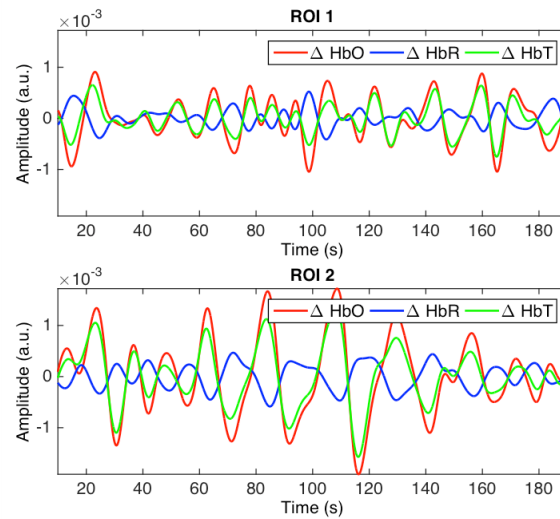


Figure 4.8: Time-sequences of the hemodynamics associated with the  $<0.15\text{ Hz}</math> frequency components for (a) ROI 1 and (b) ROI 2 (see Fig. 4.4): HbO (red), HbR (blue), HbT (green).$

## 4.6 Discussion

The development of a technique was presented that allows real-time hyperspectral imaging in neurosurgery during open cranium procedures. The method was demonstrated in tissue-simulating phantoms to quantify the relative concentration of up to three absorbing dyes in a mixture with  $<10\%$  accuracy. Proof-of-concept during an epilepsy surgical resection procedure was then presented demonstrating relative quantification of the variations in oxyhemoglobin (HbO) and deoxyhemoglobin (HbR) *in vivo* in the human brain. High spatial resolution and high-speed multispectral optical imaging was demonstrated to resolve the time-dependent behaviour of blood vessels oxygenation at 20 fps. Beyond the novelty associated with using a snap-shot hyperspectral camera technique in neurosurgery for the first time to our knowledge, a new intraoperative data processing method was presented combining: (i) a calibration method specifically adapted to the physical nature of the spectroscopic camera in order to correct for inter-band cross-talk, (ii) a registration algorithm to remove brain motion artefacts, (iii) a light transport model-based correction to identify the contributions from reduced scattering and selective absorption, (iv) a spectral unmixing algorithm to quantify the contribution of several chromophores (here HbO and HbR), (v) a frequency domain filtering operation applied on the time-course of each biomarker to

eliminate signal contributions associated with physiological processes such as heart beat and breathing rate.

Recent progress in brain research led to the realisation that baseline variations in blood flow with temporal frequencies between  $\sim 0.01$  and  $0.15$  Hz are combinations of resting state activity, Mayer waves, vasomotion and response to other physiological activities. Here, optical data acquired from a single human subject during tissue resection surgery were analyzed. For that patient, direct electrical recordings on the cortex with ECoG were available allowing to locate the epileptic focus and to identify the presence of interictal spikes during image acquisition. Based on this preliminary proof-of-concept work, we can conclude that observed hemodynamic variations are probably a combination of resting-state activities and response to epileptic spikes. The spatial and temporal correlations between those spikes and hemodynamic fluctuations as well as unmixing of the different activities still need to be studied and substantiated based on in-depth analysis in the scope of studies involving larger cohorts of epilepsy patients.

## **4.7 Acknowledgments**

We would like to thank IMEC for technical assistance during the development phase of the instrument. This work was supported by the Discovery Grant program from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and the Canadian Foundation for Innovation (CFI).

## CHAPITRE 5    SYSTÈME D'IMAGERIE DANS LE DOMAINE DES FRÉQUENCES SPATIALES

### 5.1 Introduction

À la différence des méthodes d'imagerie fonctionnelle qui évaluent l'activité cérébrale, les méthodes d'imagerie structurale mettent en valeur les structures des tissus. Elles permettent d'évaluer des propriétés anatomiques et géométriques, de détecter des lésions et de diagnostiquer des anomalies au niveau de la morphologie des tissus. L'imagerie dans le domaine des fréquences spatiales est une technique structurale, qui est basée sur les contrastes d'absorption et de diffusion de la lumière [27]. Dans le cerveau, le coefficient d'absorption dépend principalement de la concentration d'hémoglobine, alors que le coefficient de diffusion est plutôt associé à la structure des cellules, des composants cellulaires et à leur arrangement architectural [15]. C'est ce qui explique les écarts entre les valeurs des coefficients de diffusion de la matière grise (qui contient principalement les corps cellulaires) et de la matière blanche (principalement composée d'axones et de gaines de myéline). En effet, le coefficient de diffusion de la matière blanche peut être de 2 à 10 fois supérieur à celui de la matière grise [102], [104], [105]. La valeur du coefficient de diffusion varie également selon les individus et selon l'état pathologique du cerveau. Des altérations biologiques causées par certaines pathologies comme un noyau cellulaire élargi, une rupture de la membrane cellulaire ou encore une taille ou une concentration élevée de mitochondries peuvent varier la valeur de  $\mu_s$  [15],[106].

L'imagerie du coefficient de diffusion peut être utile aux interventions chirurgicales afin de détecter, par exemple, l'étendue de lésions cérébrales ou de tumeurs, qui présentent des structures cellulaires différentes du tissu sain. Dans le contexte de l'épilepsie, les coefficients d'absorption et de diffusion présentent un intérêt pour la détection de certaines lésions, comme la dysplasie corticale focale (FCD, de l'anglais *Focal Cortical Dysplasia*). La FCD est une malformation corticale congénitale pouvant mener à l'épilepsie et qui est caractérisée par une architecture corticale modifiée et une forme cellulaire anormale [107]. Ces altérations structurelles ont un effet sur le coefficient de diffusion et peuvent donc potentiellement être visibles en SFDI.

L'imagerie du coefficient d'absorption permet d'évaluer la concentration d'hémoglobine dans un tissu. Avec le SFDI, il est donc possible d'obtenir la concentration absolue de HbO et HbR

comparativement à des valeurs relatives exprimées par l'imagerie multispectrale. Dans le cadre de cette thèse, ceci permet de compléter l'étude des changements hémodynamiques. Il est possible de penser à des analyses comparatives entre les patients ou entre différents types d'activité neuronale par exemple.

Dans le contexte du cerveau, les coefficients d'absorption et de diffusion sont également utilisés dans les systèmes d'imagerie en fluorescence pour le guidage chirurgical de tumeurs [108], [109]. Bien qu'elles soient spécifiques aux marqueurs étudiés, une des limitations importantes des techniques d'imagerie en fluorescence est l'effet des propriétés optiques sur le signal de fluorescence détecté. En effet, les coefficients d'absorption et de diffusion du tissu affectent l'intensité du signal de fluorescence arrivant au détecteur, pouvant causer une erreur d'interprétation du taux de molécules fluorescentes présentes dans le tissu. La connaissance des valeurs de  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  permet de développer des modèles de correction d'intensité de fluorescence tenant compte de ces paramètres [110]. Le SFDI a aussi été utilisé en neurochirurgie pour détecter la profondeur des tumeurs fluorescentes [109].

Ce chapitre présente les travaux que j'ai effectués sur le développement de systèmes d'imagerie dans le domaine des fréquences spatiales avec le but de d'imager les coefficients d'absorption et de diffusion réduit du cerveau. Un premier système a été conçu pour l'étude d'échantillons *ex vivo* avec la collaboration d'Émile Beaulieu. Ce projet a mené à la publication d'un article où je suis deuxième auteure. Les résultats de cet article où mon travail est majoritaire seront présentés à la section 5.3. Ensuite, un système SFDI couplé à un microscope neurochirurgical a été développé en collaboration avec Leticia Angulo. Les détails du système et les résultats préliminaires obtenus sont présentés à la section 5.4. La conception optique des systèmes a été fait en collaboration, mais j'ai effectué toute l'implémentation des algorithmes de traitement de données présentés. Ce chapitre présente tout d'abord la théorie relative au SFDI, les algorithmes de traitement de données développés, les systèmes d'imagerie conçus dans le cadre de la thèse, puis les résultats obtenus sur des fantômes et sur des échantillons de tissu *ex vivo*.

## 5.2 Théorie

La majorité des équations présentées dans cette section proviennent de l'article «*Quantitation and mapping of tissue optical properties using modulated imaging*» publié par Cuccia *et al.* en 2009

[31]. Cet article établit les bases du SFDI (aussi appelé *Modulated Imaging*) et les éléments théoriques principaux sont repris ici.

### 5.2.1 Réflectance en fonction de la fréquence spatiale des patrons

On peut obtenir l'équation de la réflectance pour un signal modulé en fréquence spatiale en utilisant l'approximation de la diffusion à l'équation radiative de transport de la lumière (équation 2.1). Le terme de source se définit comme

$$q = q_0(z) \cos(2\pi f_x x + \alpha), \quad (5.1)$$

où  $f_x$  est la fréquence spatiale des patrons,  $\alpha$  est la phase,  $x$  est la direction de l'onde et  $z$  est la profondeur dans le tissu. Le terme de fluence de l'équation de la diffusion peut être considéré comme proportionnel au terme de source :

$$\varphi = \varphi_0(z) \cos(2\pi f_x x + \alpha) \quad (5.2)$$

La Figure 5.1 illustre la propagation du patron de lumière dans un tissu biologique, avec une atténuation de l'intensité de la fluence en fonction de la profondeur. En insérant les équations 5.1 et 5.2 dans l'équation 2.1 (équation de la diffusion) et en résolvant l'équation différentielle, on obtient cette expression de la réflectance en fonction de la fréquence spatiale

$$R_d(f_x) = \frac{3Aa'}{\left(\frac{\mu'_{eff}}{\mu_{tr}} + 1\right) \left(\frac{\mu'_{eff}}{\mu_{tr}} + 3A\right)} \quad (5.3)$$

avec

$$\mu'_{eff} = \sqrt{\mu_{eff}^2 + (2\pi f_x)^2}. \quad (5.4)$$

La constante de proportionnalité  $A$  et le coefficient de réflexion effectif  $R_{eff}$  sont définis comme

$$\frac{1 - R_{eff}}{2(1 - R_{eff})} \quad R_{eff} \approx 0.0636n + 0.668 + \frac{0.710}{n} - \frac{1.440}{n^2} \quad (5.5)$$

où  $n$  est l'indice de réfraction et  $a' = \frac{\mu'_s}{\mu_{tr}}$  est l'albedo réduit. En observant les équations 5.3 et 5.4, il est possible de déduire que pour un couple  $(\mu_a, \mu'_s)$ , la réflectance est inversement proportionnelle à la fréquence spatiale  $f_x$ . Le tissu agit alors comme un filtre passe-bas, en atténuant les hautes fréquences.

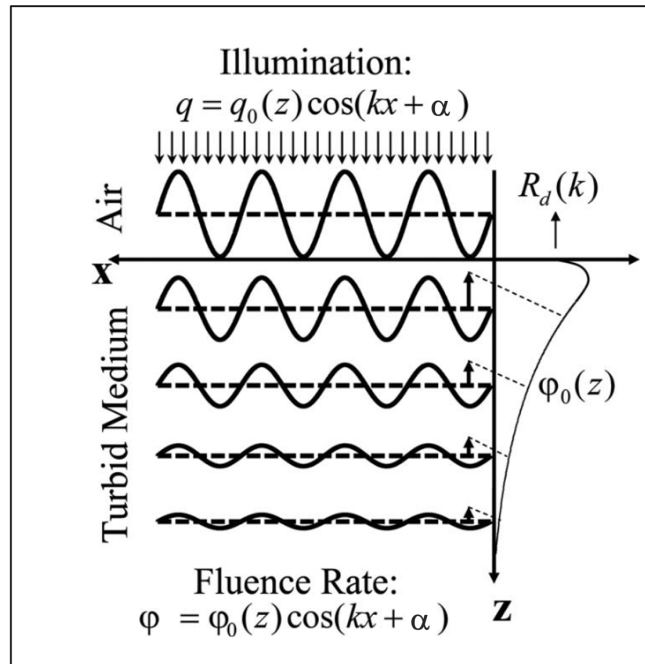


Figure 5.1 Schéma de la source d'illumination modulée selon la direction  $x$  et la fluence résultante modulée selon les mêmes paramètres. Reproduit avec permission de [31].

Étant donné que cette forme de l'équation de la réflectance provient de l'approximation de la diffusion, elle est valide seulement pour  $\mu'_s \gg \mu_a$ . Cette équation est également valide lorsque la distance  $\rho$  entre les points de source est supérieure au parcours moyen des photons  $l^*$ . Puisque  $f_x$  est proportionnel à  $1/\rho$  et que  $l^*$  correspond à l'inverse du coefficient d'atténuation  $\mu_{tr}$ , la condition devient  $f_x \ll \mu_{tr}$ , avec  $\mu_{tr} = \mu_a + \mu'_s$ . Lorsque les conditions ne sont pas respectées, il est préférable d'utiliser des simulations de type Monte Carlo pour calculer la réflectance. Une méthode proposée est de tout d'abord simuler la réflectance en fonction de la distance de la source  $R_d(\rho)$  pour un milieu semi-infini et une illumination collimée ponctuelle. Puisque cette réflectance représente la réponse impulsionnelle à une illumination ponctuelle, son expression en fonction de la fréquence spatiale peut être obtenue par une transformation de Fourier, qui se réduit dans ce cas à une transformation de Hankel 1-D d'ordre zéro :

$$R_d(f) = 2\pi \int \rho J_0(2\pi f \cdot \rho) R_d(\rho) d\rho \quad (5.6)$$

Où  $J_0(2\pi f \cdot \rho)$  est la fonction de Bessel d'ordre zéro. Pour résoudre l'équation numériquement, on peut l'écrire comme :

$$R_d(k) = 2\pi \sum_{i=1}^n \rho_i J_0(2\pi f \cdot \rho_i) R_d(\rho_i) \Delta\rho_i \quad (5.7)$$

Avec  $n$  intervalles finis  $\Delta\rho_i$ .

Les résultats de réflectance obtenus par l'équation de la diffusion (équation 5.3) ont une erreur d'environ 15% par rapport aux simulations Monte Carlo [31]. Cette erreur s'agrandit lorsque le ratio  $\mu'_s/\mu_a$  diminue, c'est-à-dire lorsque la condition de la diffusion n'est plus respectée, ou lorsque le parcours moyen ( $1/\mu_{tr}$ ) augmente. En effet, lorsque  $\mu_{tr}$  diminue, la condition  $f_x \ll \mu_{tr}$  n'est plus respectée. Il existe donc une borne supérieure à la fréquence spatiale qui peut être utilisée pour que l'équation de la diffusion soit valide.

## 5.2.2 Algorithmes de modulation de signal et de calibration

Le patron de lumière sinusoïdal envoyé sur l'échantillon peut être modélisé comme

$$S = \frac{S_0}{2} [1 + M_0 \cos(2\pi f_x x + \alpha)] \quad (5.8)$$

avec  $S_0$  l'intensité de la source,  $M_0$  la profondeur de modulation,  $f_x$  la fréquence spatiale et  $\alpha$  la phase de l'onde. L'intensité détectée en réflectance est la somme d'une composante DC et d'une composante AC, où la composante AC peut s'écrire comme

$$I_{AC} = M_{AC}(x, f_x) \cdot \cos(2\pi f_x x + \alpha) \quad (5.9)$$

où  $M_{AC}$  est l'amplitude de la modulation de la réflectance à un endroit précis sur l'échantillon et pour une certaine fréquence spatiale. Sur la Figure 5.2, le terme de modulation  $M_{AC}$  représente l'enveloppe du signal mesuré.

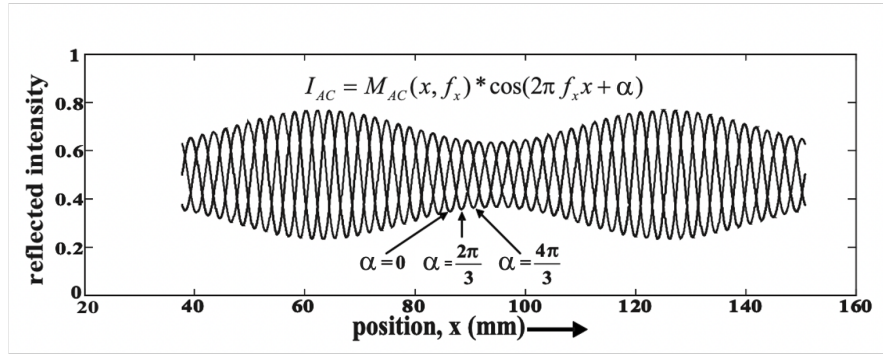


Figure 5.2 Schéma de la réflectance modulée. Figure adaptée de [31]

La technique consiste à projeter des patrons sinusoïdaux à trois phases ( $\alpha=0, 2\pi/3$  et  $4\pi/3$  radians) et à les imager successivement. Pour reconstruire le terme  $M_{AC}$ , des algorithmes de traitement de signal sont utilisés et permettent d'obtenir l'équation :

$$M_{AC}(x_i, f_x) = \frac{\sqrt{2}}{3} \sqrt{[I_1(x_i) - I_2(x_i)]^2 + [I_2(x_i) - I_3(x_i)]^2 + [I_3(x_i) - I_1(x_i)]^2} \quad (5.10)$$

où  $I_1, I_2$  et  $I_3$  sont les images acquises aux trois différentes phases. La mesure expérimentale  $M_{AC}$  comprend aussi la réponse du système d'imagerie lui-même.  $M_{AC}$  est donc un produit de la réflectance du tissu  $R_d$ , de l'intensité de la source  $I_0$  et de la réponse du système d'imagerie  $MTF_{système}$  :

$$M_{AC}(x_i, f_x) = I_0 \cdot MTF_{système}(x_i, f_x) \cdot R_d(x_i, f_x) \quad (5.11)$$

$R_d$  représente la réflectance réelle de l'échantillon et c'est la variable d'intérêt qu'on cherche à reconstruire. Au lieu de tenter de caractériser avec précision la réponse du système pour isoler la réflectance de l'échantillon  $R_d$ , il est possible d'utiliser un échantillon de référence, aux propriétés optiques connues, pour calibrer les mesures. La mesure expérimentale  $M_{AC}$  est alors divisée par la mesure de l'échantillon de référence  $M_{AC,ref}$ , ce qui permet d'éliminer les termes spécifiques au système d'imagerie dans l'équation. En réorganisant les termes, on obtient :

$$R_d(x_i, f_x) = \frac{M_{AC}(x_i, f_x)}{M_{AC,ref}(x_i, f_x)} \cdot R_{d,ref}(x_i, f_x) \quad (5.12)$$

Dans cette équation, les termes  $M_{AC}$  et  $M_{AC,ref}$  sont des mesures expérimentales prises sur l'échantillon d'intérêt et sur un fantôme de référence respectivement. Le terme  $R_{d,ref}$  représente la



réflectance du fantôme de référence, dont la valeur est calculable à l'aide de l'équation 5.3 ou par simulation Monte Carlo. La réflectance de l'échantillon inconnu  $R_d$  peut être obtenue à l'aide de l'équation 5.12. Finalement, la dernière étape du traitement de données consiste à utiliser une table de référence de la réflectance en fonction de la fréquence spatiale préalablement simulée (par exemple à l'aide de simulations Monte Carlo) pour plusieurs valeurs de  $\mu_a$ ,  $\mu'_s$  et  $f_x$ . En comparant la réflectance expérimentale de l'échantillon avec les réflectances de la table de référence, il est possible de trouver celle se rapprochant le plus du résultat expérimental et ainsi en déduire les valeurs de  $\mu_a$  et  $\mu'_s$ . Plus spécifiquement, la méthode des moindres carrés peut être utilisée afin d'identifier la courbe de modulation ayant le comportement le plus proche des résultats expérimentaux.

Un ensemble de données SFDI consiste donc en une série d'images acquises pour quelques fréquences spatiales (minimum deux), phases (généralement trois, mais quatre phases peuvent également être utilisées dans certains cas) et pour différentes longueurs d'onde d'intérêt. Un ensemble de données peut donc représenter quelques dizaines d'images selon les contextes d'application. La Figure 5.3 présente un résumé des étapes de traitement de données et des différentes images obtenues.

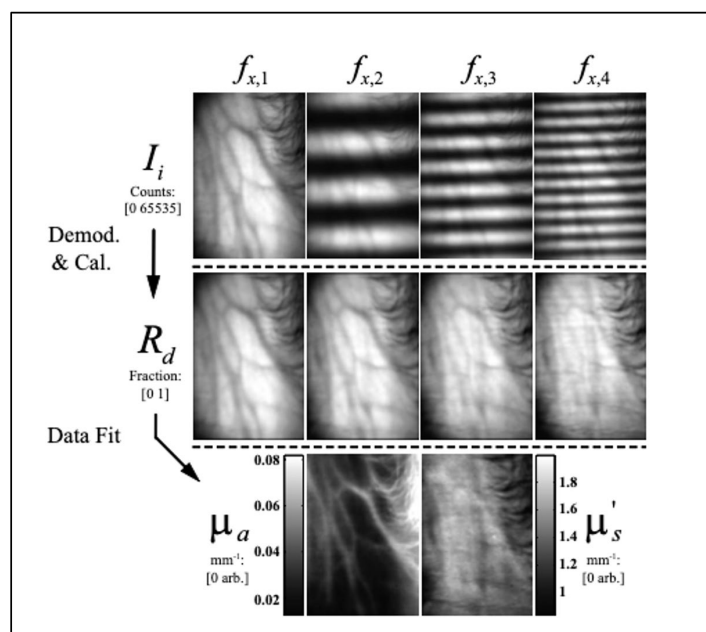


Figure 5.3 Étapes de traitement de données du système d'imagerie SFDI. La première rangée montre les images acquises pour des patrons de différentes fréquences spatiales (une seule phase montrée), la deuxième rangée montre la valeur de la réflectance calibrée obtenue (résultat de

l'équation 5.4) et la dernière rangée montre les valeurs des propriétés optiques reconstruites.

Reproduit avec permission de [31].

## 5.2.3 Correction pour un échantillon non-planaire

### 5.2.3.1 Profilométrie par déphasage

La technique d'imagerie présentée ci-haut s'applique à des échantillons plats. Pour des échantillons comportant un certain profil 3D, il y a des différences de hauteur et d'angle à la surface par rapport au fantôme de référence, causant des erreurs sur la réflectance calculée lors de la calibration à l'aide de l'équation 5.12. Des méthodes de calibration basées sur des mesures par profilométrie peuvent alors être utilisées pour tenir compte des variations surfaciques de l'échantillon [34].

La profilométrie par déphasage consiste à projeter des patrons de lumière à différentes phases spatiales et à en observer les déformations pour reconstruire la topologie de l'échantillon [111]. Une méthode consiste à projeter quatre patrons sinusoïdaux déphasés de  $\pi/2$  et à détecter les patrons déformés par la surface de l'échantillon. Pour fonctionner, il doit y avoir un angle entre les axes optiques d'illumination et de détection afin de pouvoir observer la déformation ou « l'ombrage » des patrons. Pour quatre images  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_3$  et  $I_4$  correspondant aux quatre patrons projetés et déphasés de  $\pi/2$ , la phase correspond à

$$\tan[\phi(x, y)] = \frac{I_4 - I_2}{I_1 - I_3} \quad (5.13)$$

La hauteur de l'objet est ensuite proportionnelle à la phase calculée. Pour obtenir la hauteur absolue en cm, la phase doit ensuite être multipliée par des facteurs de calibration.

### 5.2.3.2 Calibration

La méthode de calibration du SFDI développée par Gioux *et al.* consiste à construire une table de relation entre la courbe  $M_{AC,ref}$  et la hauteur, en mesurant en SFDI un fantôme plat de référence à différentes hauteurs. Lors de la mesure d'un échantillon inconnu, la mesure de profilométrie est tout d'abord réalisée pour connaître la hauteur en chaque pixel. La courbe de référence  $M_{AC,ref}$  correspondant à cette hauteur est alors sélectionnée. Cette étape est réalisée pour chaque pixel de l'image, ce qui permet de construire une matrice de courbes de calibration  $M_{AC,ref\_hauteur}$  à la bonne hauteur.

La méthode de Gioux *et al.* propose également une correction angulaire. Dans ce cas,  $M_{AC,ref\_hauteur}$  est multiplié par le cosinus de l'angle formé par le vecteur normal à la surface et l'axe de détection de la caméra (Figure 5.4) [34].

L'équation 5.13 devient alors

$$R_d(x_i, f_x) = \frac{M_{AC}(x_i, f_x)}{M_{AC,ref\_corrigée}(x_i, f_x)} \cdot R_{d,ref}(x_i, f_x) \quad (5.14)$$

Avec

$$M_{AC,ref\_corrigée}(x_i, f_x) = M_{AC,ref\_hauteur}(x_i, f_x) \cdot \cos(\theta) \quad (5.15)$$

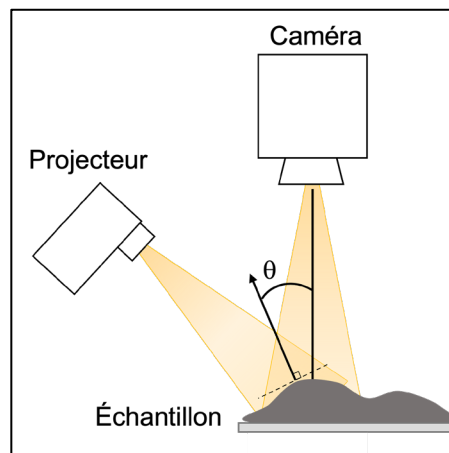


Figure 5.4 Système SFDI pour un échantillon non-planaire. L'angle  $\theta$  est défini comme l'angle entre la normale à la surface et l'axe de détection.

### 5.3 Développement d'un système d'imagerie SFDI pour l'étude d'échantillons

Dans le cadre de cette thèse, un système d'imagerie SFDI sur table optique a été conçu pour imager des échantillons *ex vivo*. Le système a été conçu en collaboration avec Émile Beaulieu et a été pensé pour qu'il fonctionne à la fois pour le SFDI et pour les autres modalités de son projet (réflectance et fluorescence endogène) [112], [113]. Seulement le mode SFDI du système d'imagerie est présenté ici étant donné que mon travail pour cette partie était majoritaire.

### 5.3.1 Système d'imagerie

Le système est composé d'une branche de détection centrale et de deux branches d'illumination distinctes, une pour la fluorescence/réflectance et l'autre pour le SFDI (Figure 5.5a et b). Une source de lumière composée de sept diodes électroluminescentes (DEL) haute puissance aux longueurs d'onde 405, 435, 475, 515, 550, 570 et 630 nm a été utilisée pour l'illumination (79–536 mW, modèle Spectra X, Lumencor, États-Unis). La source était connectée à un projecteur (CEL5500, DLI, USA) permettant de générer des patrons de lumière projetés sur l'échantillon. Un polariseur linéaire (wiregrid, Edmund Optics, États-Unis) a été placé en sortie du projecteur. Une caméra sCMOS de  $2048 \times 2048$  pixels (C11440-22CU, Hamamatsu, Japon) couplée à un objectif asphérique (LM25XC, Kowa, USA) ont été utilisés pour la détection. Un filtre accordable à cristaux liquides (LCTF) avec une plage de fonctionnement comprise entre 400 et 720 nm (modèle VIS, Varispec, USA) a été placé devant la caméra afin de permettre le balayage en longueur d'onde des images. Un polariseur linéaire a été placé dans le chemin de détection et aligné à 90 degrés par rapport au premier polariseur afin de limiter les réflexions spéculaires. Sur la Figure 5.5a et b, seulement la branche d'illumination de gauche et la branche de détection centrale ont été utilisées pour le SFDI.

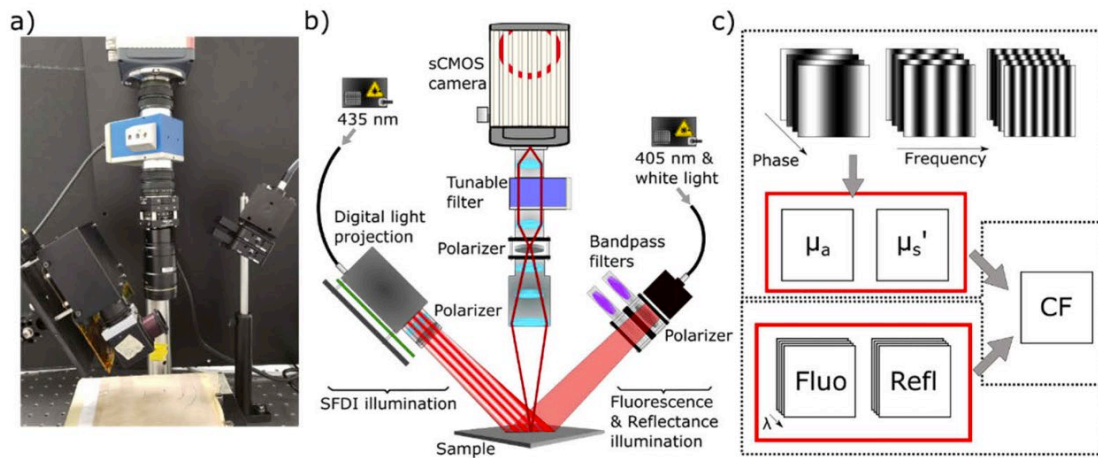


Figure 5.5 Système d'imagerie SFDI-fluorescence pour l'étude d'échantillons *ex vivo* (a) Photographie du système d'imagerie multimodal. (b) Schéma du système avec la branche de détection et les deux branches d'illumination permettant l'imagerie en réflectance/fluorescence (à droite) et en SFDI (à gauche). (c) Diagramme représentant les étapes d'acquisition et de traitement de données. Les coefficients d'absorption et de diffusion réduite obtenus par SFDI ont

été combinés aux mesures en fluorescence et réflectance pour obtenir une mesure de fluorescence corrigée (CF). Reproduit avec permission de [113]

L'acquisition des données a été effectuée à l'aide d'un programme *LabVIEW* (National Instruments, États-Unis) contrôlant la caméra, les paramètres du LCTF (nombre de bandes spectrales, plage spectrale, temps d'imagerie) et le projecteur (fréquence spatiale et phase des patrons sinusoïdaux). Un algorithme d'exposition automatique a été développé pour ajuster le temps d'exposition à chaque longueur d'onde afin de maximiser le rapport signal sur bruit (SNR, de l'anglais *Signal-to-Noise Ratio*). Une cible de résolution a permis de caractériser la résolution spatiale du système à 70  $\mu\text{m}$ , un champ de vision de  $5,5 \times 5,5$  cm et une profondeur de champ de 1,5 cm.

### 5.3.2 Acquisition, traitement de données et calibration géométrique

Afin de caractériser en détail les performances du système et la sensibilité des algorithmes de traitement de données, des patrons de lumière à 10 fréquences spatiales ont été utilisés. Étant donné que l'algorithme de profilométrie nécessitait quatre patrons déphasés de  $\pi/2$ , les algorithmes de reconstruction pour le SFDI ont été adaptés pour utiliser des images à quatre phases plutôt que trois. Ceci permettait donc d'utiliser les mêmes images pour l'analyse en profilométrie et pour le SFDI, ce qui a sauvé du temps d'acquisition.

Il est possible de généraliser l'équation du calcul de la variable  $M_{AC}$  pour quatre phases et de déterminer algébriquement le pré-facteur de l'équation, ce qui mène à

$$M_{AC} = \frac{1}{\sqrt{3}} \{ [I_1(x_i) - I_2(x_i)]^2 + [I_1(x_i) - I_3(x_i)]^2 + [I_1(x_i) - I_4(x_i)]^2 + [I_2(x_i) - I_3(x_i)]^2 + [I_2(x_i) - I_4(x_i)]^2 + [I_3(x_i) - I_4(x_i)]^2 \}^{\frac{1}{2}} \quad (5.16)$$

Les images acquises de patrons à chaque fréquence spatiale et phase ont été premièrement calibrées en soustrayant une image du bruit de fond (*darkcounts*) acquise en éteignant la source d'illumination. L'équation 5.16 a été utilisée pour chacune des fréquences afin d'en calculer la fonction de transfert  $M_{AC}$ . Un fantôme de référence aux propriétés optiques connues a été mesuré afin de calibrer la réponse de l'instrument selon l'équation 5.12.

Les fonctions de transfert de référence pour les fantômes de référence ont été calculées à partir d'un simulateur White Monte Carlo (Virtual Photonics Technology Initiative, USA). Cette variante de la méthode Monte Carlo permet de simuler une seule fois la réflectance pour un certain milieu

( $\mu_a=0$  et  $\mu'_s$  très faible), puis d'ajuster le résultat pour chaque couple de propriétés optiques voulu [114]. Une modification de la taille du milieu est appliquée pour tenir compte de la diffusion puis la loi de Beer-Lambert est utilisée pour tenir compte de l'absorption [115], [116]. De cette façon, les résultats ne prennent que quelques millisecondes à calculer contrairement à des simulations de plusieurs minutes/heures pour des volumes complets.

L'algorithme de correction du profil 3D a été utilisé pour tenir compte des variations de hauteur et de la courbure de l'échantillon. Afin de calibrer les  $M_{AC}$  en fonction de la hauteur, un fantôme de référence en forme d'escalier a été utilisé, fournissant alors en une seule image plusieurs valeurs de hauteur connues.

### 5.3.3 Validation sur fantômes liquides

La première expérience réalisée visait à calculer la précision des reconstructions des propriétés optiques sur des échantillons planaires. Des fantômes optiques liquides ont été fabriqués à base d'eau, d'Intralipid® (Fresenius Kabi Canada, Canada) et de colorants alimentaires (McCormick, États-Unis). Les coefficients d'absorption des colorants ont été obtenus par une mesure au spectrophotomètre et leur coefficient de diffusion a été estimé à 0. Le coefficient de diffusion réduit de l'Intralipid a été obtenu à partir de valeurs de la littérature [117] et son coefficient d'absorption a été estimé à 0.

Pour évaluer la précision des reconstructions sur une grande plage de propriétés optiques, un ensemble de 80 fantômes a été réalisé et mesuré à 435 nm. Les fantômes ont été divisés en deux expériences : à basse absorption (72 fantômes) et à haute absorption (8 fantômes). Deux fantômes de référence différents ont été utilisés selon les expériences. L'étendue des propriétés optiques est présentée au tableau 5.1 pour les deux expériences. Les mesures SFDI ont été réalisées à six fréquences spatiales, entre 0 et  $0,3 \text{ mm}^{-1}$ . Au-delà de  $0,3 \text{ mm}^{-1}$ , l'intensité du patron était trop faible et sa résolution spatiale, limitée par le projecteur, n'était pas suffisante. Les patrons ont été générés à partir de Matlab (en unités de  $\text{pixel}^{-1}$ ) et une calibration spatiale à l'aide d'une cible de résolution a permis de déterminer la relation de pixel à mm. Les fréquences obtenues sont  $f_x = 0,041; 0,082; 0,123; 0,144; 0,164$  et  $0,246 \text{ mm}^{-1}$  et les 4 phases utilisées sont  $\alpha = 0, \pi/2, \pi$  et  $3\pi/2$  radians.

Tableau 5.1 Valeurs des propriétés optiques des fantômes liquides

	Fantômes à mesurer		Fantôme de référence	
	$\mu_a$ (mm <sup>-1</sup> )	$\mu'_s$ (mm <sup>-1</sup> )	$\mu_a$ (mm <sup>-1</sup> )	$\mu'_s$ (mm <sup>-1</sup> )
Expérience 1	0,022 – 0,44	0,72 – 2,16	0,05	1,2
Expérience 2	0,22 – 1,32	0,72 – 1,92	0,66	1,1

Les résultats des reconstructions sont présentés à la Figure 5.6, où l'on peut voir la valeur moyenne des propriétés optiques sur tout le champ de vue et où les barres d'erreur illustrent l'écart-type. Pour l'expérience 1, l'erreur moyenne sur les reconstructions par rapport aux valeurs théoriques était de 5,2% pour  $\mu_a$  et 3,9% pour  $\mu'_s$ . Pour l'expérience 2, l'erreur moyenne sur les reconstructions par rapport aux valeurs théoriques était de 5,2% pour  $\mu_a$  et 4,4% pour  $\mu'_s$ . Le fait d'utiliser un fantôme de référence avec un  $\mu_a$  plus élevé (et donc plus proche de celui des fantômes mesurés) a permis de réduire les erreurs de 5%.

Il est donc important d'utiliser un fantôme de référence aux propriétés optiques similaires à celles attendues. C'est une des limitations de la technique de calibration (équation 5.12), qui pourrait être dû à une imprécision au niveau du modèle utilisé pour le calcul de la réflectance dans la table de référence, ou encore à une limitation de la plage dynamique du capteur. Ceci signifie d'utiliser un fantôme différent selon la longueur d'onde à laquelle sont réalisées les mesures, étant donné que l'absorption varie significativement entre 400 et 600 nm par exemple.

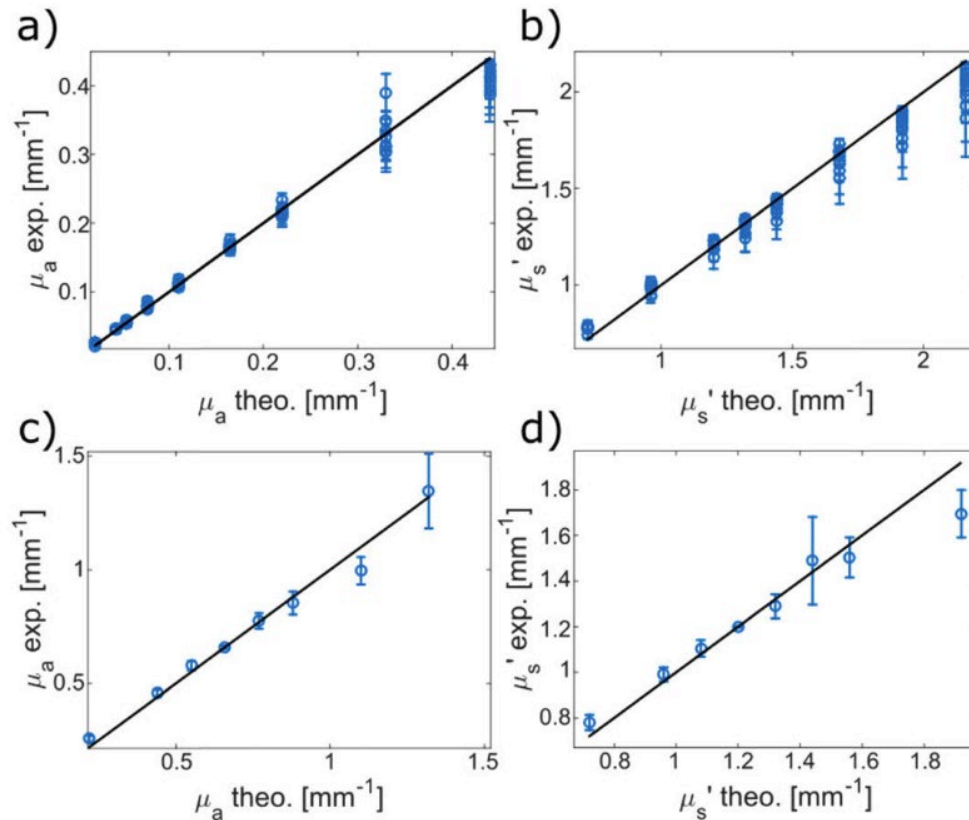


Figure 5.6 Propriétés optiques mesurées et théoriques de fantômes optiques. (a) coefficient d'absorption et (b) coefficient de diffusion réduit dans un régime de basse absorption, (c) coefficient d'absorption et (d) coefficient de diffusion réduit dans un régime de haute absorption. Chaque point de (a) et (c) est associé à un coefficient de diffusion réduit différent et chaque point de (b) et (d) sont associés à un coefficient d'absorption différent. Reproduit avec permission de [113]

### 5.3.4 Résultats de la calibration du profil 3D

Pour valider la précision de l'imagerie sur des échantillons non-planaires, des fantômes solides ont été conçus aux propriétés optiques homogènes, mais avec différents profils 3D. Les fantômes ont été fabriqués à partir de polymère polydiméthylsiloxane (PDMS), de poudre de  $\text{TiO}_2$  et du colorant nigrosine. Les préparations de fantômes ont été réalisées puis coulées dans des moules conçus à l'aide d'une imprimante 3D. La méthode de fabrication des fantômes qui a été développée se trouve à l'annexe A.



Quatre fantômes solides ont été conçus. Deux fantômes en forme d'escalier (8 marches chacune haute de 3 mm) ont été fabriqués pour évaluer l'effet de la correction de la hauteur sur la reconstruction des propriétés optiques. Un fantôme en forme de quart de sphère (rayon de 2 cm) a été fabriqué pour évaluer la correction angulaire. Finalement, un fantôme planaire a été fabriqué pour agir comme fantôme de référence pour la calibration.

Tableau 5.2 Valeurs des propriétés optiques des fantômes solides

	Valeurs de $\mu_a$ ( $\text{mm}^{-1}$ )	Valeurs de $\mu'_s$ ( $\text{mm}^{-1}$ )
Fantôme plat	0,06	1,30
Escalier 1	0,02	0,88
Escalier 2	0,03	0,62
Quart de sphère	0,03	0,9

L'escalier 1 a servi de référence pour construire la table de  $M_{AC,ref}$  en fonction de la hauteur. L'escalier 2 et le quart de sphère ont été imagés et l'algorithme de profilométrie a été utilisé pour reconstruire leur hauteur. Les termes  $M_{AC,ref}$  associés à la hauteur correspondante à chaque pixel de l'escalier 2 et du quart de sphère ont été utilisés pour construire numériquement leur fantôme de référence. L'angle normal à la surface pour chaque pixel a été calculé, puis la correction angulaire a été implémentée selon l'équation 5.15. L'algorithme de SFDI a ensuite permis de retrouver les coefficients d'absorption et de diffusion.

À des fins de comparaison, le fantôme plat a aussi été utilisé comme fantôme de référence (sans appliquer de correction angulaire ou de hauteur). Les valeurs de  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  ont été comparées aux valeurs théoriques des fantômes du tableau 5.2 pour les données non-corrigées et corrigées. La Figure 5.7 présente les résultats pour les deux fantômes. La correction géométrique de la hauteur a permis de réduire l'erreur moyenne de 127% à 3,3% pour l'absorption et de 28% à 2,5% pour la diffusion. La correction angulaire a permis de réduire l'erreur moyenne de 15,0% à 4,7% pour l'absorption et de 5,8% à 2,9% pour la diffusion réduite.

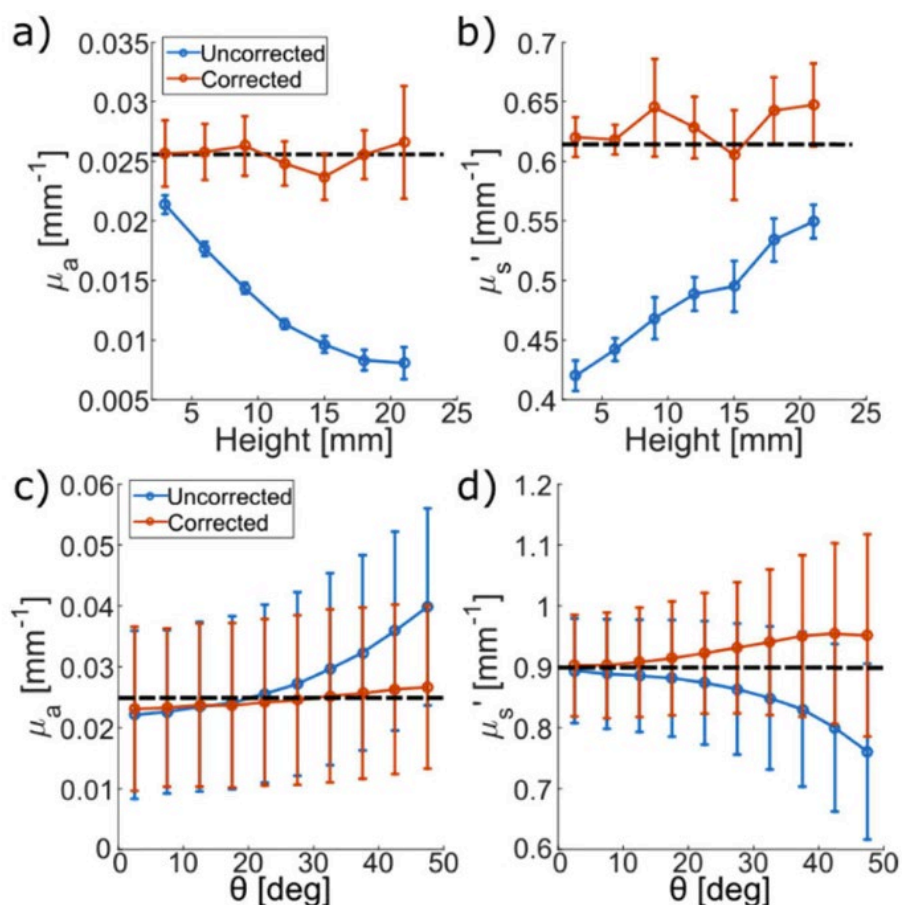


Figure 5.7 Effet de la correction de hauteur sur le coefficient (a) d'absorption et (b) de diffusion réduit d'un fantôme en forme d'escalier. Chaque point correspond à la valeur moyenne sur un pallier de l'escalier. (c) Effet de la correction angulaire sur le coefficient d'absorption et (d) de diffusion réduit pour un fantôme en quart de sphère. Reproduit avec permission de [113]

### 5.3.5 Résultats sur des échantillons *ex vivo*

Afin de valider les capacités du système d'imagerie à reconstruire les propriétés optiques d'un échantillon biologique, une tranche de prostate provenant d'un patient ayant subi une prostatectomie radicale au CHUM a été imagée, ainsi qu'un échantillon de cerveau de veau procuré à la boucherie. Pour la prostate, un protocole éthique a été approuvé par le comité d'éthique du CHUM et un formulaire de consentement a été signé par le patient avant la procédure.

La Figure 5.8 montre les propriétés optiques reconstruites par SFDI et en utilisant la correction géométrique obtenue par profilométrie. Une photographie de l'échantillon est montrée pour observer les structures biologiques.

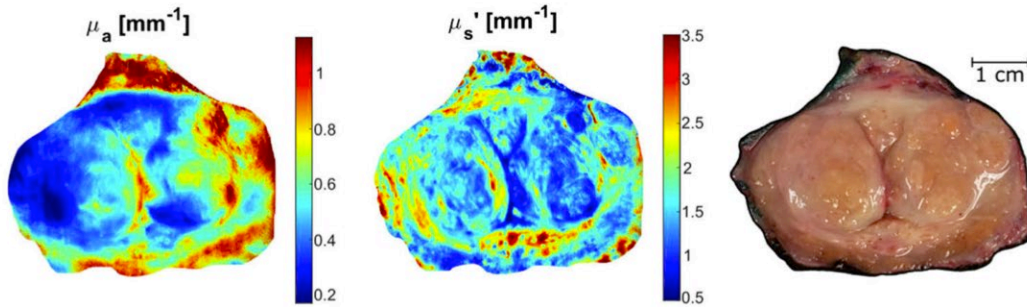


Figure 5.8 Coefficient d'absorption et coefficient de diffusion réduit à 435 nm d'une tranche d'échantillon de prostate et photographie (à droite). Reproduit avec permission de [113]

La Figure 5.9 présente les résultats obtenus sur un cerveau de veau. On peut observer que les valeurs de  $\mu_a$  sont similaires à celles de la prostate, mais que les valeurs de  $\mu_s'$  sont environ 10 fois plus élevées dans la matière blanche.

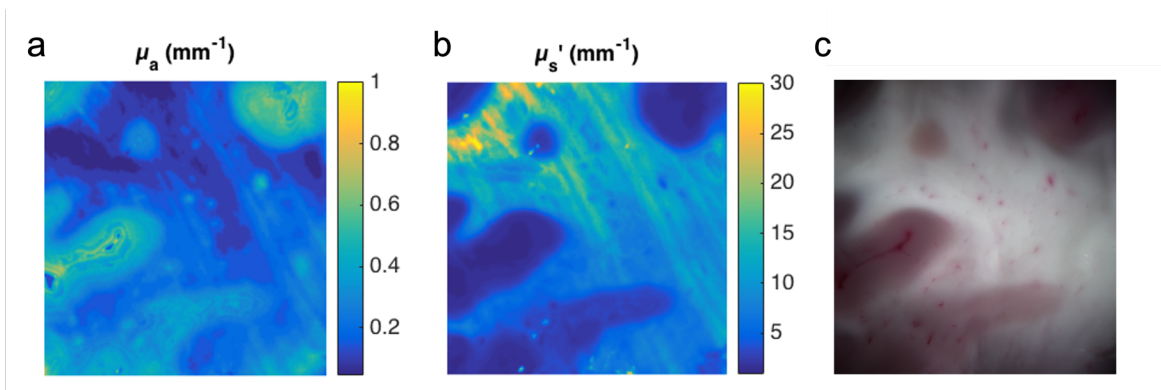


Figure 5.9 Imagerie des coefficients d'absorption et de diffusion sur une tranche de cerveau de veau. a) coefficient d'absorption, b) coefficient de diffusion réduit et c) photographie.

## 5.4 Développement d'un système d'imagerie SFDI intégré à un microscope neurochirurgical

Afin de faire une transition du système d'imagerie SFDI vers la neurochirurgie, une deuxième version du système a été conçue et connectée à un microscope neurochirurgical. Ce travail a été réalisé en collaboration avec Leticia Angulo, dont la thèse portait sur le développement d'un système de profilométrie et d'un système d'imagerie en fluorescence à travers un microscope neurochirurgical [118]. L'instrumentation pour le système d'imagerie a donc été choisie afin

qu'elle soit compatible avec nos deux projets. Ma contribution pour le travail présenté dans cette section se situe autour de 50%.

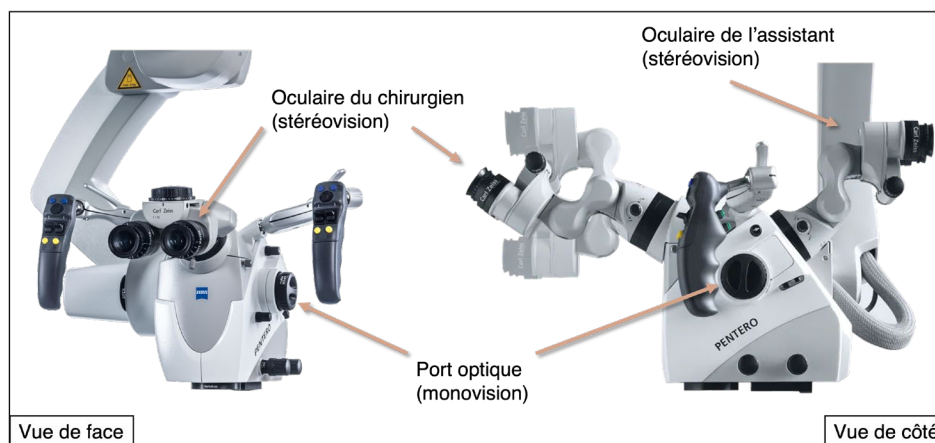


Figure 5.10 Schéma du microscope OPMI Pentero de Zeiss et de ses ports optiques.

Dans les microscopes neurochirurgicaux, il y a plusieurs ports optiques qui relayent l'image à l'aide de miroirs et de lames séparatrices (Figure 5.10). Une vision stéréoscopique est possible à l'aide des oculaires principaux du neurochirurgien et de l'assistant, alors qu'une vision mono est projetée dans les ports de côté. Les composants optiques du système SFDI ont été placés afin d'exploiter la vision stéréo : l'illumination a été couplée à l'oculaire droit, puis la détection à travers l'oculaire gauche (Figure 5.11). Le système d'illumination utilisé pour le système SFDI présenté à la section précédente a été utilisé (Lumencor et projecteur) et couplé à l'oculaire du microscope à l'aide d'adaptateurs et de lentilles. Pour la détection, un faisceau de fibres optiques (*optical fiber bundle*, longueur 2,7 m, 800 x 1000 fibres optiques de 10  $\mu\text{m}$  de diamètre, Schott, Allemagne) a été utilisé pour relayer l'image à une caméra EMCCD (Nüvü caméras, Canada). Le choix de cette caméra a été fait afin de maximiser la sensibilité de détection du système. En effet, étant donné les multiples composants optiques inclus dans le microscope et la faible transmission de certains composants (ex. transmission du projecteur de 15%), la transmission totale du système est très faible, nécessitant une caméra très sensible.

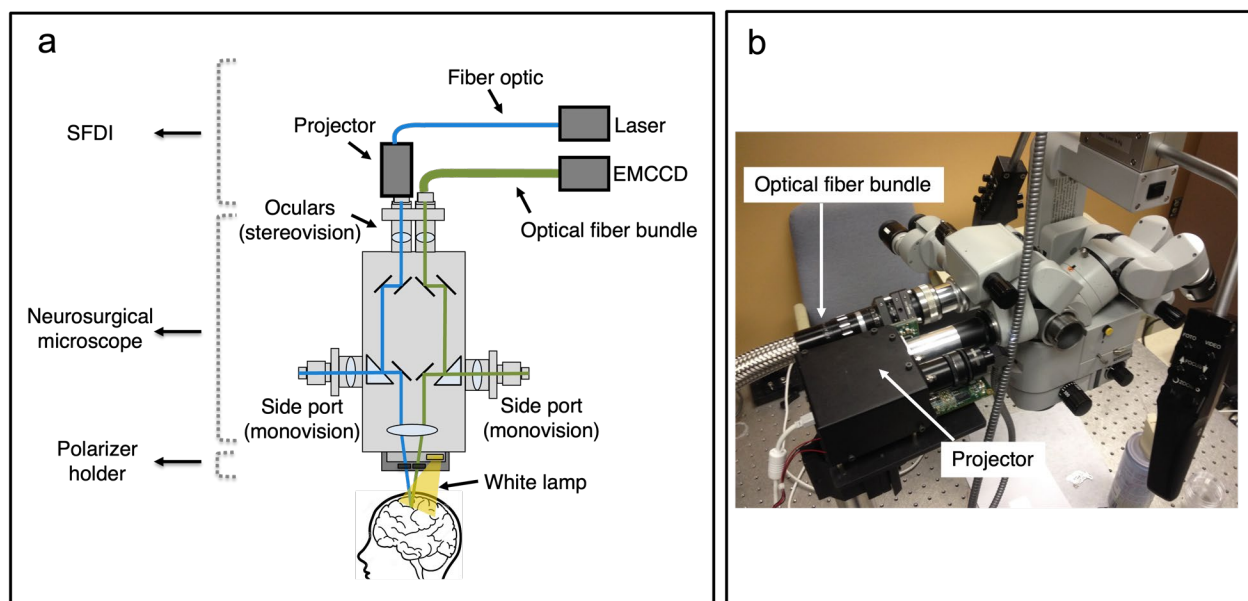


Figure 5.11 (a) Schéma et (b) photographie du système SFDI connecté au microscope neurochirurgical

Le système SFDI a été testé sur les mêmes fantômes optiques liquides et solides présentés à la section 5.3 (résultats non présentés ici). Malheureusement, les contraintes liées à la pandémie de la COVID-19 ont causé l'arrêt des tests avec ce système d'imagerie et ont empêché l'étude intra-opératoire initialement prévue.

## 5.5 Discussion sommaire

Les performances du système SFDI développé se comparent à celles de la littérature en termes d'erreur sur les coefficients d'absorption et de diffusion calculés [31], [44], [108], [119], [120]. Cette précision a été démontré également pour la plage spectrale correspondant à un régime de haute absorption, ce qui avait peu été étudié auparavant. Les performances dans ce régime s'expliquent entre autres par le choix du fantôme de référence avec des propriétés optiques proches de celles attendues, l'optimisation du temps d'intégration adapté pour chaque longueur d'onde (afin de tenir compte de la dépendance spectrale de l'efficacité de transmission du système) et l'utilisation d'un algorithme White Monte Carlo pour le calcul des courbes de réflectance plutôt que l'équation de la diffusion. L'impact du choix du fantôme de référence a été ciblé dans d'autres études et représente un élément important pour limiter les erreurs sur les reconstructions [31], [108]. Le développement de la technique de calibration par profilométrie a permis de réduire les

erreurs en moyenne de 40% pour les échantillons non-planaires. Cet ajout au système SFDI est indispensable pour des applications *in vivo*, où la cavité chirurgicale est rarement plane. Au niveau de la résolution spatiale et du champ de vue, le système se compare également aux systèmes de la littérature. Le travail effectué dans cette thèse offre alors au laboratoire un système SFDI fonctionnel et utilisable pour une variété de projets.

Dans le cadre des applications au LRO, ces résultats ont eu des retombées dans des projets d'imagerie en auto-fluorescence (prostate et cerveau) réalisé par des collègues. En effet, en combinant le SFDI et la fluorescence, il a été possible de développer des algorithmes de correction de l'intensité fluorescente en connaissant les propriétés optiques à la longueur d'onde d'excitation (435 nm) [113].

Pour effectuer la transition du système d'imagerie en salle de chirurgie, certaines améliorations sont à prévoir afin de maximiser la quantité de signal détectée. Sachant que les microscopes neurochirurgicaux ont une faible transmission optique à travers les oculaires, il est nécessaire d'augmenter la puissance des sources de lumière et d'augmenter le temps d'intégration. Pour le système SFDI de table, le temps d'intégration pour les échantillons *ex vivo* était de 10 secondes par image (pour un total de 5 minutes). Il est raisonnable de penser que les mesures sur cerveaux devront prendre au minimum 10 minutes avec le système connecté au microscope, étant donné la faible transmission optique des composants et la présence de sang. Ce temps n'est pas réaliste pour une acquisition en temps réel, mais surtout n'est pas adapté à une acquisition neurochirurgicale où le cerveau produit un mouvement à chaque battement cardiaque ( $\sim 1$  Hz). Afin d'optimiser les performances du système dans le futur, il serait préférable de concevoir un système indépendant, maximisant la transmission optique. Il serait également intéressant d'intégrer des algorithmes de traitement de données, tel que la méthode *Single Snapshot Optical Properties* (SSOP), qui ont récemment permis de réduire les temps d'acquisition et de traitement de données et rendre les applications possibles en temps réel [32], [33], [43].

## CHAPITRE 6    ARTICLE 2 : MULTISPECTRAL DIFFUSE REFLECTANCE CAN DISCRIMINATE BLOOD VESSELS AND BLEEDING DURING NEUROSURGERY BASED ON LOW- FREQUENCY HEMODYNAMICS

Audrey Laurence,<sup>1,2</sup> Alain Bouthillier,<sup>3</sup> Manon Robert,<sup>2</sup> Dang K. Nguyen,<sup>2,4</sup> Frederic Leblond<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Polytechnique Montreal, Department of Engineering Physics, 2900 Edouard-Montpetit, Montreal, Canada, H3T 1J4

<sup>2</sup>Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, 900 St-Denis, Montreal, Canada, H2X 0A9

<sup>3</sup>Division of Neurosurgery, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, 1051 Sanguinet, Montréal, Québec, Canada, H2X 0C1

<sup>4</sup>Division of Neurology, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, 1051 Sanguinet, Montréal, Québec, Canada, H2X 0C1

Journal of Biomedical Optics, 2020.

### 6.1 Mise en contexte de l'article

Ce chapitre présente une application du système d'imagerie multispectrale, qui a mené à la publication d'un article dans le *Journal of Biomedical Optics* (JBO) en 2020. Il présente une méthode d'analyse des changements hémodynamiques afin d'étudier les différences spectrales et temporelles des signaux de réflectance provenant des vaisseaux sanguins, du cortex et du sang. La méthode développée a permis de confirmer le potentiel du système d'imagerie à détecter la réponse hémodynamique spécifique à certaines composantes du cerveau et a permis le développement d'algorithmes nécessaires à l'étude spécifique à l'épilepsie présentée au chapitre 7.

La méthode propose des critères numériques pour différencier les trois composantes (vaisseaux sanguins, cortex et sang), dans le but de les transférer à d'autres technologies dans lesquelles des critères visuels ne peuvent pas être utilisés. Par exemple, le guidage de biopsies du cerveau à l'aide d'une sonde optique a fait l'objet d'un projet de recherche au LRO [121]. Dans ce projet, des fibres optiques ont été insérées dans une aiguille de biopsie commerciale afin de détecter les vaisseaux sanguins. La méthode était basée sur la détection de l'hémoglobine dans les spectres de réflectance, mais elle ne faisait pas la différence entre le sang qui se trouvait autour de l'aiguille et le sang dans

les vaisseaux sanguins. L'analyse présentée dans le chapitre de cette thèse offre alors une alternative peu complexe à la méthode de détection, en détaillant les paramètres temporels pouvant différencier les vaisseaux du sang ayant coulé durant la procédure.

Ma contribution pour cet article est de plus de 90%. J'ai effectué tout le travail d'analyse, de développement d'algorithmes et de rédaction.

## 6.2 Abstract

**Significance:** The practicality of optical methods detecting tissue optical contrast (absorption, elastic and inelastic scattering, fluorescence) for surgical guidance is limited by interferences from blood pooling and the resulting partial or complete inability to interrogate cortex and blood vessels.

**Aim:** A multispectral diffuse reflectance technique was developed for intraoperative brain imaging of hemodynamic activity to automatically discriminate blood vessels, cortex, and bleeding at the brain surface.

**Approach:** A manual segmentation of blood pooling, cortex, and vessels allowed the identification of a frequency range in hemoglobin concentration variations associated with high optical signal in blood vessels and cortex, but not in bleeding. Reflectance spectra were then used to automatically segment areas with and without hemodynamic activity as well as to discriminate blood from cortical areas.

**Results:** The frequency range associated with low-frequency hemodynamics and respiratory rate (0.03-0.3 Hz) exhibits the largest differences in signal amplitudes for bleeding, blood vessels, and cortex. A segmentation technique based on simulated reflectance spectra initially allowed discrimination of blood (bleeding and vessels) from cortical tissue. Then, a threshold applied to the low-frequency components from deoxyhemoglobin allowed the segmentation of bleeding from vessels. A study on the minimum acquisition time needed to discriminate all three components determined that ~25 s was necessary to detect changes in the low-frequency range. Other frequency ranges such as heartbeat (1-1.7 Hz) can be used to reduce the acquisition time to few seconds but would necessitate optimizing instrumentation to ensure larger signal-to-noise ratios are achieved.

**Conclusions:** A method based on multispectral reflectance signals and low-frequency hemoglobin concentration changes can be used to distinguish bleeding, blood vessels, and cortex. This could be integrated into fiber optic probes to enhance signal specificity by providing users an indication



of whether measurements are corrupted by blood pooling, an important confounding factor in biomedical optics applied to surgery.

### **6.3 Introduction**

The practicality and application scope of optical methods in surgery are often limited by interferences from blood pooling. This includes fiber optics and camera-based macroscopic imaging applications using biomedical optics instrumentation to guide interventions based on the optical tissue contrast from diffuse reflectance (absorption, elastic scattering), fluorescence, and vibrational spectroscopy (inelastic scattering). This is because bleeding can lead to blood pooling within the imaging field, which in turn represents an important confounding factor since hemoglobin is often the most important chromophore in tissues. Clinical implementation problems then arise from the practical limitations associated with the impossibility to clear pooled blood during fast-paced and oftentimes complex surgical procedures. Another set of issues can arise from the need to discriminate blood vessels from other tissue types and provide this information to surgeons in order to limit hemorrhage.

Fiber optic probes are used in a variety of biomedical applications ranging from pathology identification to surgical guidance. In the case of brain biopsy procedures, probes have been developed to locate areas with higher significance for pathology diagnosis, by avoiding collecting tissue in necrotic areas [122] or to ensure the safety of the procedure, by avoiding the rupture of blood vessels located near the biopsy needle [123]. Preventing hemorrhage during brain biopsy procedures is critical since the risk of morbidity and mortality caused by intracranial hemorrhage can go up to 16% and 3%, respectively [124]. Optical technologies allowing blood vessel detection in neurosurgical applications using intrinsic contrast include optical coherence tomography [123], diffuse reflectance spectroscopy detecting hemoglobin absorption contrast [122], [125], [126], and its pulsatile motion [127], near-infrared spectroscopy [128], and laser Doppler imaging [129]–[132].

This paper presents a technique using multispectral reflectance signals to identify blood vessels located at the brain surface and differentiate them from bleeding that could have occurred in the neurosurgical cavity. The technique segments blood vessels, bleeding, and brain cortex in multispectral images acquired during epilepsy surgery. The segmentation algorithm is based on the

absorption spectrum of hemoglobin to detect blood and exploits the fact that temporal variations in oxygenated hemoglobin concentration associated with blood flow are present only in blood vessels and not in bleeding. This temporal frequency detection increases the specificity of blood vessel detection compared to reflectance techniques based only on absorption spectra. A proof-of-principle is presented in this paper using a multispectral imaging system to detect hemodynamic activity during neurosurgery in three patients.

## 6.4 Methods

### 6.4.1 Multispectral imaging system

A custom multispectral imaging system connected to a neurosurgical microscope (OPMI Pentero, Zeiss) was used to image the exposed cortex of a patient during epilepsy surgery[133]. The system integrates a snapshot multispectral camera (IMEC, Leuven, Belgium) composed of 4 x 4 arrays of band-pass filters disposed over a charged-coupled device (CCD) chip of 1024 x 2048 pixels, leading to raw images of 16 spectral bands (480-630 nm with a 15 nm spectral resolution) of 256 x 512 pixels. The camera was operated at 20 frames per second (fps) to allow sufficient signal-to-noise ratio (SNR) and recordings were performed for 8 minutes for a total of 9,600 images. The white light source (Superlux, 300 W Xenon lamp) integrated into the microscope was used to continuously illuminate the brain surface during the imaging session. The microscope working distance was approximately 25 cm and the total microscope magnification was set at 1.5x. The lenses in the camera adaptor led to a resulting magnification of 4.7, an imaging field of view of  $\sim 13 \text{ cm}^2$ , and a spatial resolution  $\sim 0.1 \text{ mm}$ . Electrooculography (EOG) electrodes were placed on the patient's brain but electrophysiological data was not used as part of the work presented here. Informed consent was obtained from the patient and the Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) ethics review board approved the research protocol.

The dataset is composed of acquisitions performed during epilepsy surgery in three patients where regions of accumulated blood were noticeable in the field of view. The dataset of patient 1 exhibited a clear drop of blood and was chosen to design the segmentation technique described in sections 6.4.2 and 6.4.3. Patients 2 and 3 exhibited areas of accumulated blood and were selected to demonstrate the technique's capabilities to segment blood, blood vessels, and cortex in different patients. The total number of acquisitions performed with the multispectral imaging system reached

15 patients, but only three presented that spontaneous accumulation of blood and were included in the study.

Calibration and biophysical modeling procedures were applied to the spatial-temporal-spectral patient datasets resulting in a time-course of oxygenated hemoglobin (HbO) and deoxygenated hemoglobin (HbR) concentration variations at the surface of the cortex. A detailed description of the algorithms and model parameters can be found in Pichette *et al.* [133]. Briefly, spectral and spatial calibrations were initially performed to account for the system response by normalization using a dataset measured on a reflectance standard (Spectralon, Labsphere). Pixels attaining the detector maximum intensity were associated with specular reflections and were excluded from the analysis. Then, a spatial registration algorithm was implemented using the MATLAB<sup>®</sup> Medical Image Registration Toolbox [98]. That procedure was applied to each image, resulting in a dataset where the mechanical motion of the brain due to breathing and heartbeat was removed. A modified Beer-Lambert law was applied to all images on a pixel-by-pixel basis to compute the relative concentration changes of HbO and HbR [79]. The differential pathlength factor used in the modified Beer-Lambert law was computed using estimates from the literature for the absorption and scattering coefficients ( $\mu_a$ ,  $\mu'_s$ ) in brain [102]. Parameters and equations used to model absorption and scattering coefficients are detailed in Section 6.4.3.1.

## **6.4.2 Hemodynamic activity characteristics of cortex, blood vessels, and bleeding**

Following the application of the pre-processing steps, the dataset consisted of videos (9,600 images) of brain hemodynamic activity, i.e. time-sequences showing the concentration variations of HbO and HbR for each of the 256 x 512 pixels. A Fourier transform was applied to the concentration variation of HbO within each pixel to obtain the frequency profile of the hemodynamic activity from 0 to 10 Hz with a resolution of 0.0024 Hz. To avoid confusion, in this manuscript, the term “temporal frequencies” refers to the frequency spectra resulting from the Fourier transform [Hz]. Otherwise, the term “spectra” refers to the optical spectrum of the diffuse reflectance [nm]. A standard normal variate (SNV) normalization was applied to temporal frequencies so that the relative distribution of components was independent of absolute power density.

The patient 1 dataset showed a blood drop within the imaging field of view that slowly accumulated in the top-left corner of the image and started dripping towards the bottom of the image. The time frames clearly exhibiting the blood drop (#4,800 to 8,000) were selected to evaluate the temporal and spectral characteristics of the three different components of the exposed brain: blood vessels, cortex, and bleeding. For patients 2 and 3, no apparent movement of blood was noticed and 4000 frames were selected for data processing. Manual segmentation of the three physiological components was performed within those time frames to identify some regions for which the nature of the imaged tissue could be ascertained. Bleeding was identified from areas of dense accumulated blood; blood vessels with clear boundaries including arteries and veins were selected; clear areas of cortex tissue were circled. The temporal frequency profiles of all pixels within each segmented area were averaged to visualize the temporal frequency profile of each component.

The temporal frequency interval of 0.03-0.3 Hz was identified as exhibiting large differences between blood vessels, bleeding, and cortex mainly due to the respiration rate that has a noticeable effect in HbO concentration trends and was set by the medical team to 0.23, 0.2, and 0.22 Hz for the three patients respectively. Temporal frequency spectra were averaged over the 0.03-0.3 Hz range for each pixel of the segmented components and a Kruskal–Wallis one-way analysis of variance between regions was performed for the frequency range. A threshold value corresponding to the 75th percentile of the bleeding component was selected for each patient to determine the lower limit value of hemodynamic activity intensity, used in a semi-automatic segmentation algorithm.

### **6.4.3 Segmentation algorithm using reflectance spectra and hemodynamic activity**

Using information obtained from Section 6.4.2, a semi-automatic segmentation technique was developed to identify blood vessels, bleeding, and cortex in the image. Compared to existing methods detecting the presence of blood vessels based on the presence of hemoglobin absorption signature in acquired reflectance spectra, this new method combines the spectral detection of hemoglobin with the temporal frequency characteristics of HbO time-response. This allows more specific discrimination between dynamic blood (blood vessels supplied in oxygen) and static blood that has accumulated.

The segmentation technique is performed in three steps, detailed in the following sections. For step one, pixels with a reflectance spectrum indicating the presence of hemoglobin are identified as *blood*, including here bleeding and blood vessels. For step two, pixels with HbO temporal frequency profiles indicating strong low-frequency components are identified as *dynamic* (cortex, blood vessels). Other pixels are identified as *static* (bleeding, skull, and other structures). Step 3 consists of combining the information of steps 1 and 2 to categorize pixels into bleeding, blood vessels, or cortex. Each of the three segmentation steps is detailed in the following sections of the manuscript.

#### 6.4.3.1 Segmentation of blood based on diffuse reflectance spectra

Calibrated diffuse reflectance spectra in images were compared to simulated reflectance spectra of *blood* and *cortex* to determine the nature of each pixel. Reflectance spectra of *blood* and *cortex* were simulated using estimations of the absorption and scattering coefficients. The following model was used for the absorption coefficient ( $\mu_a$ ) [102]

$$\mu_a = BS\mu_{a,HbO} + B(1 - S)\mu_{a,HbR} + \mu_{a,0} \quad [\text{mm}^{-1}] \quad (6.1)$$

with  $\mu_{a,HbO}$  and  $\mu_{a,HbR}$  the theoretical absorption coefficient values of HbO and HbR [99] in  $\text{mm}^{-1}$ ,  $S$  the oxygen saturation of blood (no unit),  $B$  the proportion of vessels in the cortex (no unit), and  $\mu_{a,0}$  a baseline absorption coefficient ( $\text{mm}^{-1}$ ). The parameters  $B$  and  $S$  were first determined from the literature [102] and then optimized for each patient based on the resulting modeled reflectance spectra. A high saturation (0.99 and 0.98) was selected to model *blood* to capture both bleeding and blood vessels with this modeling, and saturation of 0.90 was selected for *cortex* to take into account both veins and arteries capillaries in the cortex tissue. Parameters used for each patient are summarized in Table 6.1. For the reduced scattering coefficient ( $\mu'_s$ ), the equation  $\mu'_s = 2.2(\lambda/500)^{-0.66}$  [ $\text{mm}^{-1}$ ] was used for blood and  $\mu'_s = 2.42(\lambda/500)^{-1.611}$  [ $\text{mm}^{-1}$ ] for cortex [102] for all patients, where  $\lambda$  is the wavelength in nanometers.

Table 6.1: Saturation, blood content, and baseline absorption coefficient parameters to model absorption coefficient of blood and cortex

	Blood		Cortex		
	B	S	B	S	$\mu_{a,0}$ (mm <sup>-1</sup> )
<b>Patient 1</b>	1	0.99	0.5	0.9	0.001
<b>Patient 2</b>	1	0.99	0.5	0.9	0.01
<b>Patient 3</b>	1	0.98	0.5	0.9	0.01

The modeled diffuse reflectances for *blood* and for *cortex* were estimated using the standard diffusion approximation for the wavelength range of interest (480-630 nm) [79]. These modeled reflectance spectra  $R_{blood}$  and  $R_{cortex}$  were fitted to the experimental reflectance spectra  $R_d$  using a least-squares method to obtain the proportions of *blood* and *cortex* representing each pixel. These coefficients  $a_{blood}$  and  $a_{cortex}$  were obtained by minimizing the equation

$$\sum [R_d(\lambda) - (a_{blood}R_{blood}(\lambda) + a_{cortex}R_{cortex}(\lambda))]^2 \quad (6.2)$$

for each pixel. The coefficients  $a_{blood}$  and  $a_{cortex}$  were then expressed between 0 and 1. Based on the obtained data, pixels with a value of  $a_{blood} > 0.8$  were considered as *blood*, and pixels with  $a_{cortex} > 0.75$  were considered as *cortex* to produce a binary segmented image. These thresholds were determined by hand to optimize the segmentation of the two components and were validated visually, by ensuring the blood component could capture as many small vessels as possible. The same threshold values were used for all three patients.

#### 6.4.3.2 Segmentation of blood vessels and cortex based on the hemodynamic activity profile

The whisker plots from manually segmented regions described in section 6.4.2 highlighted the temporal frequency range of 0.03-0.3 Hz with significant differences between bleeding, cortex, and blood vessels. The values of the SNV-normalized frequency amplitude were averaged in the 0.03-0.3 Hz range for each pixel to obtain a metric representing the hemodynamic activity level across the image. A threshold corresponding to the 75th percentile of the *blood* component was applied to this metric to separate pixels in two categories: with hemodynamic activity (*dynamic*) and without hemodynamic activity (*static*). The threshold values used were 1.84, 1.27, and 2.31 for patients 1, 2, and 3 respectively.

### 6.4.3.3 Combination of pre-segmented images for segmentation of blood vessels, bleeding, and cortex

Steps one and two of the segmentation algorithm led to binary images indicating *blood/cortex* and *dynamic/static*. Logical intersections between the binary images produced in sections 6.4.3.1 and 6.4.3.2 allowed segmenting the images in terms of bleeding, blood vessels, and cortex: 1) pixels being both marked as *blood* and with the presence of hemodynamic activity were identified as blood vessels, 2) pixels being marked as *blood* and without hemodynamic activity were identified as bleeding, 3) pixels identified as *cortex* and with hemodynamic activity were identified as cortex.

## 6.5 Results

### 6.5.1 Hemodynamic activity of cortex, blood vessels, and bleeding

Figure 6.1 shows the manual segmentation (Figure 6.1a) and average temporal frequency spectrum (Figure 6.1b) for patient 1. Averaged HbO concentration variations for each region of the brain exhibited an inverse trend ( $1/f$ ) with respect to the temporal frequency  $f$ , which has been observed to be associated with spontaneous hemodynamic activity [103], combined with sharper and distinctive peaks at specific frequencies (Figure 6.1 b). The peak at  $\sim 0.23$  Hz corresponds to the respiratory rate for this patient, which was set by the medical team at 14 breathing cycles per minute during the surgical procedure. This peak was present in the cortex and vessel regions, but it had noticeably smaller amplitude within the blood drop. The second harmonic of the respiratory rate is also visible in the temporal frequency spectrum at  $\sim 0.46$  Hz, as well as the heartbeat at  $\sim 1.3$  Hz (79 beats/min), which are consistent with the values recorded by the physiological monitoring device during the procedure.

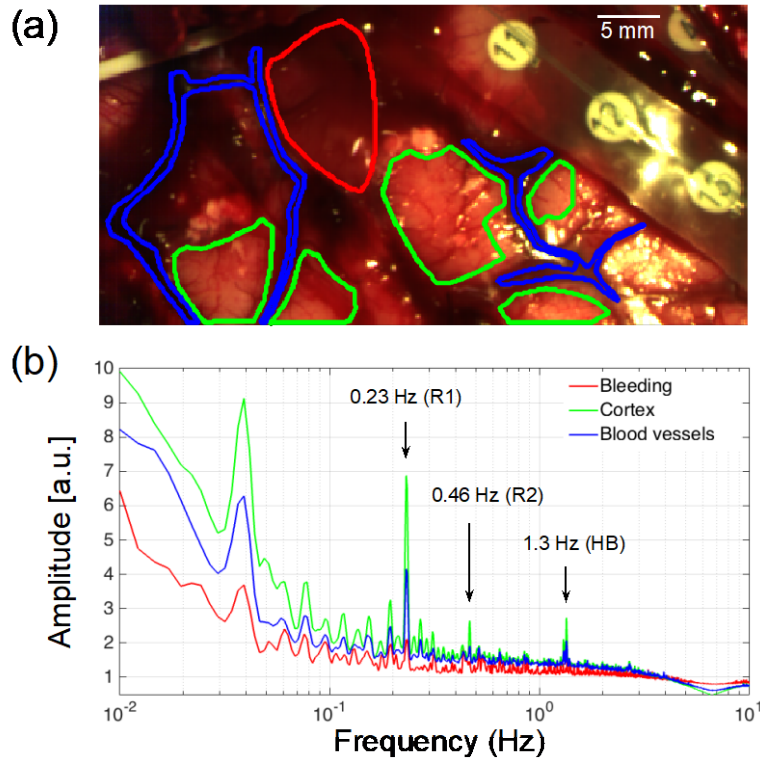


Figure 6.1: Hemodynamic activity profiles of cortex, blood vessels, and bleeding: (a) Manual segmentation of three visually distinct regions: cortex (green), blood vessels (blue), and bleeding (red). ECoG electrodes, not used in this study, can be observed in the top right corner of the image. b) Average standard normal variate (SNV) temporal frequency spectrum of oxygenated hemoglobin (HbO) concentration for each of the three regions. Identified peaks correspond to respiration rate (R1), its second harmonic (R2), and heartbeat (HB).

Whisker plots were produced to display the distribution of frequency intensity within all three segmented regions and for two frequency ranges exhibiting the most differences between regions: 0.03-0.3 Hz (Figure 6.2a) associated with respiration rate and 1-1.7 Hz (Figure 6.2b) associated with the heartbeat. Outside of these ranges ( $f < 0.03$  and  $f > 1.7$  Hz), data showed little differences in amplitude and less SNR. Amplitudes were noticeably lower for bleeding in all frequency ranges, except for the lowest frequencies (0-0.03 Hz) where the differences between regions were less apparent. A Kruskal–Wallis one-way analysis of variance between regions showed a  $p$ -value  $< 0.01$  for all frequency ranges. The temporal frequency amplitudes of pixels for cortex and blood vessels also appeared to be differentiable, with the largest observed differences in the 0.03-0.3 Hz range.



The outliers in the whisker plots corresponded to pixels detecting high reflectivity (specular reflection) and were mostly associated with CCD saturation. Those pixels represented  $<0.7\%$  of all data points in the 0.03-0.3 Hz range and  $<4\%$  in the 1.0-1.7 Hz range. The performance of the brain motion correction algorithm was diminished for those high intensity pixels, which can explain the larger number of outliers in the frequency range containing the signal from heartbeat. For each patient, the bleeding region was the one with the lowest signal amplitude, and the cortex region appeared to have the highest signal amplitude. Average signal intensity varies from one patient to another, with patient 2 having the lowest. A threshold specific to each patient was then chosen to separate the bleeding component from cortex and blood vessels based on these intensity differences.

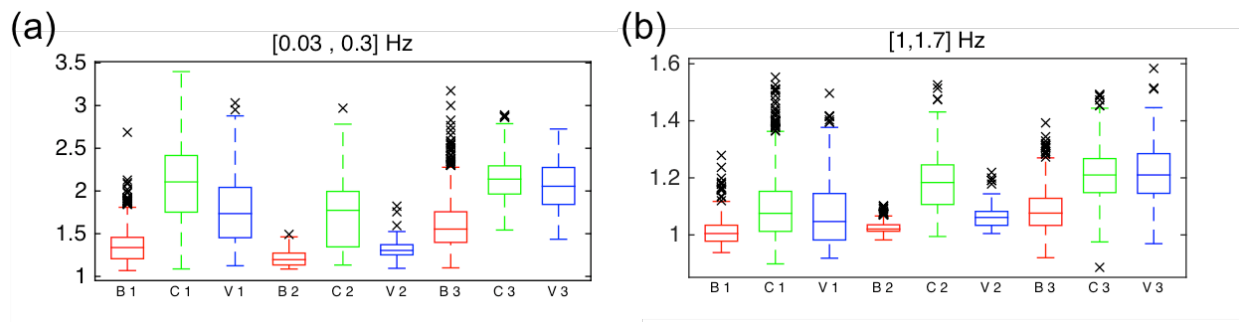


Figure 6.2: Distribution of the intensity of the SNV-normalized temporal frequency HbO spectra of each pixel comprised within the segmented components of bleeding (B), cortex (C), and blood vessels (V) for each patient (labeled 1, 2 and 3): (a) 0.03-0.3 Hz, (b) 1.0-1.7 Hz.

### 6.5.2 Segmentation of blood vessels, bleeding, and cortex

Figure 6.3a shows the resulting segmented regions with hemodynamic activity (in black) and without activity (in light red) for patient 1. The blood drop at the image top in Figure 6.3c and the blood accumulation towards the image bottom are identified as inactive by the algorithm and thus correspond to bleeding. Figure 6.3b displays the blood (light blue) and cortex (black) segmentation using the reflectance spectra-based segmentation algorithm. Both bleeding and blood vessels are identified as blood components by the algorithm. Figure 6.3d displays the final segmentation step, combining the results of Figure 6.3a and b. Bleeding is presented in red, blood vessels are in blue, and cortex in green. Gray pixels indicate saturated pixels due to specular reflections and black pixels were not classified in any category.

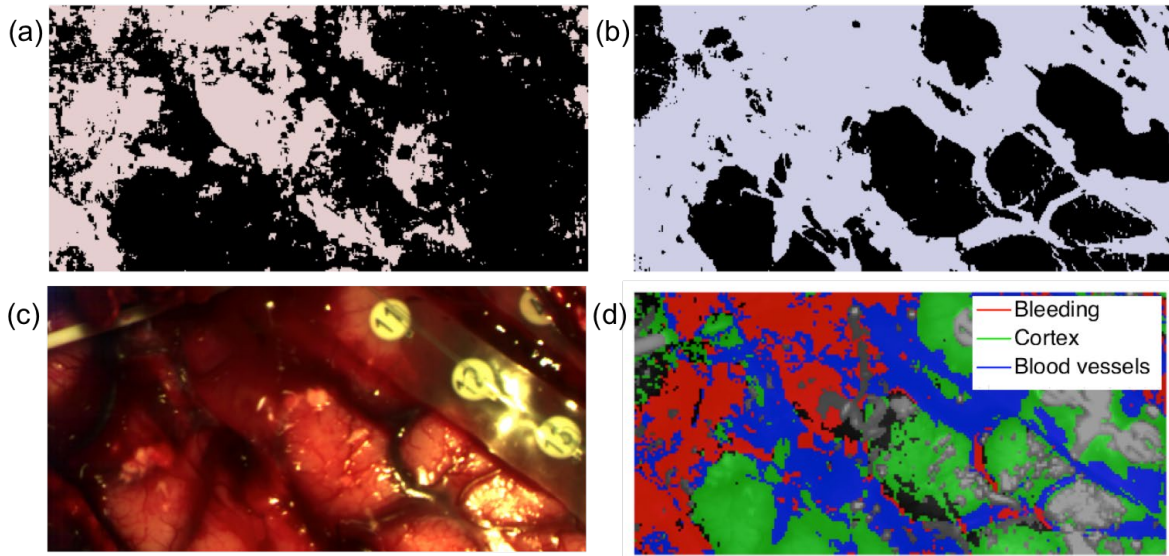


Figure 6.3: Semi-automatic segmentation of bleeding, blood vessels, and brain cortex in patient

1: (a) Segmentation of regions with hemodynamic activity (black) and regions without hemodynamic activity (light red) using a method based on the temporal frequency of reflectance signals, (b) Segmentation of *cortex* (black) and *blood* (light blue) using a method based on the reflectance spectrum, c) Color visualization of the region of interest, d) Bleeding, blood vessels, and cortex segmentation using logical intersections of images in a and b. Gray pixels indicate specular reflections.

Color visualization of the region of interest is presented for patients 2 (Figure 6.4a) and 3 (Figure 6.4b), with the final segmentation results of blood vessels, cortex, and bleeding (Figure 6.4c-d). Areas of blood pooling are identified as bleeding by the algorithm. Blood vessels are identified for patient 2, but only one deep blood vessel is present for patient 3's region of interest and was not detected as a blood vessel by the algorithm. The areas corresponding to the plastic of the electrodes are associated with the largest errors in terms of performance for the registration algorithm used in the pre-processing phase. This implies that residues of the movement of the brain due to heartbeat and respiration rate appear in HbO time sequences and thus the areas are classified as “dynamic” by the algorithm.

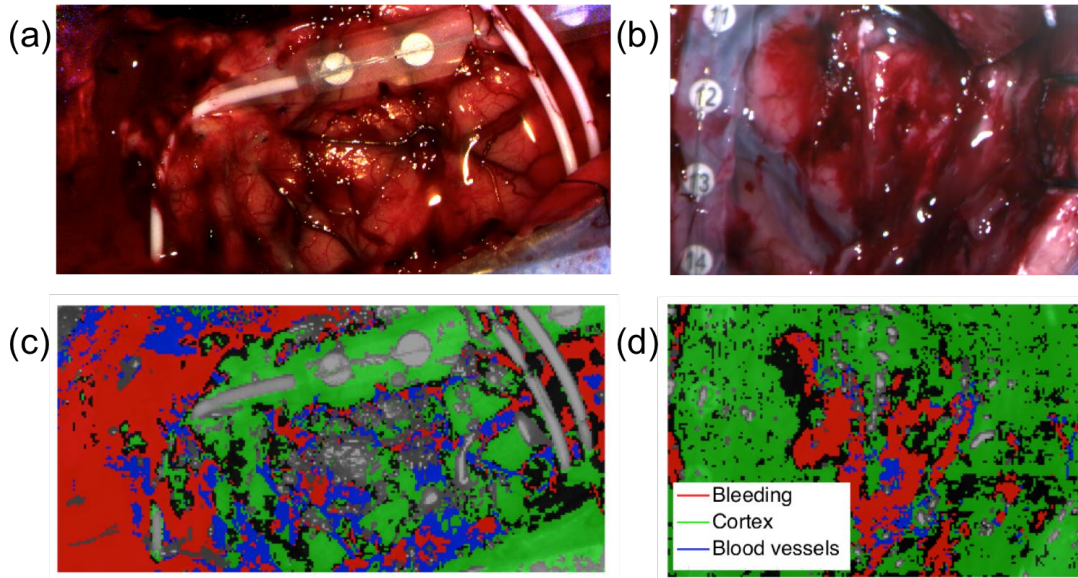


Figure 6.4: Bleeding, blood vessels, and cortex segmentation on two patients: (a, b) Color visualization of the region of interest for patient 2 and patient 3, (c, d) Bleeding, blood vessels, and cortex segmentation. Gray pixels indicate specular reflections.

### 6.5.3 Minimal acquisition time analysis

The analysis presented in Figure 6.3 for patient 1 was performed using 3,200 frames acquired at 20 fps, corresponding to a total acquisition time of 160 s. However, such large acquisition times are not practical for surgical applications, which typically require much faster identification of vessels or blood pooling in a matter of seconds if not milliseconds. Considering that the lowest frequency within the interval displaying the most discriminatory potential (0.03 Hz) has a period of 33.3 s, the technique theoretically requires an acquisition time of around 30 s. An evaluation of the minimal acquisition time necessary to segment the image using the 0.03-0.3 Hz frequency range was performed by extracting sections of the dataset with a different number of frames and performing the segmentation algorithm on every section. Sections were formed by selecting  $n$  consecutive frames, with  $n$  ranging from 100 to 3600 by steps of 100 frames. The results were compared to reference values obtained with the full acquisition, i.e. with 3,200 frames. The average temporal frequency spectrum intensities within the 0.03-0.3 Hz range were similar (<10% variation) to the reference values for acquisition times associated with >500 frames (25 s), and variations increased to >20% for an acquisition of 200 frames (10 s). The two-step automatic

segmentation algorithm for these limited time-sequences further confirmed significant degradation of segmentation results at 500 frames.

## 6.6 Discussion

We presented a diffuse reflectance technique to detect blood vessels in brain surgery applications and discriminate them from bleeding that could occur during procedures such as biopsies and resection. The processing steps and instrumentation detailed in this paper were necessary in the context of multispectral imaging but could be simplified for fiber optic probe applications. This method could be performed with low-cost instrumentation (diodes and photodetectors) combined with standard reflectance data processing to detect hemoglobin concentration variations. The new semi-automatic segmentation technique visually illustrates the method capabilities to segment biological components, but the major improvement over current techniques using diffuse reflectance resides in its capabilities to distinguish bleeding from blood vessels, which is permitted by the dynamic reflectance measurements of the multispectral imaging system.

The segmentation algorithm based on reflectance signals (Figure 6.3a) involved modeling of *cortex* and *blood* optical properties with optimization of blood content, blood saturation, and absorption coefficient. While we have optimized these parameters, we have used the same scattering coefficients for each patient. This variability across patients will be studied in future work to provide insight into the sensibility of the segmentation algorithm to specific optical properties parameters. The reflectance-based segmentation also involved selecting thresholds to segment *blood* from *cortex* areas, which was performed by optimizing segmentation in all three patients together. On the other hand, the segmentation algorithm using hemodynamic activity (Figure 6.3b) was based on specific thresholds optimized for every patient individually, due to differences in intensity levels of the hemodynamic activity. Future work will include an extra calibration step to allow a more robust comparison between patient datasets ensuring intensity of the temporal frequency profiles is reproducible between acquisitions.

Although the reflectance modeling with the diffusion approximation is known to be inaccurate in high absorption tissue, we consider that for the presented method involving thresholds on the obtained proportions  $a_{\text{blood}}$  and  $a_{\text{cortex}}$ , the uncertainties of modeling are not crucial to the technique. Moreover, the results show that the segmentation performs adequately even with the diffusion

approximation, using the same thresholds for every patient. A detailed assessment of the errors of the standard diffusion approximation compared to the radiative transfer equation solutions could be performed but was deemed outside of the scope of the manuscript.

The segmentation performed using the 0.03-0.3 Hz frequency range exhibited the clearest separation between regions, but Figure 6.2b shows that other frequency intervals could be used in the analysis in order to reduce the acquisition time. The range corresponding to the heartbeat ( $\sim 1.5$  Hz) would allow the reduction of the acquisition time to few seconds, with the condition that the detection system allows sufficient signal-to-noise ratio (SNR) in this regime. Implementation of the technique in surgical applications such as brain biopsy needles [122] or multimodal spectroscopy probes for *in situ* cancer detection [134] might then necessitate acquiring data with fiber optic and high quantum efficiency spectrometers, that have greater light sensitivity and transmission than the multispectral system used in this study.

We propose that mostly two frequency intervals could be selected to distinguish blood vessels from bleeding and from tissue: low-frequencies including the respiratory rate ( $\sim 0.2$  Hz) and heartbeat ( $\sim 1.5$  Hz). Respiratory rate offers higher SNR and permits a low sampling rate but necessitate  $\sim 25$  s acquisition time to successfully distinguish tissue types. Heartbeat frequencies would allow acquisition times of few seconds, but instrumentation would need to be optimized to ensure high SNR in this regime. For brain surgery procedures, the respiratory rate is set by the medical team and is stable over time, whereas the heartbeat varies from one patient to another but can be measured easily and used as an input parameter in the processing algorithms.

The presented method could also find applications in fiber optic probes for tissue identification such as cancer detection. Methods based on automatic classification algorithms for tissue diagnosis [134] are sensitive to the presence of bleeding at the tip of the probe, which affects data quality. The knowledge of the presence of bleeding could help for example to build more robust classification models for tissue diagnostic in surgical interventions.

## 6.7 Disclosures

The authors have no financial or other potential conflicts of interest to disclose.

## CHAPITRE 7    ARTICLE 3: MULTISPECTRAL INTRAOPERATIVE IMAGING FOR THE DETECTION OF THE HEMODYNAMIC RESPONSE TO INTERICTAL EPILEPTIFORM DISCHARGES

Audrey Laurence,<sup>a,b</sup> Dènahin H. Toffa,<sup>b,c</sup> Ke Peng,<sup>b</sup> Manon Robert,<sup>b</sup> Alain Bouthillier,<sup>d</sup> Dang K.  
Nguyen,<sup>b,c</sup> Frederic Leblond<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>Polytechnique Montreal, Department of Engineering Physics, Montréal, Canada

<sup>b</sup>Centre de Recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, Canada

<sup>c</sup>Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Division of Neurology, Montréal, Canada

<sup>d</sup>Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Division of Neurosurgery, Montréal, Canada

\*Frederic Leblond, E-mail: [frederic.leblond@polymtl.ca](mailto:frederic.leblond@polymtl.ca)

Biomedical Optics Express, 2022 (submitted).

### 7.1 Mise en contexte de l'article

Cet article a été soumis au journal *Biomedical Optics Express* en juin 2022. Il présente les résultats obtenus avec le système d'imagerie multispectrale sur huit patients épileptiques. Le système a été utilisé conjointement à l'électrocorticographie pour étudier la réponse hémodynamique associée aux pointes épileptiques. Des résultats préliminaires sont présentés, qui démontrent une grande variabilité de la réponse hémodynamique entre les patients épileptiques. Ces résultats vont dans le même sens que la littérature : la réponse hémodynamique associée à l'activité épileptique diffère de l'activité neuronale normale. Il sera nécessaire d'effectuer plus d'études pour caractériser en détail cette activité, mais l'article démontre que l'imagerie optique combinée à l'ECOG est une technologie permettant de caractériser la HRF aux pointes épileptiques.

J'ai effectué la majorité des développements scientifiques et de la rédaction de cet article. Ma contribution est évaluée à 95%. J'ai eu l'aide de membres du laboratoire de Dr. Nguyen pour la validation de l'approche utilisée (Ke Peng) et j'ai eu l'aide de médecins neurologues (Dr. Nguyen et Dr. Toffa) pour l'interprétation clinique des résultats.

## 7.2 Abstract

Interictal epileptiform discharges (IEDs) are brief neuronal discharges occurring between seizures in patients with epilepsy. The characterization of the hemodynamic response function (HRF) specific to IEDs could increase the accuracy of other functional imaging technique to localize epileptiform activity, including functional near-infrared spectroscopy and functional magnetic resonance imaging. This study evaluated the possibility of using an intraoperative multispectral imaging system combined with electrocorticography (ECoG) to measure the average HRF associated with IEDs in eight patients. Inter-patient variability of the HRF is illustrated in terms of oxygenated hemoglobin peak latency, oxygenated hemoglobin increase/decrease following IEDs, and signal-to-noise ratio. A sub-region was identified using an unsupervised clustering algorithm in three patients that corresponded to the most active area identified by ECoG.

## 7.3 Introduction

Epilepsy is a chronic neurological condition characterized by recurrent seizures caused by excessive brain excitability. For the 30% of patients with epilepsy that do not respond to anti-seizure medications, resective surgery of the epileptic focus can be considered as an alternative treatment [135]. Structural and functional imaging techniques are normally applied before surgery for the purpose of epileptic focus localization, eloquent brain functions mapping, and surgery planning. These include electroencephalography (EEG), magnetic resonance imaging (MRI), functional MRI (fMRI), positron emission tomography, single-photon emission computed tomography, and magnetoencephalography [135]. In some cases, intraoperative electrocorticography (ECoG) is used to guide the extension of the resection. This is conducted with a subdural electrode grid placed directly on the surface of the brain following the craniotomy to allow a 15-30-minute recording in the operating room. Intraoperative ECoG detects epileptiform activity occurring in between seizures i.e., interictal epileptiform discharges (IEDs). While seizures are rare and unpredictable, previous studies reported that brain regions generating IEDs can partially overlap with those generating seizures, therefore the study of IEDs may also provide important information regarding the location of the epileptic focus [68].

Neuronal activity induces local changes in cerebral blood flow through the mechanisms of neurovascular coupling. Blood vessels dilatation near active neurons leads to an increase in cerebral

blood volume, a net increase in oxygenated hemoglobin (HbO) concentration, and a net decrease in deoxygenated hemoglobin (HbR) concentration [55], [136]. This hemodynamic response function is the basis of many functional imaging techniques such as fMRI and functional near-infrared spectroscopy (fNIRS), which monitor hemodynamic activity as an indirect measure for neuronal activity. In the localization of IEDs, fMRI and fNIRS are usually combined with scalp EEG to determine the timing of IEDs. An event-related design is employed as well as a parametric regression model assuming a fixed shape of the response to IEDs (called the canonical hemodynamic response function, or canonical HRF). However, multiple studies have shown the variability of the hemodynamic response across patients [137], [138], age [139], brain areas [140]–[142], tasks [143] and also in epilepsy [54], [71]. For example, characterization of the HRF specific to epileptic spikes using EEG-fNIRS has shown significant inter-patient variability, responses starting before spikes and lasting up to 30 seconds after spikes [71]. The current limitations of EEG-fMRI or EEG-fNIRS restrict the ability to provide accurate estimates of the HRF to spikes. Specifically, fMRI has limited temporal resolution ( $\sim 0.5$ Hz) and is prone to motion artifacts. On the other hand, fNIRS has a relatively low spatial resolution ( $\sim 1$ cm) and a low signal-to-noise ratio (SNR) since light has to pass through several layers of tissue before attaining the brain [144]. Moreover, the use of scalp EEG may lower the sensitivity to detect spikes as the electrical signals may be attenuated or cancelled by soft tissue/bone and are frequently degraded by muscle artifacts.

In this paper, we present a proof-of-principle study that demonstrates the application of an intraoperative multispectral imaging system combined with ECoG to measure the hemodynamic response associated with IEDs directly from the exposed cortical surface of the patients. The optical system provides the advantage of having simultaneously a high spatial resolution ( $\sim 0.1$  mm) and a high temporal resolution ( $\sim 10$  Hz), as well as no signal contamination from tissue structures. Moreover, the high sensitivity of ECoG allows precise detection of IEDs. Concurrent recordings were conducted in eight patients with epilepsy undergoing resective surgery. The HRF to IEDs were obtained for all patients. In three patients, the optical imaging system located a brain area with an increased hemodynamic activity that was consistent with the location of IEDs detected by ECoG. Sampling hemoglobin concentration changes directly from the cortex, this system could be used to characterize patient hemodynamic response to IEDs, which may benefit fMRI or fNIRS analyses by providing more accurate HRF models. We also discuss the accuracy of this approach and its possible clinical uses in epilepsy surgery.



## 7.4 Methods

### 7.4.1 Patient selection

A total of 12 patients undergoing epilepsy surgery were selected for this study. The medical team performed all standard non-invasive presurgical work-up to identify the epileptic focus. Informed consents were obtained from patients and the Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) ethics review board approved the research protocol (#14.193). The data of four patients were excluded due to poor optical imaging data quality because of blood accumulation in the surgical cavity (three patients) or no IED at the recording location (one patient), leaving a dataset constituted of eight patients. Patient demographic and clinical information are presented in Table 1. The post-surgery outcome is indicated with the Engel seizure post-operative outcome score, ranging from 1 (seizure-free) to 4 (no worthwhile improvement). The number in parenthesis indicates the number of years since the surgery.

**Table 7.1 Demographic and clinical data of all patients included in the study.**

Patient #	Age	Sex	Anatomical MRI	Surgery	Pathology	Post-surgery outcome
1	32	F	Non lesional	Left temporo-insulectomy	Gliososis	Engel 3 (4.5 y)
2	35	F	Non lesional	Right operculo-orbito-insular cortectomy	Gliososis	Engel 1 (6 y)
3	33	M	Non lesional	Right temporal lobectomy	Gliososis	Engel 1 (1.5 y)
4	31	M	Subcortical heterotopia	Right sub-pial cortectomy of the inferior temporal sulcus	Heterotopia	Engel 2 (3.5 y)
5	44	M	Non lesional	Frontal lesionectomy, micro-cicatricectomy	Gliososis	Engel 2 (4 y)
6	24	F	Non lesional	Right posterior temporal cortectomy	FCD type Ia	Engel 2 (5.5 y)
7	24	M	Subcortical heterotopia	Right temporal lobectomy with lesionectomy	Heterotopia, FCD type IIa	Engel 1 (2.5 y)
8	32	M	Focal cortico-subcortical atrophy and gliosis	Right lesionectomy	Gliososis	Engel 2 (4 y)

FCD : focal cortical dysplasia

## 7.4.2 Intraoperative multispectral imaging

A custom multispectral imaging system connected to a neurosurgical microscope (OPMI Pentero, Zeiss) was used for cortex imaging during surgery [145] (Figure 7.1a). The imaging system is composed of a snapshot multispectral camera (IMEC, Leuven, Belgium) including a 4 x 4 band-pass filters array disposed over a charged-coupled device (CCD) chip. The sensor resolution is 1024 x 2048 pixels, leading to multispectral data cubes of 256 x 512 pixels with 16 spectral channels. The band-pass filters have transmission peaks centered from 480 to 630 nm with an average FWHM of 15 nm.

A white light source (Superlux, 300 W Xenon lamp) integrated into the microscope was used to continuously illuminate the brain surface during the imaging session. A custom 3D-printed adaptor containing a linear wire-grid polarizer (Edmund Optics, New Jersey, USA) was placed at the distal end of the microscope, with the polarizer aligned with the lamp output. The detection branch of the imaging system included lenses, a short-pass filter (650 nm), a long-pass filter (475 nm), and a second linear polarizer placed in a rotating mount. The position of the second polarizer was chosen to minimize specular reflections (approximately 90° from polarizer #1), by minimizing the camera signal when imaging a reflective material. After adjustments, a sterile drape was installed around the microscope.

The microscope was placed over the patient's head and the microscope's zoom and focus were adjusted by the neurosurgeon to maximize the field of view of the area with epileptic activity. The resulting working distance was ~25 cm and the total microscope magnification was set at 1.5x. The lens system from the adaptor led to a magnification of 4.7, an imaging field of view of ~13 cm<sup>2</sup>, and a spatial resolution of ~0.1 mm.

Microscope lamp power was set at 100%. For each patient, the integration time was chosen to maximize signal brightness while minimizing the number of saturated pixels. According to the chosen integration time (ranging from 30 ms to 95 ms), the camera frame rate was set to either 10, 15, or 20 frames per second (fps). Recordings were performed for 8 to 15 minutes.

## 7.4.3 Optical data calibration and processing

All data processing was executed after the surgery. Detailed processing methods are described in Pichette *et al.* [145] but the main steps are summarized here. Spectral and spatial calibration

procedures were initially performed to account for the system response, based on a reflectance standard (Spectralon, Labsphere) and using an in-house spectral calibration technique validated on optical phantoms. Pixels with an intensity value equal to the detector's maximum intensity were associated with specular reflections and were excluded from the analysis. A spatial registration algorithm was applied to the dataset to correct for brain movements due mostly to breathing and heartbeat. The algorithm was implemented using the MATLAB® Medical Image Registration Toolbox [146] and was applied to each frame individually. A sub-region within the whole imaged field of view was selected to reduce data size and to minimize computational times. This resulted in images where pixels corresponding to skull were eliminated and where regions containing electrodes were mostly removed.

The modified Beer-Lambert law was applied to the calibrated data to calculate the relative absorbance changes of each data point [145], [147]. The absorbance changes were computed relative to a reference image obtained by averaging the entire dataset. The differential pathlength factor used in the modified Beer-Lambert law was computed using estimates from the literature for the absorption and scattering coefficients ( $\mu_a$ ,  $\mu'_s$ ) in the brain. Parameters values and equations used to model absorption and scattering coefficients are detailed in [145], [148]. A least mean-squares fit was applied to each pixel to find the relative concentrations changes of HbO and HbR using their theoretical absorption spectra [149] (Figure 7.1c and d). Data were filtered temporally to eliminate the DC component and the variations  $>0.1$  Hz associated with physiological components such as heartbeat and respiration rate.

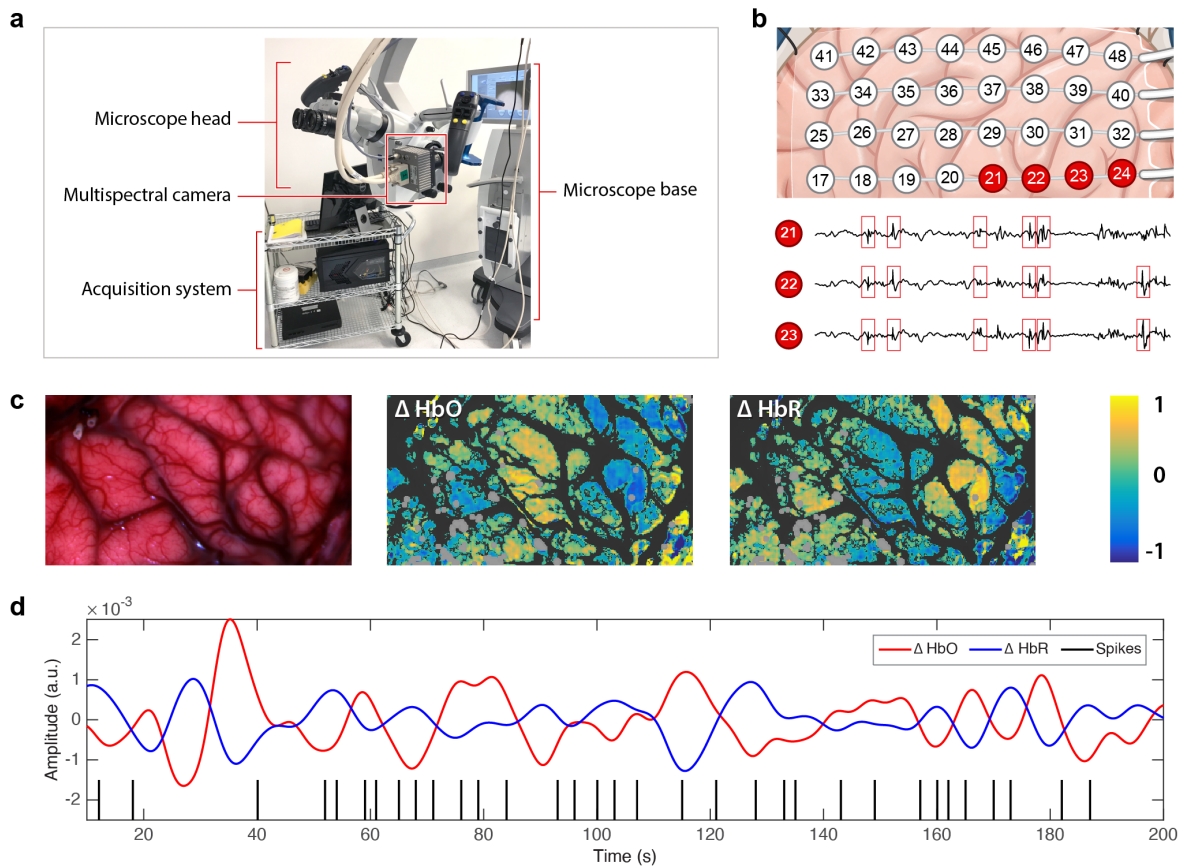


Figure 7.1: Intraoperative multispectral imaging and electrocorticography (ECoG). a) Multispectral imaging system connected to a neurosurgical microscope for video acquisition, b) ECoG electrode grid placed over the cortex during each procedure with active electrodes (in red) and non-active electrodes (in white), with examples of electrical signals for active electrodes and interictal epileptiform discharge identification (red boxes), c) Red-green-blue (RGB) representation of the multispectral data for one patient, with oxygenated (HbO) and deoxygenated (HbR) hemoglobin concentration changes. d) Interictal epileptiform discharges identified with black lines juxtaposed in time with oxygenated and deoxygenated hemoglobin concentration variations for one pixel.

#### 7.4.4 Electrocorticography and interictal epileptiform discharge identification

Electrocorticography was performed before the optical imaging session. An epileptologist (D.K.N.) identified the brain areas generating the IEDs (Figure 7.1b and Figure 7.2a). Some electrodes contacts were cut and removed to allow optical imaging without interference from the electrode grid plastic. This procedure was carried out to maximize the electrode-free field of view

for optical imaging while ensuring some of the remaining electrodes would still capture IEDs activity during the imaging session (Figure 7.2b-d). Optical imaging was then performed with simultaneous ECoG. A time marker was added in the ECoG files to indicate the starting and ending of optical imaging to synchronize the data between the two systems.

After the surgery, an epileptologist (D.H.T.) selected in the recorded intra-operative ECoG data the section associated with the optical imaging session period. The occurrences of IEDs were identified using commercial softwares (Stellate Harmonie or Nihon-Kohden Analyzer). Brain areas with IEDs were identified and were registered with the images acquired with the multispectral imaging system to obtain a delineated area with IED activity in the field of view (Figure 7.2e).

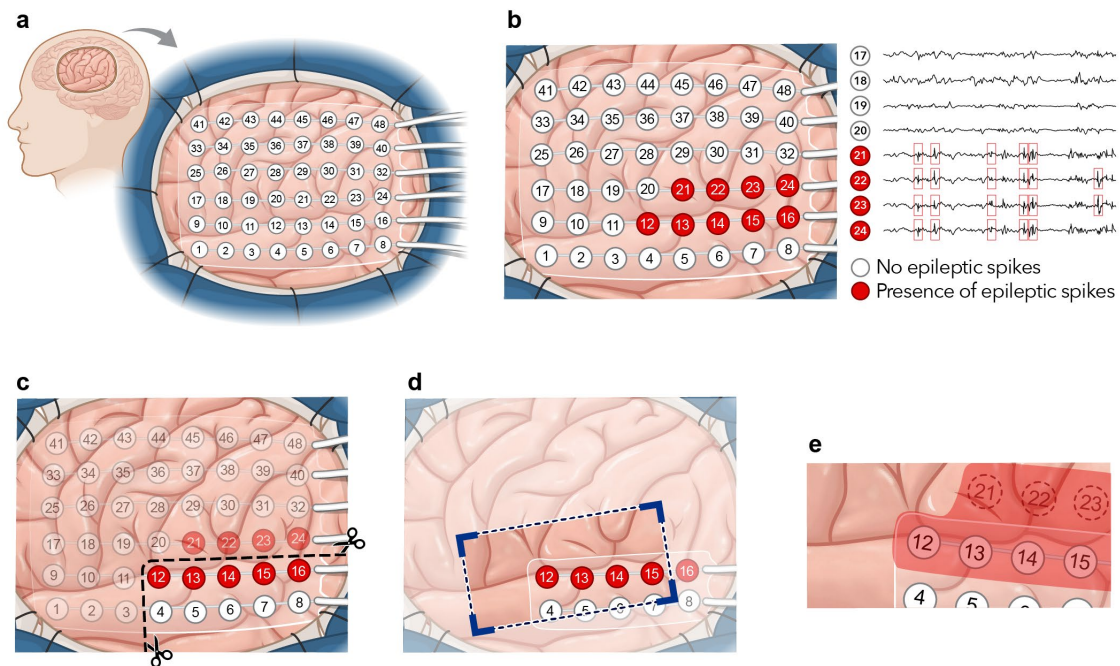


Figure 7.2: Interictal epileptiform discharge (*aka* spike) identification and localization procedure using electrocorticography. a) An electrode grid is placed on the cortex to record electrical activity, b) Interictal epileptiform discharges are identified in some electrode positions by an epileptologist, c) the grid is cut to allow optical imaging d) the field of view of the camera is positioned to capture epileptiform activity, e) based on the location of interictal epileptiform discharges, an area is identified as the active area and is registered on the multispectral camera field of view.

### 7.4.5 Average hemodynamic response to interictal epileptiform discharges

For each patient, the average hemodynamic response function (HRF) associated with IEDs was calculated. After applying low-pass filtering at 0.1Hz and image motion correction (as described in section 2.3), the hemodynamic variations are hypothesized to be a combination of low-frequency activity, resting-state activity, Mayer waves, and epileptiform activity. For each pixel, the HbO and HbR sequences were selected from 5s before an IED to 10s after an IED. The 15-second intervals were averaged using a conventional averaging technique. The length of this interval was selected because reported durations of the hemodynamic response are between 5 to 10 seconds following a stimulated event [140]. The 5-second window before IED onset was included because some studies reported hemodynamic changes preceding epileptiform events [71].

### 7.4.6 Cortex pixel selection

The camera FOV captured mostly the irritative zone, i.e. the area generating IEDs, as it was an extended zone in most cases. The average HRF across the FOV was then computed by averaging the pixel-wise HRFs across all eligible pixels. Only pixels corresponding to cortical tissue were considered in the averaging. Exclusion criteria included the detection of specular reflections, pixels displaying the electrodes, and pixels associated with large blood vessels. Specifically, 1) specular reflections were identified in the raw multispectral images using an intensity criterion and were masked for all subsequent data processing steps; 2) pixels containing plastic from the electrodes were manually segmented for each patient; and 3) pixels associated with blood vessels were identified based on their reflectance spectrum. For this, a blood vessel mask was defined from a model based on the theoretical reflectance spectra for blood vessels and cortex using optical properties values found in the literature [149], [150]. Details of this technique can be found in Laurence *et al.* [148].

As it appeared that some areas had slightly different HRF profiles, a k-means clustering algorithm was used to detect sub-regions with similar HRF. This step allowed to partition the pixels into cortical regions and to identify pixels with abnormally high intensity, considered to be outliers. Tests with different number of clusters as the input parameter (results not presented here) showed that choosing four clusters allowed us to identify different clusters of outliers (2 or 3 clusters depending on which patient was considered) and preserved the cortex area with the most

physiological significance (1 or 2 clusters). Before clustering, data were normalized using the standard normal variate (SNV) normalization to ensure that the absolute intensity of pixels across the image would not affect clustering, but only the inter-pixels relative amplitude changes.

## 7.5 Results

### 7.5.1 Hemodynamic response function to interictal epileptiform discharges

Hemodynamic activity occurring at the surface of the exposed cortex was obtained for eight patients. Given the optical properties of brain tissue in the wavelength detection range used (480-630 nm), the penetration depth of light is limited to a maximum of  $\sim 1$  mm, thus the reconstruction of the hemoglobin concentration variations is limited to cortical surface only [151]. The field of view after image cropping, the number of remaining visible electrodes, and the amount of blood accumulated in the surgical cavity varied for each dataset. The clinical data reported in Table 1 illustrates the range of underlying causes and affected brain areas across patients. The occurrence of IEDs also varied across patients with a median time between IEDs ranging from 0.6 to 9.3 seconds (Table 2). Such a wide range of occurrence frequency is representative of the natural inter-patient variability. However, it implies that the number of hemodynamic signal time sequences averaged over to evaluate the HRF is variable across all patients. The number of IEDs used in the calculation of the average HRF varied from 18 to 531.

Table 7.2 Interictal epileptiform discharge occurrence in patients

Patient #	Number of averaged IEDs	Median of IED interval (s)
1	137	1.6
2	62	2.0
3	531	0.6
4	59	3.0
5	135	1.0
6	35	3.6
7	18	9.3
8	111	3.3

An example of the average hemodynamic response to IEDs for one patient (patient #2) is shown in Figure 7.3, where maps of HbO and HbR variations are displayed for five representative time

points. Variations are observable in most of the FOV but it is hypothesized that the region associated with the highest HbO changes is the region with most of the IED activity. The amplitudes of each HbO and HbR time sequence were normalized between -1 and 1. At  $t = -5$  seconds, the image displays baseline HbO and HbR concentrations associated with low levels of signal intensity in most regions. An increase in the relative HbO concentration is visible in some areas at  $t = -2$  seconds, with a maximum increase localized at the top-center of the field of view. HbO concentration decreased at this location for  $t = 2$  seconds and increased in the bottom-right corner of the image. At  $t = 6$  seconds, only the bottom right corner of the image showed an increase in HbO. The variations in HbR concentration exhibited an opposite behavior, with a decrease in concentration in the middle of the image at  $t = -2$  seconds, followed by a moderate increase. A video of the average HRF shown in Figure 7.3 is available on the online version of the manuscript (Visualization 1).

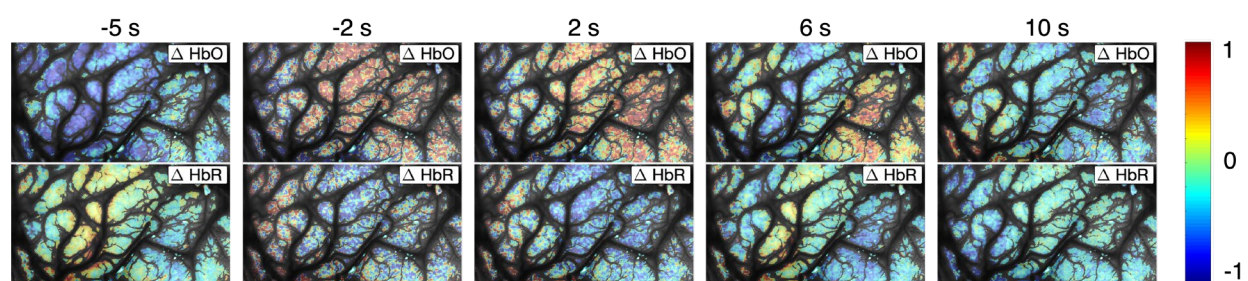


Figure 7.3: Average HRF intensity map (HbO at the top and HbR at the bottom) for patient #2 illustrated from -5 to 10 seconds after spike events. Amplitude of the concentration changes were normalized between -1 and 1 for HbO and HbR independently. Pixels corresponding to blood vessels are blacked out. (See Visualization 1)

The optical data quality varied from acquisitions. An SNR value associated with the raw multispectral imaging data was evaluated for each patient by computing the average value of the first 100 raw frames of each acquisition, divided by their standard deviation at each pixel. The SNR for each patient is shown in Figure 7.4b in descending order, namely from images with the lower value of photonic noise to those with the highest levels associated with poorer imaging quality.

For each patient, the pixel-wise HRFs were averaged across all retained pixels after applying the exclusion criteria from section 2.6. This led to patient HbO and HbR hemodynamic responses to



IEDs shown (in descending order of SNR) in Figure 7.4a. For patients #1, 2, 4, and 6, the response showed an increase of HbO and a small decrease of HbR, whereas the opposite behavior is observed for patients #3 and 8. For c5 and 7, the standard deviation is large and the behavior of the HRF is less clear. The extremum position varies between patients, appearing before IED onset in two cases (0.7 seconds before for patient #2 and 2.4 seconds before for patient #8).

Figure 7.4c displays an example of the acquired multispectral images for patients #1, 5, and 8, with the highest (P1) and lowest (P8) SNR. The images are an RGB representation of the multispectral images to illustrate visually the variability in image quality.

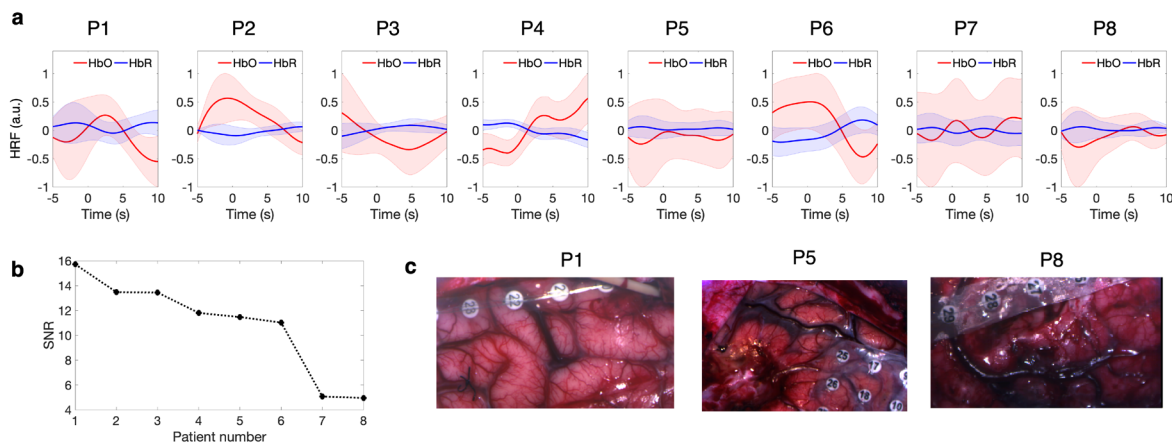


Figure 7.4: Hemodynamic response function to interictal epileptiform discharges and the effect of signal-to-noise ratio (SNR). a) Average hemodynamic response to interictal epileptiform discharges for each patient displayed in descending order of SNR, b) SNR calculated on raw multispectral images for each patient, c) RGB representation of the multispectral images with high SNR (patient #1) intermediate SNR (patient #5), and low SNR (patient #8).

## 7.5.2 Localization of interictal epileptiform discharges activity

A k-means algorithm identified outliers to be removed from the analysis. For patients #1, 2, and 6, two cortex clusters were also identified, corresponding to two cortical sub-regions. The average HRF of the two areas were computed and one sub-region was found to have an HRF temporal profile more representative of an expected hemodynamic response, i.e., an increase in HbO concentration following the IED. The corresponding region was compared with the epileptic focus area as identified by the epileptologist. Figure 7.5a displays the maps of the selected sub-region for

patients #1, 2, and 6. Figure 7.5c displays the hemodynamic response for pixels included in those clusters for each patient respectively. The HRF show a clear increase in HbO concentration and a decrease in HbR. However, the position of the maximum increase in HbO is different across patients. For patient #1, the maximum increase appears 3 seconds after the IEDs, whereas in patients #2 and 6, the maximum increase appears 1 and 3 seconds before the time of IEDs respectively. A significant HbO undershoot was also seen in patients #1 and 6, reaching its maximum at 10 seconds for patient #1, and at 7.5 seconds for patient #6.

The approximate area with high epileptic activity as identified by the epileptologist (D.H.T.) based on the ECoG grid is shown in Figure 7.5b for each of the three patients. We observed a significant overlap between the ECoG localized area and the HRF-based cluster in patient #2, with the major region of overlap in the center of the FOV. For patient #6, the identified cluster partially overlapped with the brain area where the highest level of IED activity was detected (i.e., around ECoG electrodes #20 and 21 located in the center of the FOV). However, some hemodynamic activities, albeit with smaller spatial extent and lower amplitudes, were also seen near electrodes #18 and 19 which exhibited almost no IED activity in the corresponding ECoG time courses. For patient #1, the localization of active electrodes was more difficult as most of the spike activity was localized to be in the deeper structures under the cortical surface (mostly in the right part of the FOV near the depth electrodes). The HRF cluster partially overlapped with the cortical area, which might receive projections of the spike activity from the underlying deep structures. However, a more significant response was observed in the center part of the FOV.

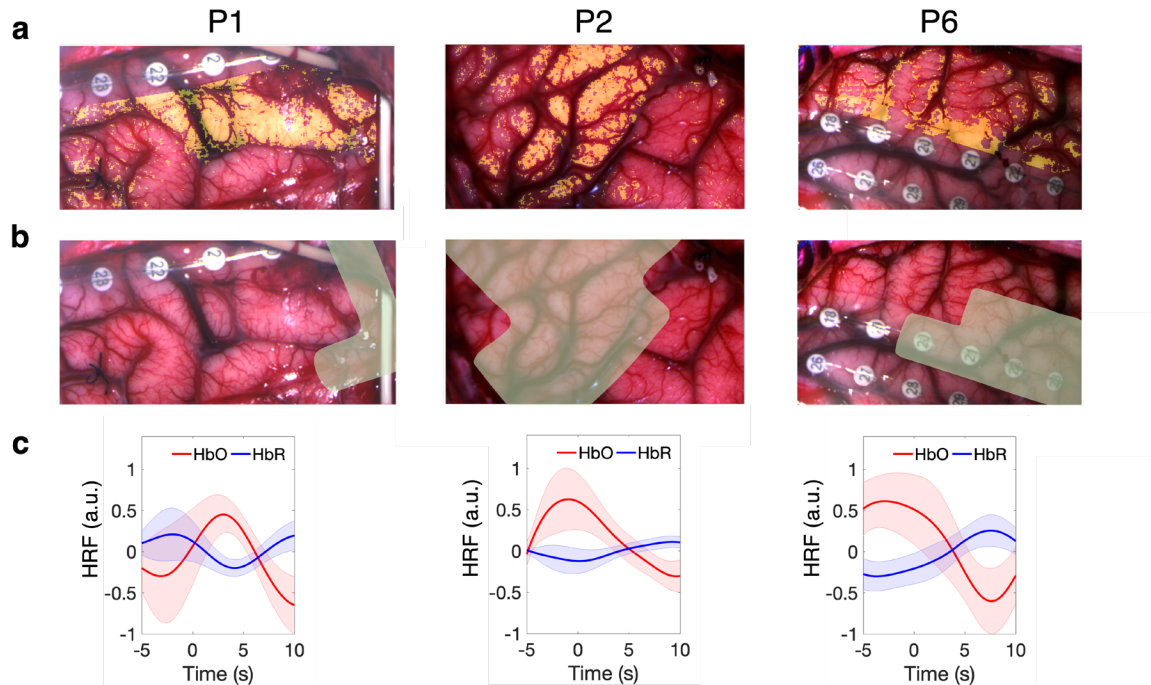


Figure 7.5: a) Subregion identified with the clustering algorithm based on the hemodynamic response for patients # 1, 2, and 6 (orange), b) Electrode region detecting IEDs before the imaging session (green), c) HRF corresponding to pixels identified in a). The two white cables visible in a)-P1 and b)-P1 are depth electrodes.

## 7.6 Discussion

### 7.6.1 Hemodynamic response function to interictal epileptiform discharges

This paper demonstrates that multispectral imaging combined with ECoG can be used to characterize the hemodynamic activity associated with IEDs at the cortical surface. The method employed to average the HRF considered that the hemodynamic variations were a combination of different types of activity (resting-state activity, low-frequency waves, Mayer waves and epileptiform activity), but that the IEDs contribution would be captured by averaging their specific time points. Recorded IEDs exhibited a widespread pattern of abnormal electrical activity across the FOV. It was then assumed that the zone displaying IEDs was extensive and covered most of the camera field of view, allowing to characterize the HRF over the whole field of view of the cortex visible in the multispectral images, after removal of noise, electrodes, and saturated pixels. Large areas of hemodynamic activity or activities occurring remotely from the main epileptic site

were also observed in other studies and can be explained by widespread IEDs areas or propagation of neuronal activity to secondary sites [67], [152]. IEDs median interval was shorter than the 15-second interval selected in the hemodynamic response, meaning that multiple events were averaged in the time frame. This increases the standard deviation of the calculated HRF, but it is assumed that the large number of total events captured still allows distinguishing the overall response to IEDs.

The average HRF obtained in Figure 7.4a displayed strong heterogeneity between patients, in terms of HRF shapes, oxygenation vs. deoxygenation, and peak latency, which were also reported by other studies. For patients #1, 2, 4, and 6, the HRF displayed an increase in HbO concentration and a decrease in HbR concentration, which is consistent with the expected HRF. However, patients #3 and 8 exhibited an inverted response mostly characterized by a decrease in HbO. This has been reported previously, where inverted BOLD response was mostly associated with sustained activity [64]. Patient #3 had the highest number of IEDs ( $N=531$ ), occurring every  $\sim 0.6$  seconds, thus one interpretation might be that the very high rate of IEDs causes a decrease in oxygenation due to high metabolic demands which exceed the transient increase in local blood flow. The HRF of patients #5, 7, and 8 were associated with a high standard deviation making it challenging to distinguish HbO and HbR responses or to draw any conclusion on the HRF. This might be explained by the low SNR in the multispectral images for those patients, which made it difficult to separate the two chromophores' signals. Moreover, patient #7 had the lowest number of IEDs to average ( $N=18$ ), which might partially explain the large standard deviation in the HRF.

In terms of latency, the maximum HbO concentration variation observed in our dataset happened at  $1.5 \pm 4.5$  s, with an early response in patients #2 and #8. Early responses were also observed in other studies, where patients showed an HRF preceding IEDs measured by EEG-fNIRS [71] or EEG-fMRI [62] but the physiological origin of this early response is not well understood yet. It was also observed in an EEG-fNIRS study on IEDs that for some patients the HRF lasted up to 30 seconds, with large variations in duration time across patients [71]. A longer selected interval may allow to observe significant changes for patients #5, 7, or 8.

In summary, the large HRF heterogeneity across patients that was observed in this study agrees with the literature and suggests that more extensive studies should be performed to characterize the

HRF to IEDs. Choosing patient specific HRFs could improve IED detection using fMRI and fNIRS.

### **7.6.2 Localization of interictal epileptiform discharges activity**

The clustering method used in section 2.6 identified cortical sub-regions in the field of view in three patients out of eight. The overlap between the cluster area and the ECoG localized area suggests that the multispectral imaging system can localize hemodynamic changes due to epileptiform activity occurring at the cortical surface. In the other patients, the clustering method suggested that there was no noticeable difference among the HRFs of different regions. This might be due to limitations in signal intensity, or it could also be explained by the rather widespread electrical discharges seen in many of those patients, which implied a potentially large epileptic irritative zone.

Because of instrumental and anatomical limitations, the position of the epileptic focus was not always well centered in the camera's field of view. In some patients, the epileptic focus was in deeper structures of the brain. In that case, the ECoG measured electrical propagation of the spikes emerging from the focus and reaching cortical surface. However, the propagation of the vascular activity and the neuronal electrical activity may not follow the same trajectory, which may explain the spatial discordance between detected changes in hemoglobin concentrations and spike activity in some patients (e.g., patient #1). Patient #2 represents a case where the extent of the HbO cluster was consistent with the location of the spike electrical activity on ECoG (Figure 7.5a and b). This indicates that the detected hemodynamic activity was most probably specific to the epileptic focus. For patient #6, HbO increases were localized both within and outside the brain area where spike electrical activity was observed.

Overall, the results suggested that the employed technique is sensitive in the detection of local hemodynamic changes associated with IEDs, as observed by another study focusing on low-frequency oscillations [153]. More studies should be performed to validate the specificity of focus localization with this technique.

### **7.6.3 System improvements**

Optical data acquisition showed variability in terms of image intensity and blood accumulation in the surgical cavity, resulting in a difference in SNR and pixel saturation across patients. Using a

more sensitive camera sensor could help to reduce noise since the camera used in the multispectral imaging system had some limitations in terms of dark noise and dynamic range (bit depth of 8) as well as sensor sensitivity, all affecting our ability to limit shot noise (i.e., photonic noise) during acquisitions. The large number of saturated pixels in some patients might be explained by small differences in the alignment of the crossed linear polarizers between acquisitions. Optimizing the alignment method would limit the specular reflections, allow a higher integration time to be used during acquisition, and therefore increase the SNR. One source of error in the timing precision in our study may come from the manual synchronization between ECoG and multispectral recordings ( $\pm 0.5$  second) which should be improved.

Other limitations of the study concern the small sample size, the heterogeneity of patient conditions (demographic, type of epilepsy, type and frequency of spikes, etc.) and the lack of control in the surgical parameters (e.g., anesthetics used in surgery may impact hemodynamic responses) increasing the heterogeneity of the measurements. The frequency of IEDs is an important factor that needs to be considered while estimating the HRF and evaluating its accuracy. Within a particular time frame, low-frequency IEDs generate fewer events to be averaged, therefore reducing the confidence interval in the modeled HRF. On the other hand, high-frequency spikes might result in hemodynamic responses in a highly overlapping manner, potentially reducing the accuracy of estimated HRF with the averaging model. However, we have no control over these parameters since IEDs are spontaneous. To overcome this, superior processing methods should be employed, such as a general linear model (GLM) framework. Specifically, the addition of a nonlinear term in the GLM may further improve the accuracy in estimation of HRFs to spikes with high frequency[54]. This was not used in this paper since the focus was to demonstrate the feasibility of using multispectral imaging during neurosurgery to detect the hemodynamic response to IEDs but the usefulness of deconvolution and GLM in the estimation of HRF from multispectral data should be evaluated in future studies.

In conclusion, this proof-of-principle study has presented the imaging of hemodynamic changes occurring at the surface of the cortex during epilepsy surgery and highlights the potential of combining ECoG and multispectral imaging to characterize the hemodynamic response function specific to interictal epileptiform discharges.

## **7.7 Acknowledgments**

The authors would like to thank the medical staff for their help in the operating room and QCVisual for the help with some figures. This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and the Canadian Foundation for Innovation (CFI).

## **7.8 Data Availability**

Anonymized data may be provided upon request.

## **7.9 Disclosures**

The authors have no conflict of interest to declare.

## CHAPITRE 8 DISCUSSION GÉNÉRALE

Le but de cette thèse était de développer deux systèmes d'imagerie ayant des modalités complémentaires pour la détection de marqueurs de l'épilepsie durant la neurochirurgie. Un premier système d'imagerie, basé sur une caméra multispectrale, a été développé et utilisé dans le cadre d'études cliniques sur patients humains. Les études ont eu lieu lors de 18 chirurgies d'épilepsie et dans deux centres hospitaliers différents (Hôpital Notre-Dame et CHUM). Les premières prises de données *in vivo* ont permis d'optimiser le système, la méthode d'acquisition et la calibration, qui sont décrites dans l'article 1. Les prises de données subséquentes ont servi à valider les performances du système pour la détection de changements hémodynamiques à la surface du cortex. Une première étude a démontré qu'il était possible d'utiliser les variations hémodynamiques à basse fréquence pour distinguer les vaisseaux sanguins et le sang se retrouvant dans la cavité chirurgicale, ce qui a mené à la publication de l'article 2. Une dernière étude a permis de détecter la réponse hémodynamique associée aux pointes épileptiques et de localiser ces zones d'activité chez certains patients. Cette étude, qui fait le sujet de l'article 3, a démontré le potentiel du système d'imagerie combiné avec l'ECOG pour l'étude des pointes épileptiques avec une bonne résolution spatiale, temporelle et une grande sensibilité aux pointes épileptiques.

Un second système d'imagerie a été développé basé sur l'imagerie dans le domaine des fréquences spatiales. Une version du système pour l'étude d'échantillons *ex vivo* a permis le développement des algorithmes, l'élaboration de la méthode de calibration pour tenir compte du profil 3D de l'échantillon et l'évaluation des performances pour la reconstruction des coefficients d'absorption et de diffusion. Une version du système connectée au microscope neurochirurgical a été réalisée afin de permettre son utilisation en salle d'opération. Le système n'a cependant pas été testé étant donné des contraintes de temps et d'accès à l'hôpital causées par la pandémie de COVID-19.

Les objectifs présentés au chapitre 3 de la thèse ont donc été atteints. Les prochaines sections présentent les discussions spécifiques aux différentes parties du projet et les limitations associées aux techniques d'imagerie et aux études présentées.



## 8.1 Système d'imagerie multispectrale

### Intégration du système au microscope neurochirurgical

Le développement opto-mécanique du système d'imagerie et son intégration au microscope neurochirurgical ont nécessité beaucoup de travail d'ingénierie et de rétro-ingénierie, étant donné que les spécifications du microscope n'étaient pas accessibles publiquement. Le produit final s'est avéré être facile d'utilisation pour le neurochirurgien, qui bénéficiait des contrôles motorisés du microscope comme l'ajustement du focus et du zoom. Les paramètres de mesure et les méthodes de calibration ont été optimisés à chaque acquisition, ce qui a mené à un système final robuste, répétable et fiable. Les principaux paramètres retenus sont les suivants :

1. Zoom du microscope ajusté au minimum pour maximiser le champ de vue;
2. Intensité de la source de lumière ajustée à 100% (le contrôle d'intensité des images se fait alors par l'ajustement du temps d'intégration);
3. Focus du microscope ajusté une fois le microscope positionné au-dessus du cerveau;
4. La durée des enregistrements doit être au minimum de 5 minutes;
5. L'alignement des polariseurs croisés se fait en imageant une surface réfléchive, puis la position est fixée avant de mettre le drap stérile autour du microscope;
6. Une mesure est prise sur un standard de diffusion (*Spectralon*) en utilisant les mêmes zoom et focus que pour l'acquisition, mais en ajustant le temps d'intégration;
7. Le spectre de la source blanche est mesuré à chaque acquisition pour calibrer spectralement les données.

Le choix d'intégrer directement le système d'imagerie au microscope neurochirurgical a été judicieux dans le cadre de cette thèse puisque que d'autres composants déjà intégrés au microscope étaient utiles au système. Par exemple, les spécifications de la source blanche correspondaient aux spécifications désirées du système d'illumination en termes de plage de longueur d'onde et de puissance nécessaire. Cependant, dans un contexte d'utilisation où le signal à détecter serait de très faible intensité, en présence de bruit important ou dans une plage de longueur d'onde non-optimisée par le fabricant du microscope, ma recommandation serait de concevoir un système autonome et indépendant du microscope. Ceci permettrait de maximiser l'intensité du signal mesuré et de mieux contrôler les paramètres d'acquisition et d'alignement. Afin de couper les réflexions spéculaires, deux polariseurs linéaires croisés ont été installés dans le système d'imagerie. Un des polariseurs

était placé dans la branche de détection dans une pièce rotative commerciale (*Thorlabs*), mais l'autre a nécessité la conception d'un adaptateur placé en dessous du microscope. Cet adaptateur (annexe B) a été fabriqué à l'aide d'une imprimante 3D et ses dimensions ont été précisément mesurées afin de permettre l'utilisation d'un drap stérile placé autour du microscope avant d'être approché du patient. L'utilisation d'un adaptateur comme celui-ci est conseillée pour ceux qui désireraient développer un système d'imagerie similaire.

### **Choix de la caméra**

Théoriquement, deux longueurs d'onde sont suffisantes pour la reconstruction des concentrations de HbO et HbR et c'est ce qui est généralement fait en oxymétrie de pouls et en fNIRS. Il a toutefois été montré que d'utiliser quelques longueurs d'onde (entre 8 et 16 selon les études) permet de réduire l'erreur sur les valeurs des concentrations calculées [154]. Une étude basée sur des simulations Monte Carlo a identifié que de 10 à 12 longueurs d'onde permettait une reconstruction performante des concentrations de HbO, HbR et de cytochrome oxydase [154]. L'utilisation d'une caméra multispectrale à 16 longueurs d'onde telle que présentée dans cette thèse possède donc un avantage au niveau de la modélisation des données et de la précision des reconstructions. En effet, dans le contexte chirurgical où différentes sources de bruit et de contaminants du signal (par exemple du sang, des électrodes, des bandelettes chirurgicales, des réflexions spéculaires) sont présents, il est plus facile de distinguer automatiquement les signaux parasites de la signature de l'hémoglobine en utilisant des mesures à plusieurs longueurs d'onde.

Le caractère multispectral du système a également permis le développement de l'algorithme de segmentation des vaisseaux sanguins basé sur le spectre de réflectance utilisé dans les articles 2 et 3. Plus précisément, cette information a eu un impact sur la valeur du *differential pathlength factor* utilisé dans le calcul de la loi de Beer-Lambert modifiée, qui affecte directement l'amplitude des changements de HbO et HbR détectés.

De façon générale, pour le développement d'un système d'imagerie intraopératoire, il est important de choisir une caméra ayant une bonne sensibilité, des filtres passe-bande sans recouvrement spectral et avec peu de réponses de deuxième ordre, une bonne résolution temporelle (>10 Hz) et spatiale (>255 par 255 pixels) et un ratio d'aspect proche de 1 : 1 pour éviter les problèmes de positionnement au-dessus de la zone d'intérêt.

## **Gestion numérique des données**

Les données multidimensionnelles (espace, longueur d'onde, temps) obtenues sont riches en information. Elles ont cependant un coût de stockage important : chaque acquisition de données en salle d'opération représentait environ 50 Go. Ceci représentait un défi de stockage de données tant sur les disques durs externes que dans la mémoire vive de l'ordinateur, en plus d'un temps de traitement long. Par exemple, l'algorithme de recalage d'images prenait environ 16 heures à exécuter pour un seul patient. Dans une application future où l'objectif serait d'avoir un système d'imagerie en temps réel, il serait nécessaire de faire des choix sur la quantité de données traitée en même temps, de paralléliser le traitement de données et de maximiser la puissance de calcul des ordinateurs. Il serait également intéressant de traiter une partie des données avec l'intelligence artificielle afin d'élaborer des modèles en laboratoire pouvant être appliqués rapidement en salle d'opération ensuite.

## **8.2 Détection de vaisseaux sanguins à partir des changements hémodynamiques**

La combinaison des analyses spectrale et temporelle décrite dans l'article 2 a permis la distinction des vaisseaux sanguins, du cortex et du sang. Le spectre de réflectance permet de distinguer le cortex du sang, puis l'analyse temporelle permet ensuite la détection des vaisseaux. Cette étude a permis dans un premier temps de démontrer les capacités du système à distinguer la réponse hémodynamique de différentes structures, où l'on peut voir par exemple les composantes fréquentielles associées au battement cardiaque et à la respiration seulement dans les régions vascularisées. La technique a aussi permis d'établir des critères de segmentation pour des situations où la distinction des structures ne peut pas se faire visuellement, comme dans le cas de biopsie du cerveau. La fréquence cardiaque et la fréquence de respiration sont assez stables dans un contexte chirurgical pour être utilisés comme critères de séparation. Ce sont toutefois des variations basse fréquence, qui nécessitent des temps d'acquisition de quelques dizaines de secondes. Dans ce cas-ci, un temps d'acquisition encore plus élevé était nécessaire pour obtenir un SNR suffisant. Les temps de mesures n'étaient donc pas réalistes pour une application neurochirurgicale, où l'on viserait une mesure  $< 15$  secondes. Pour accélérer la mesure, il serait alors nécessaire d'optimiser

l'intensité du signal mesuré et de cibler les variations du rythme cardiaque plutôt que celles de la respiration, puisqu'elles sont plus rapides.

Avec le développement grandissant de technologies pour le guidage chirurgical et les avancées en réalité augmentée, il est possible de penser que ces algorithmes soient éventuellement réutilisés et intégrés à un système d'imagerie complexe, combinant par exemple la détection de structures cérébrales, de vaisseaux sanguins, de fonctions neuronales, et de tumeurs/lésions. Toutes ces images numériques pourraient être projetées au neurochirurgien afin d'augmenter le contraste qu'il peut observer lors de la résection. Dans ce cas, des algorithmes comme ceux présentés dans l'article permettraient d'établir rapidement des critères de segmentation.

### **8.3 Analyse de la réponse hémodynamique aux pointes épileptiques**

L'étude de la réponse hémodynamique à l'aide de l'imagerie optique présente une avenue prometteuse pour approfondir les connaissances du couplage neuro-vasculaire dans le cas de certaines conditions neurologiques. Bien que la majorité des études avec cette technique aient été réalisées chez les animaux, le travail fait dans cette thèse contribue à démontrer qu'il est possible d'appliquer la technique aux humains, en utilisant l'électrocorticographie comme méthode de mesure de l'activité électrique.

La majorité de la littérature portant sur l'imagerie de la réponse hémodynamique est réalisée avec le fNIRS et l'IRMf, étant donné que ces technologies sont plus facile d'accès que l'imagerie optique intraopératoire. Dans le contexte de l'épilepsie, plusieurs recherches ont été effectuées avec le fNIRS pour caractériser la réponse aux crises afin de mieux comprendre les processus biologiques impliqués et aider à prévoir leur apparition. Depuis quelques années, les pointes épileptiques sont également étudiées, puisqu'elles sont plus fréquentes que les crises et sans symptômes perturbant l'état de conscience du patient. Elles représentent une avenue importante pour la prévision de l'apparition des crises et pour la localisation du foyer épileptique. Dans le cadre de mesures intraopératoires, les crises sont très peu probables, étant donné l'effet de l'anesthésie. Les courts temps d'enregistrement ne permettraient pas leur mesure non plus. L'étude des pointes épileptiques est donc la meilleure approche pour la détection de l'activité épileptique pouvant servir à localiser la zone à opérer.

Le système présenté dans cette étude (imagerie optique-ECoG) peut, d'une certaine façon, être vu comme un équivalent d'un système EEG-fNIRS parce qu'il mesure simultanément l'activité électrique et la réponse hémodynamique. L'avantage de l'imagerie multispectrale par rapport au fNIRS est une meilleure résolution spatiale, qui permet une cartographie plus précise des régions corticales exposées. La sensibilité de détection des pointes épileptiques est aussi supérieure à l'ECoG qu'à l'EEG. Cependant, l'information obtenue en imagerie multispectrale est limitée à un petit champ de vue et à la surface du cortex seulement en comparaison avec le fNIRS. Les techniques EEG-fNIRS et imagerie optique-ECoG pourraient être utilisées en complémentarité afin de bénéficier des avantages combinés des deux techniques.

### **Limites de l'étude**

L'étude de la réponse aux pointes hémodynamique présentée à l'article 3 comporte plusieurs limitations au niveau méthodologique et expérimental. Premièrement, les grilles d'électrodes de l'ECoG bloquent le champ de vue de la caméra, ce qui signifie qu'il est impossible d'avoir l'information des deux techniques simultanément. Des efforts ont été faits pour couper judicieusement la grille d'électrodes, mais il n'existait pas toujours de bonne solution permettant de mesurer des pointes épileptiques tout en libérant un champ de vue idéal pour la caméra. Aussi, ce champ de vue étant plutôt réduit, il n'était pas toujours possible d'avoir une zone *avec* et une zone *sans* activité épileptique. Lorsque possible, il serait préférable de prioriser ce critère dans de prochaines études afin de permettre une analyse comparative des deux zones ayant plus de poids statistique.

Deuxièmement, le recalage d'images acquises avec la caméra multispectrale et avec un appareil photo était difficile à réaliser puisqu'aucun marqueur visuel n'avait été placé sur le cortex. Le recalage s'est fait en observant visuellement les vaisseaux sanguins majeurs, mais la prise de vue des deux caméras n'était pas toujours la même. Il serait recommandé de prendre plusieurs photos de référence ou de placer des marqueurs permettant un recalage plus facile.

Troisièmement, une des limitations principales à l'étude des pointes épileptiques est leur caractère spontané et leur délai d'occurrence très court. Considérant que la réponse hémodynamique se produit sur un intervalle de 10 secondes et que les pointes épileptiques étaient en moyenne espacées de 2-3 secondes, il est certain que la méthode de moyennage utilisée captait plusieurs événements à la fois. Le grand nombre d'événements moyennés vient toutefois balancer cet effet, en capturant

une tendance globale se produisant sur des centaines d'événements. Il serait nécessaire pour les prochaines études de modéliser de façon plus précise cette réponse multiple rapprochée, comme cela a été réalisé dans certaines études en fNIRS. Il pourrait aussi être intéressant de sélectionner au préalable des patients ayant des pointes suffisamment espacées afin de réduire cet effet.

Quatrièmement, la mesure de l'activité hémodynamique est une mesure indirecte de l'activité cérébrale et mesure l'apport en oxygène par le réseau vasculaire. Elle ne tient pas compte de la consommation de glucose ou de la consommation en oxygène par les cellules (CMRO<sub>2</sub>). L'utilisation de techniques comme la mesure du CBF par effet Doppler, ou l'utilisation de la technique *diffuse correlation spectroscopy* seraient nécessaires pour obtenir le CBF et le CMRO<sub>2</sub>.

Finalement, les foyers épileptiques des patients étaient souvent situés dans des structures profondes et l'activité détectée en surface était causée par une propagation électrique des pointes épileptiques via les réseaux neuronaux. Bien qu'il soit assumé que le couplage neuro-vasculaire près d'une zone épileptogène soit modifié, la modification ne s'applique pas nécessairement à la zone secondaire de propagation. Pour mesurer directement l'activité du foyer épileptique exposé, il serait intéressant d'utiliser le système durant la résection et non seulement après la craniotomie.

Pour améliorer spécifiquement cette étude et la rendre plus robuste et généralisable, il serait nécessaire de :

- Mesurer la réponse hémodynamique associée à différentes catégories de pointes épileptiques : pointes isolées, consécutives, rapprochées et nombreuses en évaluant un plus grand nombre de patients;
- Comparer les résultats à ceux obtenus avec un système fNIRS-EEG chez les mêmes patients;
- Déterminer la différence des réponses entre une zone d'activité épileptique et une zone sans activité épileptique, en sélectionnant judicieusement le champ de vue imagé.

Une caractérisation plus précise de la réponse hémodynamique dans le cas de l'épilepsie aidera à améliorer la précision des techniques d'imagerie fonctionnelles actuelles, en intégrant des fonctions de réponse hémodynamique plus spécifiques. Cela approfondira aussi les connaissances de cette condition neurologique et contribuera à mieux comprendre la nature du couplage neuro-vasculaire.

## 8.4 Imagerie dans le domaine des fréquences spatiales

Un système SFDI a été développé dans le cadre de cette thèse avec des performances comparables à celles de la littérature au niveau de l'exactitude sur les propriétés optiques trouvées (% d'erreur), et ce, même dans le régime de haute absorption ( $\sim 400$  à  $450$  nm). Un module de correction de la surface 3D pour imager des échantillons non-planaires a aussi été implémenté. Le système possède de moins bonnes performances que d'autres au niveau du temps d'acquisition ( $\sim 5$  min pour une acquisition complète), comparé à quelques secondes pour des systèmes commerciaux ou  $\sim 1$  min pour des systèmes de recherche. Cette différence s'explique par deux raisons principales : le faible niveau de signal recueilli par le système nécessitant de longs temps d'expositions et l'utilisation d'algorithmes classiques à plusieurs fréquences spatiales projetées successivement. Pour adresser le problème du temps d'exposition, il est nécessaire d'optimiser les efficacités de transmission de chacun des composants optiques (projecteur, filtre accordable, etc.) et leur couplage optique. Par exemple, le projecteur a une efficacité de transmission de 15% étant donné toutes les pertes associées aux composantes internes, et le faisceau de fibres optiques utilisé pour relayer l'image à la caméra a une efficacité de 28%. Augmenter la puissance de la source lumineuse pour compenser les pertes permettrait d'augmenter l'intensité mesurée, mais la source intégrée au système a déjà une puissance de  $\sim 250$  mW (à 435 nm). L'élément ayant le plus d'impact au niveau des pertes optiques est toutefois le microscope neurochirurgical. Le couplage du projecteur au microscope a une efficacité de 15% seulement, puis d'autres pertes sont présentes à l'intérieur même du microscope étant donné la présence de plusieurs lames séparatrices polarisantes. Pour une application en grand champ, où la puissance lumineuse est répartie sur une grande surface, il me semble alors nécessaire de concevoir un système optique indépendant.

Afin d'améliorer la vitesse d'acquisition, il est possible d'utiliser des algorithmes de type *snapshot* (*Single Snapshot Optical Properties imaging*), permettant en une seule image d'acquérir toutes les données nécessaires. Le désavantage de cette technique est la perte de résolution et la création d'effets de bords, mais elle est une avenue possible pour l'imagerie des propriétés optiques en temps réel, ouvrant la voie à des applications dynamiques.

L'utilisation d'une source à large bande spectrale ou de plusieurs sources monochromatiques permet d'obtenir  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  à plusieurs longueurs d'onde et ainsi de mieux caractériser le tissu. Ceci permet aussi d'établir des modèles de correction de l'intensité de fluorescence, qui nécessitent de

connaître les propriétés optiques à la longueur d'onde d'excitation et d'émission du fluorophore. Dans le cas de mesures en auto-fluorescence, puisque l'émission est continue sur un large spectre, l'utilisation d'un système multi ou hyperspectral présente un avantage. Pour obtenir une acquisition multispectrale sans allonger le temps d'acquisition de l'expérience, il serait toutefois nécessaire d'intégrer une caméra multispectrale au système SFDI.

Les objectifs de la thèse étaient de développer un système SFDI pour évaluer les propriétés optiques de régions cérébrales et d'évaluer leur potentiel à détecter des lésions cérébrales comme celles de la dysplasie corticale focale, causant l'épilepsie. La version du système SFDI sur table optique a permis d'étudier des échantillons *ex vivo* de prostate, confirmant qu'il est possible d'imager des échantillons biologiques. L'imagerie *in vivo* du cerveau comporte quelques défis additionnels : la présence de sang dans la cavité qui absorbe beaucoup la lumière, la présence de sources lumineuses parasites (ex. lampes chirurgicales) et le mouvement du cerveau suivant le battement cardiaque. Pour s'affranchir de l'effet du mouvement du cerveau, il serait important de réduire le temps d'acquisition du système pour limiter les mouvements des images tel que suggéré plus haut. Il faudrait aussi mesurer précisément la contribution des lampes chirurgicales et établir une calibration spectrale. Finalement, il serait important de valider les limites de fonctionnement du système ( $\mu_a$  et  $\mu'_s$  minimums et maximums).

## 8.5 Combinaison des deux systèmes d'imagerie

Les deux systèmes d'imagerie présentés dans cette thèse ont été développés et testés séparément, mais ont été conçus pour être utilisés sur le même microscope neurochirurgical. Pour les utiliser lors de la même expérience, l'adaptateur pour les polariseurs (annexe B) doit cependant être modifié pour accommoder les deux techniques. Les polariseurs croisés doivent être placés en sortie des oculaires gauche ( $0^\circ$ ) et droit ( $90^\circ$ ) dans le cas du SFDI, mais placés en sortie de la source de lumière blanche ( $0^\circ$ ) et dans la branche de détection ( $90^\circ$ ) pour l'imagerie de la réponse hémodynamique. Un système de déplacement des deux modes pourrait alors être envisagé.

Les résultats obtenus avec le système SFDI pour le microscope montrent qu'il serait toutefois préférable de construire un système indépendant pour le SFDI, afin de maximiser la transmission des composants optiques et s'assurer d'avoir un signal suffisamment élevé.



## 8.6 Autres contributions

Les travaux de cette thèse ont mené à la publication de deux autres articles où je suis co-auteur, 9 présentations orales et 5 posters, qui sont détaillés à l'annexe C. Pour l'article 1 présenté ici-bas, ma contribution s'est située au niveau du développement du support à filtres passe-bande compatible avec le microscope neurochirurgical. Ce support était une version adaptée du support à polariseurs (annexe B). Pour l'article 2, j'ai contribué au développement des expériences, à la prise de mesure et aux algorithmes de traitement de données.

1. J. Desroches, **A. Laurence**, M. Jermyn, M. Pinto, M.-A. Tremblay, K. Petrecca and F. Leblond, «Raman spectroscopy in microsurgery: impact of operating microscope illumination sources on data quality and tissue classification», *Analyst* (2016).
2. A. Goyette, J. Pichette, M.-A. Tremblay, **A. Laurence**, M. Jermyn, K. Mok, K. D. Paulsen, D. W. Roberts, K. Petrecca, B. C. Wilson, F. Leblond, «Sub-diffuse interstitial optical tomography to improve the safety of brain needle biopsies: a proof-of-concept study», *Optics Letters*. 40, 170-173 (2015)

Mes travaux sur le développement des fantômes optiques liquides et solides ont permis d'établir une banque de données utilisée par les autres membres du laboratoire, incluant les valeurs de référence de  $\mu_a$  et de  $\mu'_s$  pour plusieurs ingrédients, en plus de recettes de fantômes permettant d'obtenir des résultats répétables.

J'ai eu l'opportunité dans le cadre de cette thèse d'effectuer un stage de recherche chez la compagnie *Retispec*, basée à Toronto. J'y ai développé des algorithmes de calibration spectrale pour différents modèles de caméra multispectrales, ce qui démontre que ceux présentés dans l'article 1 sont généralisables et transférables.

## CHAPITRE 9 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Les technologies basées sur l'imagerie optique sont sujettes à être de plus en plus utilisées en neurochirurgie étant donné leur haute résolution spatiale, leur capacité à imager en temps réel sans perturber le travail du chirurgien et leur coût relativement faible. Le potentiel de l'imagerie optique pour l'étude de certaines pathologies comme le cancer et l'épilepsie, la détection des changements hémodynamiques, la cartographie des fonctions cérébrales et le guidage chirurgical ont été démontré dans une multitude d'études depuis les 20 dernières années. Toutefois, du travail d'ingénierie doit être fait afin d'améliorer la spécificité et la sensibilité des méthodes, uniformiser les systèmes d'imagerie entre les centres de recherche, standardiser les protocoles expérimentaux, et ainsi permettre une meilleure distribution de la technique à l'extérieur des laboratoires de recherche.

Le travail fait dans cette thèse s'inscrit dans ce développement technologique, en proposant des systèmes d'imagerie optique pour la neurochirurgie visant à mieux comprendre l'épilepsie et à guider sa localisation durant la chirurgie. Le travail démontre d'une part que l'imagerie multispectrale peut être utilisée pour détecter les changements hémodynamiques se produisant à la surface du cortex causés par les pointes épileptiques et d'autre part, que le SFDI permet de mesurer les coefficients d'absorption et de diffusion réduit de tissus avec une bonne précision sur des échantillons non-planaires et dans le régime de haute absorption. Les études réalisées dans cette thèse ont permis de cibler certains éléments indispensables : la sensibilité et la plage dynamique des caméras doivent être les plus élevées possible étant donné la faible intensité des signaux détectés et la présence de forte absorption (sang); les pertes de signal doivent être minimisées en choisissant notamment un système indépendant d'un microscope neurochirurgical; les réflexions spéculaires doivent être minimisées; et la zone de détection doit être choisie judicieusement pour obtenir une zone contrôle en même temps que la zone active. Ces éléments sont nécessaires pour poursuivre l'étude de la réponse hémodynamique associée aux pointes épileptiques, et ainsi viser à mieux comprendre le couplage neuro-vasculaire dans le cas de l'épilepsie, améliorer la précision des techniques d'imagerie fonctionnelles basées sur la réponse hémodynamique et améliorer la localisation des zones responsables des crises d'épilepsie.

Il est prévisible que l'évolution technologique des caméras hyperspectrales ayant eu lieu durant les dernières années améliorera directement les performances des systèmes d'imagerie. L'utilisation grandissante de systèmes dynamiques (en enregistrement continu) générera toutefois une énorme quantité de données. L'analyse en temps réel de ces données à des fins de guidage chirurgical passera par l'amélioration de l'efficacité des algorithmes de traitement de données. L'utilisation de l'intelligence artificielle sera probablement indispensable, afin d'établir des modèles en laboratoire sélectionnant l'information la plus significative et pouvant être utilisés rapidement en salle d'opération. En plus des nouvelles caméras *snapshot*, des caméras permettant l'imagerie dans le *Short-Wave Infrared* (SWIR) sont désormais disponibles (900 à 1700 nm), ouvrira la voie à de nouvelles applications chirurgicales. Puisque cette région spectrale offre l'avantage d'une grande profondeur de pénétration dans les tissus, ( $\mu_a$  et  $\mu'_s$  très faibles), l'imagerie hyperspectrale pourra être appliquée par exemple à la détection de lésions cérébrales en profondeur.

L'avenir des systèmes optiques à contraste endogène (sans injection d'agent de contraste) pour la neurochirurgie passera donc selon moi par un traitement en temps réel de grandes quantités de données, permise par des systèmes optiques sensibles et combinés à des algorithmes performants. Des systèmes à large bande spectrale permettront une analyse spectroscopique sensible à différents marqueurs métaboliques, combinant à la fois des mesures en surface et des mesures plus en profondeur, afin de détecter et segmenter plusieurs structures des tissus cérébraux simultanément. Je crois que ces développements technologiques permettront le déploiement de systèmes d'imagerie qui amélioreront le taux de succès des chirurgies et réduiront les risques pour les patients, en offrant des contrastes endogènes inégalés, en étant minimalement invasifs, sans contact direct avec le tissu et en perturbant minimalement le plan de travail des neurochirurgiens.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] Épilepsie Canada, “Qu’est-ce que l’épilepsie?,” *Epilepsy Canada French*. <https://www.epilepsyfr.ca/quest-ce-que-lpilepsie> (accessed May 05, 2022).
- [2] W. W. B. Warren W. Boling, *Diagnosis and Surgical Treatment of Epilepsy*. Place of publication not identified: MDPI - Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2019. Accessed: May 05, 2022. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/books/pdfview/book/1074>
- [3] I. J. Gerard, M. Kersten-Oertel, J. A. Hall, D. Sirhan, and D. L. Collins, “Brain Shift in Neuronavigation of Brain Tumors: An Updated Review of Intra-Operative Ultrasound Applications,” *Front. Oncol.*, vol. 10, 2021, [Online]. Available: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2020.618837>
- [4] M. F. Sacino, S. S. Huang, R. F. Keating, W. D. Gaillard, and C. O. Oluigbo, “An initial cost-effectiveness analysis of intraoperative magnetic resonance imaging (iMRI) in pediatric epilepsy surgery,” *Childs Nerv. Syst. ChNS Off. J. Int. Soc. Pediatr. Neurosurg.*, vol. 34, no. 3, pp. 495–502, Mar. 2018, doi: 10.1007/s00381-017-3658-9.
- [5] World Health Organisation, “Epilepsy.” <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy> (accessed May 05, 2022).
- [6] E. Tamilya, J. R. Madsen, P. E. Grant, P. L. Pearl, and C. Papadelis, “Current and Emerging Potential of Magnetoencephalography in the Detection and Localization of High-Frequency Oscillations in Epilepsy,” *Front. Neurol.*, vol. 8, Jan. 2017, doi: 10.3389/fneur.2017.00014.
- [7] M. Zijlmans, W. Zweiphenning, and N. van Klink, “Changing concepts in presurgical assessment for epilepsy surgery,” *Nat. Rev. Neurol.*, vol. 15, no. 10, pp. 594–606, Oct. 2019, doi: 10.1038/s41582-019-0224-y.
- [8] Caroline Boudoux, “Introduction to tissue optics,” in *Fundamentals of Biomedical Optics*, 1st ed., Pollux Editions, 2016.
- [9] G. Hong, A. L. Antaris, and H. Dai, “Near-infrared fluorophores for biomedical imaging,” *Nat. Biomed. Eng.*, vol. 1, no. 1, p. 0010, Jan. 2017, doi: 10.1038/s41551-016-0010.
- [10] Caroline Boudoux, “Scattering,” in *Fundamentals of Biomedical Optics*, 1st ed., Pollux Editions, 2016.

- [11] “Blue Sky and Rayleigh Scattering.” <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/atmos/blusky.html> (accessed May 02, 2022).
- [12] S. L. Jacques and B. W. Pogue, “Tutorial on diffuse light transport,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 13, p. 19, 2008.
- [13] V. Hwang *et al.*, “Designing angle-independent structural colors using Monte Carlo simulations of multiple scattering,” p. 10.
- [14] Q. Fang, “Mesh-based Monte Carlo method using fast ray-tracing in Plücker coordinates,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 1, no. 1, pp. 165–175, Aug. 2010, doi: 10.1364/BOE.1.000165.
- [15] B. Irving J. and S. Fantini, *Quantitative Biomedical Optics*. Cambridge University Press, 2016.
- [16] Q. Fang *et al.*, “Combined Optical and X-ray Tomosynthesis Breast Imaging,” *Radiology*, vol. 258, no. 1, pp. 89–97, Jan. 2011, doi: 10.1148/radiol.10082176.
- [17] F. F. Jöbsis, “Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters,” *Science*, vol. 198, no. 4323, pp. 1264–1267, Dec. 1977, doi: 10.1126/science.929199.
- [18] D. K. Nguyen *et al.*, “Non-invasive continuous EEG-fNIRS recording of temporal lobe seizures,” *Epilepsy Res.*, vol. 99, no. 1–2, pp. 112–126, Mar. 2012, doi: 10.1016/j.eplepsyres.2011.10.035.
- [19] M. J. Herrmann, J. B. M. Langer, C. Jacob, A.-C. Ehlis, and A. J. Fallgatter, “Reduced Prefrontal Oxygenation in Alzheimer Disease During Verbal Fluency Tasks,” *Am. J. Geriatr. Psychiatry*, vol. 16, no. 2, pp. 125–135, Feb. 2008, doi: 10.1097/JGP.0b013e3180cc1fbc.
- [20] “Diffuse optical imaging,” *Wikipedia*. Oct. 27, 2021. Accessed: May 02, 2022. [Online]. Available: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Diffuse\\_optical\\_imaging&oldid=1052205541](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Diffuse_optical_imaging&oldid=1052205541)
- [21] “VIS® SpectrumCT In Vivo Imaging System,” *PerkinElmer*. <https://www.perkinelmer.com/fr/lab-products-and-services/resources/in-vivo-image-gallery.html> (accessed May 02, 2022).
- [22] “Masimo - MightySat Rx.” <https://www.masimo.com/products/monitors/spot->

check/mightysatrx/ (accessed May 03, 2022).

[23] T. L. Welch and J. J. Pasternak, “Chapter 56 - Recent Advances in Neuroanesthesiology,” in *Essentials of Neuroanesthesia*, H. Prabhakar, Ed. Academic Press, 2017, pp. 897–905. doi: 10.1016/B978-0-12-805299-0.00056-7.

[24] Lucasbosch, *Comparison of spectral sampling in RGB, multispectral and hyperspectral imaging*. 2021. Accessed: May 10, 2022. [Online]. Available: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Spectral\\_sampling\\_RGB\\_multispectral\\_hyperspectral\\_imaging.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Spectral_sampling_RGB_multispectral_hyperspectral_imaging.svg)

[25] Lucasbosch, *Comparison of four multispectral camera setups*. 2021. Accessed: May 10, 2022. [Online]. Available: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Multispectral\\_imaging\\_approaches.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Multispectral_imaging_approaches.svg)

[26] G. Lu and B. Fei, “Medical hyperspectral imaging: a review,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 19, no. 1, p. 010901, Jan. 2014, doi: 10.1117/1.JBO.19.1.010901.

[27] F. Manni *et al.*, “Hyperspectral Imaging for Glioblastoma Surgery: Improving Tumor Identification Using a Deep Spectral-Spatial Approach,” *Sensors*, vol. 20, no. 23, Art. no. 23, Jan. 2020, doi: 10.3390/s20236955.

[28] H. Fabelo *et al.*, “Deep Learning-Based Framework for In Vivo Identification of Glioblastoma Tumor using Hyperspectral Images of Human Brain,” *Sensors*, vol. 19, no. 4, p. 920, Feb. 2019, doi: 10.3390/s19040920.

[29] P. A. Valdés *et al.*, “Combined fluorescence and reflectance spectroscopy for in vivo quantification of cancer biomarkers in low- and high-grade glioma surgery,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 16, no. 11, p. 116007, 2011, doi: 10.1117/1.3646916.

[30] A. Signoroni, M. Savardi, A. Baronio, and S. Benini, “Deep Learning Meets Hyperspectral Image Analysis: A Multidisciplinary Review,” *J. Imaging*, vol. 5, no. 5, p. 52, May 2019, doi: 10.3390/jimaging5050052.

[31] D. J. Cuccia, F. Bevilacqua, A. J. Durkin, F. R. Ayers, and B. J. Tromberg, “Quantitation and mapping of tissue optical properties using modulated imaging,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 14, no. 2, p. 024012, 2009, doi: 10.1117/1.3088140.

- [32] S. Gioux, A. Mazhar, and D. J. Cuccia, "Spatial frequency domain imaging in 2019: principles, applications, and perspectives," *J. Biomed. Opt.*, vol. 24, p. 19, 2019.
- [33] J. Vervandier and S. Gioux, "Single snapshot imaging of optical properties," p. 7, 2013.
- [34] S. Gioux, A. Mazhar, D. J. Cuccia, A. J. Durkin, B. J. Tromberg, and J. V. Frangioni, "Three-dimensional surface profile intensity correction for spatially modulated imaging," *J. Biomed. Opt.*, vol. 14, no. 3, p. 034045, 2009, doi: 10.1117/1.3156840.
- [35] M. van de Giessen, J. P. Angelo, and S. Gioux, "Real-time, profile-corrected single snapshot imaging of optical properties," *Biomed. Opt. Express*, vol. 6, no. 10, p. 4051, Oct. 2015, doi: 10.1364/BOE.6.004051.
- [36] T. A. Erickson, A. Mazhar, D. Cuccia, A. J. Durkin, and J. W. Tunnell, "Lookup-table method for imaging optical properties with structured illumination beyond the diffusion theory regime," *J. Biomed. Opt.*, vol. 15, p. 9, 2010.
- [37] S. C. Kanick, D. M. M. Iii, V. Krishnaswamy, J. T. Elliott, K. D. Paulsen, and B. W. Pogue, "Sub-diffusive scattering parameter maps recovered using wide-field high-frequency structured light imaging," p. 15, 2014.
- [38] M. Saidian *et al.*, "Characterisation of impaired wound healing in a preclinical model of induced diabetes using wide-field imaging and conventional immunohistochemistry assays," *Int. Wound J.*, vol. 16, no. 1, pp. 144–152, Feb. 2019, doi: 10.1111/iwj.13005.
- [39] T. E. Travis *et al.*, "A Multimodal Assessment of Melanin and Melanocyte Activity in Abnormally Pigmented Hypertrophic Scar:," *J. Burn Care Res.*, vol. 36, no. 1, pp. 77–86, 2015, doi: 10.1097/BCR.0000000000000154.
- [40] A. Mazhar, S. Saggese, A. C. Pollins, N. L. Cardwell, L. Nanney, and D. J. Cuccia, "Noncontact imaging of burn depth and extent in a porcine model using spatial frequency domain imaging," *J. Biomed. Opt.*, vol. 19, no. 8, p. 086019, Aug. 2014, doi: 10.1117/1.JBO.19.8.086019.
- [41] J. Q. Nguyen *et al.*, "Spatial frequency domain imaging of burn wounds in a preclinical model of graded burn severity," *J. Biomed. Opt.*, vol. 18, no. 6, p. 066010, Jun. 2013, doi: 10.1117/1.JBO.18.6.066010.
- [42] D. M. Burmeister *et al.*, "Utility of spatial frequency domain imaging (SFDI) and laser

speckle imaging (LSI) to non-invasively diagnose burn depth in a porcine model,” *Burns*, vol. 41, no. 6, pp. 1242–1252, Sep. 2015, doi: 10.1016/j.burns.2015.03.001.

[43] P. A. Valdes, J. P. Angelo, H. S. Choi, and S. Gioux, “qF-SSOP: real-time optical property corrected fluorescence imaging,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 8, no. 8, p. 3597, Aug. 2017, doi: 10.1364/BOE.8.003597.

[44] A. M. Laughney *et al.*, “System analysis of spatial frequency domain imaging for quantitative mapping of surgically resected breast tissues,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 18, no. 3, p. 036012, Mar. 2013, doi: 10.1117/1.JBO.18.3.036012.

[45] G. C. Teskey and C. H. T. Tran, “Neurovascular Coupling in Seizures,” *Neuroglia*, vol. 2, no. 1, pp. 36–47, Oct. 2021, doi: 10.3390/neuroglia2010005.

[46] G. R. J. Gordon, S. J. Mulligan, and B. A. MacVicar, “Astrocyte control of the cerebrovasculature,” *Glia*, vol. 55, no. 12, pp. 1214–1221, Sep. 2007, doi: 10.1002/glia.20543.

[47] “BOLD and Brain Activity,” *Questions and Answers in MRI*. <http://mriquestions.com/does-boldbrain-activity.html> (accessed May 02, 2022).

[48] F. Scholkmann *et al.*, “A review on continuous wave functional near-infrared spectroscopy and imaging instrumentation and methodology,” *NeuroImage*, vol. 85, pp. 6–27, 2014, doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.05.004.

[49] D. T. Delpy, M. Cope, P. van der Zee, S. Arridge, S. Wray, and J. Wyatt, “Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 33, no. 12, pp. 1433–1442, Dec. 1988, doi: 10.1088/0031-9155/33/12/008.

[50] M. Kohl *et al.*, “Physical model for the spectroscopic analysis of cortical intrinsic optical signals,” p. 17.

[51] C. Wiens, B. G. Goodyear, A. Goel, P. Federico, W. Hader, and M. Goyal, “Presurgical Language fMRI and Postsurgical Deficits: A Single Centre Experience,” *Can. J. Neurol. Sci. J. Can. Sci. Neurol.*, vol. 40, no. 6, pp. 819–823, Nov. 2013, doi: 10.1017/S031716710001595X.

[52] “Effect of confounding variables on hemodynamic response function estimation using averaging and deconvolution analysis: An event-related NIRS study - ScienceDirect.” <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105381191730366X?via%3Dihub> (accessed



May 18, 2022).

- [53] A. Machado *et al.*, “Deconvolution of hemodynamic responses along the cortical surface using personalized functional near infrared spectroscopy,” *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 5964, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-85386-0.
- [54] K. Peng, D. K. Nguyen, P. Vannasing, J. Tremblay, F. Lesage, and P. Pouliot, “Using patient-specific hemodynamic response function in epileptic spike analysis of human epilepsy: a study based on EEG–fNIRS,” *NeuroImage*, vol. 126, pp. 239–255, Feb. 2016, doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.11.045.
- [55] B. R. Buchbinder, “Chapter 4 - Functional magnetic resonance imaging,” in *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 135, J. C. Masdeu and R. G. González, Eds. Elsevier, 2016, pp. 61–92. doi: 10.1016/B978-0-444-53485-9.00004-0.
- [56] T. H. Schwartz, “Neurovascular Coupling and Epilepsy: Hemodynamic Markers for Localizing and Predicting Seizure Onset,” vol. 7, no. 4, pp. 91–94, 2007.
- [57] H. J. Noordmans *et al.*, “Imaging the seizure during surgery with a hyperspectral camera,” *Epilepsia*, vol. 54, no. 11, pp. 150–154, 2013, doi: 10.1111/epi.12386.
- [58] M. Zhao, M. Suh, H. Ma, C. Perry, A. Geneslaw, and T. H. Schwartz, “Focal Increases in Perfusion and Decreases in Hemoglobin Oxygenation Precede Seizure Onset in Spontaneous Human Epilepsy,” *Epilepsia*, vol. 48, no. 11, pp. 2059–2067, Nov. 2007, doi: 10.1111/j.1528-1167.2007.01229.x.
- [59] T. H. Schwartz and T. Bonhoeffer, “In vivo optical mapping of epileptic foci and surround inhibition in ferret cerebral cortex,” *Nat. Med.*, vol. 7, no. 9, pp. 1063–1067, Sep. 2001, doi: 10.1038/nm0901-1063.
- [60] K. S. Patel, M. Zhao, H. Ma, and T. H. Schwartz, “Imaging preictal hemodynamic changes in neocortical epilepsy,” *Neurosurg. Focus*, vol. 34, no. 4, p. E10, Apr. 2013, doi: 10.3171/2013.1.FOCUS12408.
- [61] E. Bou Assi, D. K. Nguyen, S. Rihana, and M. Sawan, “Towards accurate prediction of epileptic seizures: A review,” *Biomed. Signal Process. Control*, vol. 34, pp. 144–157, Apr. 2017, doi: 10.1016/j.bspc.2017.02.001.

- [62] J. Jacobs *et al.*, “Hemodynamic changes preceding the interictal EEG spike in patients with focal epilepsy investigated using simultaneous EEG-fMRI,” *NeuroImage*, vol. 45, no. 4, pp. 1220–1231, May 2009, doi: 10.1016/j.neuroimage.2009.01.014.
- [63] V. Osharina, A. Aarabi, M. Manoochehri, M. Mahmoudzadeh, and F. Wallois, “Hemodynamic Changes Associated with Interictal Spikes Induced by Acute Models of Focal Epilepsy in Rats: A Simultaneous Electrocorticography and Near-Infrared Spectroscopy Study,” *Brain Topogr.*, vol. 30, no. 3, pp. 390–407, May 2017, doi: 10.1007/s10548-016-0541-z.
- [64] “Negative BOLD responses to epileptic spikes”, doi: 10.1002/hbm.20193.
- [65] A. S. Geneslaw, M. Zhao, H. Ma, and T. H. Schwartz, “Tissue hypoxia correlates with intensity of interictal spikes,” *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 31, no. 6, pp. 1394–1402, Jun. 2011, doi: 10.1038/jcbfm.2011.16.
- [66] S. Watanabe, D. An, M. Safi-Harb, F. Dubeau, and J. Gotman, “Hemodynamic Response Function (HRF) in Epilepsy Patients with Hippocampal Sclerosis and Focal Cortical Dysplasia,” *Brain Topogr.*, vol. 27, no. 5, pp. 613–619, Sep. 2014, doi: 10.1007/s10548-014-0362-x.
- [67] L. Lemieux, H. Laufs, D. Carmichael, J. S. Paul, M. C. Walker, and J. S. Duncan, “Noncanonical spike-related BOLD responses in focal epilepsy,” *Hum. Brain Mapp.*, vol. 29, no. 3, pp. 329–345, Mar. 2008, doi: 10.1002/hbm.20389.
- [68] H. M. Khoo *et al.*, “The hemodynamic response to interictal epileptic discharges localizes the seizure-onset zone,” *Epilepsia*, vol. 58, no. 5, pp. 811–823, 2017, doi: 10.1111/epi.13717.
- [69] G. Chaitanya *et al.*, “Hemodynamic effects of dexmedetomidine during intra-operative electrocorticography for epilepsy surgery,” *J. Neurosci. Rural Pract.*, vol. 05, no. S 01, pp. S017–S021, Dec. 2014, doi: 10.4103/0976-3147.145195.
- [70] S. A. Sheth, M. Nemoto, M. Guiou, M. Walker, N. Pouratian, and A. W. Toga, “Linear and Nonlinear Relationships between Neuronal Activity, Oxygen Metabolism, and Hemodynamic Responses,” p. 9.
- [71] G. Pellegrino *et al.*, “Hemodynamic Response to Interictal Epileptiform Discharges Addressed by Personalized EEG-fNIRS Recordings,” *Front. Neurosci.*, vol. 0, 2016, doi: 10.3389/fnins.2016.00102.

- [72] E. M. C. Hillman, “Optical brain imaging in vivo: techniques and applications from animal to man,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 12, no. 5, p. 051402, 2007, doi: 10.1117/1.2789693.
- [73] M. Lavine, M. M. Haglund, and D. W. Hochman, “Dynamic linear model analysis of optical imaging data acquired from the human neocortex,” *J. Neurosci. Methods*, vol. 199, no. 2, pp. 346–362, 2011, doi: 10.1016/j.jneumeth.2011.05.017.
- [74] M. Zhao, M. Suh, H. Ma, C. Perry, A. Geneslaw, and T. H. Schwartz, “Focal increases in perfusion and decreases in hemoglobin oxygenation precede seizure onset in spontaneous human epilepsy,” *Epilepsia*, vol. 48, no. 11, pp. 2059–2067, 2007, doi: 10.1111/j.1528-1167.2007.01229.x.
- [75] M. M. Haglund and D. W. Hochman, “Optical imaging of epileptiform activity in human neocortex,” *Epilepsia*, vol. 45 Suppl 4, no. 8, pp. 43–47, 2004, doi: 10.1111/j.0013-9580.2004.04010.x\rEPI4010 [pii].
- [76] T. Meyer *et al.*, “Intraoperative optical imaging of functional brain areas for improved image-guided surgery,” *Biomed. Tech.*, vol. 58, no. 3, pp. 225–236, 2013, doi: <http://dx.doi.org/10.1515/bmt-2012-0072>.
- [77] J. W. Miller and S. Hakimian, “Surgical treatment of epilepsy,” *Contin. Minneap. Minn*, vol. 19, no. 3 Epilepsy, pp. 730–42, Jun. 2013, doi: 10.1212/01.CON.0000431398.69594.97.
- [78] E. Asano *et al.*, “Origin and propagation of epileptic spasms delineated on electrocorticography,” *Epilepsia*, vol. 46, no. 7, pp. 1086–97, Jul. 2005, doi: 10.1111/j.1528-1167.2005.05205.x.
- [79] M. Kohl *et al.*, “Physical model for the spectroscopic analysis of cortical intrinsic optical signals,” *Phys Med Biol*, vol. 3749, 2000.
- [80] S. Tak and J. C. Ye, “Statistical analysis of fNIRS data: a comprehensive review,” *NeuroImage*, vol. 85 Pt 1, pp. 72–91, Jan. 2014, doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.06.016.
- [81] A. Rayshubskiy *et al.*, “Direct, intraoperative observation of ~0.1Hz hemodynamic oscillations in awake human cortex: Implications for fMRI,” *NeuroImage*, vol. 87, pp. 323–331, 2014, doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.10.044.
- [82] M. L. Otten *et al.*, “Motor deficits correlate with resting state motor network connectivity

in patients with brain tumours,” *Brain*, vol. 135, no. 4, pp. 1017–1026, 2012, doi: 10.1093/brain/aws041.

[83] A. Sassaroli, M. Pierro, P. R. Bergethon, and S. Fantini, “Low-frequency spontaneous oscillations of cerebral hemodynamics investigated with near-infrared spectroscopy: A review,” *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, vol. 18, no. 4, pp. 1478–1492, 2012, doi: 10.1109/JSTQE.2012.2183581.

[84] J. T. Nguyen *et al.*, “A Novel Pilot Study Using Spatial Frequency Domain Imaging to Assess Oxygenation of Perforator Flaps During Reconstructive Breast Surgery,” *Ann. Plast. Surg.*, vol. 71, no. 3, pp. 308–315, Sep. 2013, doi: 10.1097/SAP.0b013e31828b02fb.

[85] C. Zhu, S. Chen, C. H.-K. Chui, B.-K. Tan, and Q. Liu, “Early detection and differentiation of venous and arterial occlusion in skin flaps using visible diffuse reflectance spectroscopy and autofluorescence spectroscopy,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 7, no. 2, pp. 570–80, Feb. 2016, doi: 10.1364/BOE.7.000570.

[86] D. Abookasis, C. C. Lay, M. S. Mathews, M. E. Linskey, R. D. Frostig, and B. J. Tromberg, “Imaging cortical absorption, scattering, and hemodynamic response during ischemic stroke using spatially modulated near-infrared illumination,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 14, no. 2, p. 024033, 2009, doi: 10.1117/1.3116709.

[87] M. W. Spitzer, M. B. Calford, J. C. Clarey, J. D. Pettigrew, and a W. Roe, “Spontaneous and stimulus-evoked intrinsic optical signals in primary auditory cortex of the cat,” *J. Neurophysiol.*, vol. 85, no. 3, pp. 1283–1298, 2001.

[88] A. K. Dunn, A. Devor, A. M. Dale, and D. A. Boas, “Spatial extent of oxygen metabolism and hemodynamic changes during functional activation of the rat somatosensory cortex,” vol. 27, pp. 279–290, 2005, doi: 10.1016/j.neuroimage.2005.04.024.

[89] E. Guevara, P. Pouliot, D. K. Nguyen, and F. Lesage, “Optical imaging of acute epileptic networks in mice,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 18, no. 7, p. 76021, Jul. 2013, doi: 10.1117/1.JBO.18.7.076021.

[90] H. Ma, M. Zhao, and T. H. Schwartz, “Dynamic neurovascular coupling and uncoupling during ictal onset, propagation, and termination revealed by simultaneous in vivo optical imaging of neural activity and local blood volume,” *Cereb. Cortex*, vol. 23, no. 4, pp. 885–899, 2013, doi:

10.1093/cercor/bhs079.

[91] M. B. Bouchard, B. R. Chen, S. a Burgess, and E. M. C. Hillman, “Ultra-fast multispectral optical imaging of cortical oxygenation, blood flow, and intracellular calcium dynamics.,” *Opt. Express*, vol. 17, no. 18, pp. 15670–15678, 2009, doi: 10.1364/OE.17.015670.

[92] B. R. White, A. Q. Bauer, A. Z. Snyder, B. L. Schlaggar, J. M. Lee, and J. P. Culver, “Imaging of functional connectivity in the mouse brain,” *PLoS ONE*, vol. 6, no. 1, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0016322.

[93] H. Obrig *et al.*, “Spontaneous Low Frequency Oscillations of Cerebral Hemodynamics and Metabolism in Human Adults,” *NeuroImage*, vol. 12, no. 6, pp. 623–639, 2000, doi: 10.1006/nimg.2000.0657.

[94] T. Näsi, J. Virtanen, T. Noponen, J. Toppila, T. Salmi, and R. J. Ilmoniemi, “Spontaneous hemodynamic oscillations during human sleep and sleep stage transitions characterized with near-infrared spectroscopy,” *PLoS ONE*, vol. 6, no. 10, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0025415.

[95] P. Pouliot *et al.*, “Hemodynamic changes during posterior epilepsies: an EEG-fNIRS study.,” *Epilepsy Res.*, vol. 108, no. 5, pp. 883–90, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.eplepsyres.2014.03.007.

[96] K. Peng, P. Pouliot, F. Lesage, and D. K. Nguyen, “Multichannel continuous electroencephalography-functional near-infrared spectroscopy recording of focal seizures and interictal epileptiform discharges in human epilepsy: a review,” *Neurophotonics*, vol. 3, no. 3, p. 031402, Jul. 2016, doi: 10.1117/1.NPh.3.3.031402.

[97] P. Ziemer, “Design and Implementation of a Multispectral Imaging System (PhD thesis),” 2013.

[98] A. Myronenko, “Medical Image Registration Toolbox.” <https://sites.google.com/site/myronenko/research/mirt> (accessed Mar. 11, 2016).

[99] S. A. Prahl, “Tabulated Molar Extinction Coefficient for Hemoglobin in Water.” <http://omlc.org/spectra/hemoglobin/summary.html> (accessed Mar. 11, 2016).

[100] J. D. Johansson, “Spectroscopic method for determination of the absorption coefficient in brain tissue,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 15, no. 5, p. 057005, 2010, doi: 10.1117/1.3495719.

- [101] K. L. LEENDERS *et al.*, “CEREBRAL BLOOD FLOW, BLOOD VOLUME AND OXYGEN UTILIZATION: NORMAL VALUES AND EFFECT OF AGE,” *Brain*, vol. 113, no. 1, pp. 27–47, Feb. 1990, doi: 10.1093/brain/113.1.27.
- [102] S. L. Jacques, “Optical properties of biological tissues: a review.,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, no. 11, pp. R37-61, 2013, doi: 10.1088/0031-9155/58/11/R37.
- [103] M. D. Fox and M. E. Raichle, “Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging,” *Nat Rev Neurosci*, vol. 8, no. 9, pp. 700–711, 2007, doi: nrn2201 [pii]n10.1038/nrn2201.
- [104] A. N. Yaroslavsky, P. C. Schulze, I. V. Yaroslavsky, R. Schober, F. Ulrich, and H.-J. Schwarzmaier, “Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 47, no. 12, pp. 2059–2073, Jun. 2002, doi: 10.1088/0031-9155/47/12/305.
- [105] H. Wang, C. Magnain, S. Sakadžić, B. Fischl, and D. A. Boas, “Characterizing the optical properties of human brain tissue with high numerical aperture optical coherence tomography,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 8, no. 12, p. 5617, Dec. 2017, doi: 10.1364/BOE.8.005617.
- [106] F. Bevilacqua, D. Piguet, P. Marquet, J. D. Gross, B. J. Tromberg, and C. Depeursinge, “In vivo local determination of tissue optical properties: applications to human brain,” *Appl. Opt.*, vol. 38, no. 22, pp. 4939–4950, Aug. 1999, doi: 10.1364/AO.38.004939.
- [107] J. Kabat and P. Król, “Focal cortical dysplasia – review,” p. 9.
- [108] M. Sibai, I. Veilleux, J. T. Elliott, F. Leblond, and B. C. Wilson, “Quantitative spatial frequency fluorescence imaging in the sub-diffusive domain for image-guided glioma resection,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 6, no. 12, p. 4923, Dec. 2015, doi: 10.1364/BOE.6.004923.
- [109] S. D. Konecky *et al.*, “Spatial frequency domain tomography of protoporphyrin IX fluorescence in preclinical glioma models,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 17, no. 5, p. 056008, 2012, doi: 10.1117/1.JBO.17.5.056008.
- [110] A. Kim, M. Khurana, Y. Moriyama, and B. C. Wilson, “Quantification of in vivo fluorescence decoupled from the effects of tissue optical properties using fiber-optic spectroscopy measurements,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 15, p. 12, 2010.

- [111] D. Malacara, Ed., *Optical shop testing*, 3rd ed. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience, 2007.
- [112] Beaulieu, Émile, “Wide-field spatial frequency domain imaging, diffuse reflectance and endogenous fluorescence spectroscopy system for quantitative tissue biomarkers in radical prostatectomy specimens,” Polytechnique Montréal, 2019.
- [113] E. Beaulieu *et al.*, “Wide-field optical spectroscopy system integrating reflectance and spatial frequency domain imaging to measure attenuation-corrected intrinsic tissue fluorescence in radical prostatectomy specimens,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 11, no. 4, p. 2052, Apr. 2020, doi: 10.1364/BOE.388482.
- [114] M. B. Applegate *et al.*, “OpenSFDI: an open-source guide for constructing a spatial frequency domain imaging system,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 25, p. 14, 2020.
- [115] A. Kienle and M. S. Patterson, “Determination of the optical properties of turbid media from a single Monte Carlo simulation,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 41, no. 10, pp. 2221–2227, Oct. 1996, doi: 10.1088/0031-9155/41/10/026.
- [116] J. Swartling, A. Pifferi, A. M. K. Enejder, and S. Andersson-Engels, “Accelerated Monte Carlo models to simulate fluorescence spectra from layered tissues,” *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 20, no. 4, p. 714, Apr. 2003, doi: 10.1364/JOSAA.20.000714.
- [117] ST Flock, SL Jacques, BC. Wilson, WM Star, and MJC van Gemert, “Optical Properties of Intralipid: A phantom medium for light propagation studies,” *Lasers in Surgery and Medicine*, 1992.
- [118] L. Angulo, “Development of phase-shifting profilometry for 3D brain cavity reconstruction and in vivo detection of intrinsic fluorescence through a neurosurgical microscope,” Polytechnique Montréal, Montréal, 2018.
- [119] J. R. Weber *et al.*, “Multispectral imaging of tissue absorption and scattering using spatial frequency domain imaging and a computed-tomography imaging spectrometer,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 16, no. 1, p. 011015, 2011, doi: 10.1117/1.3528628.
- [120] S. Tabassum, Y. Zhao, R. Istfan, J. Wu, D. J. Waxman, and D. Roblyer, “Feasibility of spatial frequency domain imaging (SFDI) for optically characterizing a preclinical oncology model,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 7, no. 10, p. 4154, Oct. 2016, doi: 10.1364/BOE.7.004154.

- [121] Desroches, Joannie, “Sonde de biopsie optique afin d’améliorer la sécurité et la précision de diagnostic des biopsies neurochirurgicales,” Polytechnique Montréal, Montréal, 2018.
- [122] J. Desroches *et al.*, “A new method using Raman spectroscopy for in vivo targeted brain cancer tissue biopsy,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–10, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-20233-3.
- [123] H. Ramakonar *et al.*, “Intraoperative detection of blood vessels with an imaging needle during neurosurgery in humans,” *Sci. Adv.*, vol. 4, no. 12, pp. 1–11, 2018, doi: 10.1126/sciadv.aav4992.
- [124] R. Dammers, J. W. Schouten, I. K. Haitzma, A. J. P. E. Vincent, J. M. Kros, and C. M. F. Dirven, “Towards improving the safety and diagnostic yield of stereotactic biopsy in a single centre,” *Acta Neurochir. (Wien)*, vol. 152, no. 11, pp. 1915–1921, 2010, doi: 10.1007/s00701-010-0752-0.
- [125] F. Picot *et al.*, “Interstitial imaging with multiple diffusive reflectance spectroscopy projections for in vivo blood vessels detection during brain needle biopsy procedures,” *Neurophotonics*, vol. 6, no. 02, p. 1, 2019, doi: 10.1117/1.nph.6.2.025003.
- [126] N. A. Markwardt *et al.*, “Remission spectrometry for blood vessel detection during stereotactic biopsy of brain tumors,” *J. Biophotonics*, vol. 10, no. 8, pp. 1080–1094, 2017, doi: 10.1002/jbio.201600193.
- [127] A. Chaturvedi, S. A. Shukair, M. Vijayvergia, P. Le Rolland, J. W. Gunn, and H. Subramanian, “Intraoperative blood vessel detection and quantification: a Monte Carlo study,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 23, no. 06, p. 1, 2018, doi: 10.1117/1.jbo.23.6.067002.
- [128] A. I. Chen, M. L. Balter, T. J. Maguire, and M. L. Yarmush, “3D Near Infrared and Ultrasound Imaging of Peripheral Blood Vessels for Real-Time Localization and Needle Guidance BT - Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention - MICCAI 2016,” 2016, pp. 388–396.
- [129] V. Virdyawan, M. Oldfield, and F. Rodriguez Y Baena, “Laser Doppler sensing for blood vessel detection with a biologically inspired steerable needle,” *Bioinspir. Biomim.*, vol. 13, no. 2, 2018, doi: 10.1088/1748-3190/aaa6f4.
- [130] N. Haj-Hosseini, J. C. O. Richter, P. Milos, M. Hallbeck, and K. Wårdell, “5-ALA fluorescence and laser Doppler flowmetry for guidance in a stereotactic brain tumor biopsy,”



*Biomed. Opt. Express*, vol. 9, no. 5, p. 2284, 2018, doi: 10.1364/boe.9.002284.

[131] P. Rejmstad, G. Åkesson, O. Åneman, and K. Wårdell, “A laser Doppler system for monitoring cerebral microcirculation: implementation and evaluation during neurosurgery,” *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 54, no. 1, pp. 123–131, 2016, doi: 10.1007/s11517-015-1332-5.

[132] C.-P. Liang *et al.*, “Coherence-gated Doppler: a fiber sensor for precise localization of blood flow,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 4, no. 5, p. 760, 2013, doi: 10.1364/boe.4.000760.

[133] J. Pichette *et al.*, “Intraoperative video-rate hemodynamic response assessment in human cortex using snapshot hyperspectral optical imaging,” *Neurophotonics*, vol. 3, no. 4, p. 045003, 2016, doi: 10.1117/1.NPh.3.4.045003.

[134] M. Jermyn *et al.*, “Highly Accurate Detection of Cancer In Situ with Intraoperative, Label-Free, Multimodal Optical Spectroscopy,” *Cancer Res.*, no. 19, pp. 1–10, 2017, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0668.

[135] J. S. Duncan, G. P. Winston, M. J. Koepp, and S. Ourselin, “Brain imaging in the assessment for epilepsy surgery,” *Lancet Neurol.*, vol. 15, no. 4, pp. 420–433, Apr. 2016, doi: 10.1016/S1474-4422(15)00383-X.

[136] R. B. Buxton, K. Uludağ, D. J. Dubowitz, and T. T. Liu, “Modeling the hemodynamic response to brain activation,” *NeuroImage*, vol. 23, pp. S220–S233, Jan. 2004, doi: 10.1016/j.neuroimage.2004.07.013.

[137] G. K. Aguirre, E. Zarahn, and M. D’Esposito, “The Variability of Human, BOLD Hemodynamic Responses,” *NeuroImage*, vol. 8, no. 4, pp. 360–369, Nov. 1998, doi: 10.1006/nimg.1998.0369.

[138] D. A. Handwerker, J. Gonzalez-Castillo, M. D’Esposito, and P. A. Bandettini, “The continuing challenge of understanding and modeling hemodynamic variation in fMRI,” *NeuroImage*, vol. 62, no. 2, pp. 1017–1023, Aug. 2012, doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.02.015.

[139] M. L. Schroeter, S. Zysset, F. Kruggel, and D. Y. von Cramon, “Age dependency of the hemodynamic response as measured by functional near-infrared spectroscopy,” *NeuroImage*, vol. 19, no. 3, pp. 555–564, Jul. 2003, doi: 10.1016/S1053-8119(03)00155-1.

[140] A. J. Taylor, J. H. Kim, and D. Ress, “Characterization of the hemodynamic response

function across the majority of human cerebral cortex,” *NeuroImage*, vol. 173, pp. 322–331, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.neuroimage.2018.02.061.

[141] M. Li, A. T. Newton, A. W. Anderson, Z. Ding, and J. C. Gore, “Characterization of the hemodynamic response function in white matter tracts for event-related fMRI,” *Nat. Commun.*, vol. 10, no. 1, p. 1140, Mar. 2019, doi: 10.1038/s41467-019-09076-2.

[142] S. Heinzl, F. B. Haeussinger, T. Hahn, A.-C. Ehlis, M. M. Plichta, and A. J. Fallgatter, “Variability of (functional) hemodynamics as measured with simultaneous fNIRS and fMRI during intertemporal choice,” *NeuroImage*, vol. 71, pp. 125–134, May 2013, doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.12.074.

[143] M. A. Yücel, C. M. Aasted, M. P. Petkov, D. Borsook, D. A. Boas, and L. Becerra, “Specificity of Hemodynamic Brain Responses to Painful Stimuli: A functional near-infrared spectroscopy study,” *Sci. Rep.*, vol. 5, no. 1, Art. no. 1, Mar. 2015, doi: 10.1038/srep09469.

[144] S. Tak and J. C. Ye, “Statistical analysis of fNIRS data: A comprehensive review,” *NeuroImage*, vol. 85, pp. 72–91, Jan. 2014, doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.06.016.

[145] J. Pichette *et al.*, “Intraoperative video-rate hemodynamic response assessment in human cortex using snapshot hyperspectral optical imaging,” *NeuroPhotonics*, vol. 3, no. 04, p. 1, Oct. 2016, doi: 10.1117/1.NPh.3.4.045003.

[146] A. Myronenko and Xubo Song, “Intensity-Based Image Registration by Minimizing Residual Complexity,” *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 29, no. 11, pp. 1882–1891, Nov. 2010, doi: 10.1109/TMI.2010.2053043.

[147] M. Kohl *et al.*, “Physical model for the spectroscopic analysis of cortical intrinsic optical signals,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 45, no. 12, pp. 3749–3764, Dec. 2000, doi: 10.1088/0031-9155/45/12/317.

[148] A. Laurence, A. Bouthillier, M. Robert, D. K. Nguyen, and F. Leblond, “Multispectral diffuse reflectance can discriminate blood vessels and bleeding during neurosurgery based on low-frequency hemodynamics,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 25, no. 11, Nov. 2020, doi: 10.1117/1.JBO.25.11.116003.

[149] “Optical Absorption of Hemoglobin.” <https://omlc.org/spectra/hemoglobin/> (accessed Jan. 28, 2022).

- [150] S. L. Jacques, “Optical properties of biological tissues: a review,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, no. 11, pp. R37-61, Jun. 2013, doi: 10.1088/0031-9155/58/11/R37.
- [151] A. Douplik, G. Saiko, I. Schelkanova, and V. V. Tuchin, “3 - The response of tissue to laser light,” in *Lasers for Medical Applications*, H. Jelínková, Ed. Woodhead Publishing, 2013, pp. 47–109. doi: 10.1533/9780857097545.1.47.
- [152] H. M. Khoo, N. von Ellenrieder, N. Zazubovits, D. He, F. Dubeau, and J. Gotman, “The spike onset zone: The region where epileptic spikes start and from where they propagate,” *Neurology*, vol. 91, no. 7, pp. e666–e674, Aug. 2018, doi: 10.1212/WNL.0000000000005998.
- [153] Y. Song *et al.*, “Intraoperative optical mapping of epileptogenic cortices during non-ictal periods in pediatric patients,” *NeuroImage Clin.*, vol. 11, pp. 423–434, 2016, doi: 10.1016/j.nicl.2016.02.015.
- [154] C. Caredda, L. Mahieu-William, R. Sablong, M. Sdika, J. Guyotat, and B. Montcel, “Optimal Spectral Combination of a Hyperspectral Camera for Intraoperative Hemodynamic and Metabolic Brain Mapping,” p. 23, 2020.
- [155] F. Ayers, A. Grant, D. Kuo, D. J. Cuccia, and A. J. Durkin, “Fabrication and characterization of silicone-based tissue phantoms with tunable optical properties in the visible and near infrared domain,” p. 9.
- [156] J. Desroches *et al.*, “Raman spectroscopy in microsurgery: impact of operating microscope illumination sources on data quality and tissue classification,” *The Analyst*, vol. 142, no. 8, pp. 1185–1191, 2017, doi: 10.1039/C6AN02061E.

## ANNEXE A – PROTOCOLE DE FABRICATION DE FANTÔMES SOLIDES

### Ingrédients et matériel

- Nigrosine en poudre(Sigma-Aldrich)
- Éthanol 70% (EtOH) (Fisher Scientific)
- TiO<sub>2</sub> en poudre (Sigma-Aldrich)
- PDMS : Pré-polymère et agent durcissant (ratio 10 :1) (Sigma-Aldrich)
- Tube en plastique de 50mL (Fisher Scientific)
- Pipettes pasteur
- Moule

### Coefficient d'absorption de la nigrosine

Mesurer le coefficient d'absorption de la nigrosine au spectrophotomètre en diluant une petite quantité de nigrosine dans l'éthanol. Par exemple, 2mg de nigrosine dans 15 mL d'éthanol. La mesure au spectrophotomètre indique l'absorbance de la solution. Selon la loi de Beer-Lambert, le coefficient d'absorption est relié à l'absorbance :

$$A = -\log_{10} \left( \frac{I}{I_0} \right)$$

Où  $I$  et  $I_0$  sont les intensités au spectrophotomètre mesurées avec l'échantillon et avec la référence respectivement. Le ratio d'intensité est aussi égal à :

$$\frac{I}{I_0} = e^{-\mu_a x}$$

et  $x$  est le parcours optique. Dans ce cas-ci, il correspond au 1 cm d'épaisseur de la cuvette de mesure. À titre d'exemple, voici les coefficients trouvés lors de notre mesure :

Longueur d'onde (nm)	$\mu_a$ (mm <sup>-1</sup> )
480	3.1 C+1.7e-05
550	3.7 C+0.0013
630	3.3 C+0.0014

Où  $C$  est la concentration de la solution en mg/mL.

## **Coefficient de diffusion du TiO<sub>2</sub>**

Estimer la valeur du coefficient de diffusion à partir de valeurs de la littérature. Basé sur la littérature [155] et les tests effectués, nous avons mélangé 29.2 mg de TiO<sub>2</sub> dans 48 g de PDMS (43,45 g de prépolymère et 4.55g de curing agent) pour obtenir  $\mu'_s=1 \text{ mm}^{-1}$ .

### **Étapes de fabrication**

Le protocole de fabrication développé vise à optimiser la reproductibilité de la recette, tout en minimisant les pertes de produit. Afin d'éviter de transvider des produits et ainsi en perdre une certaine quantité, toutes les mesures des ingrédients s'effectuent directement dans un tube en plastique de 50 mL. Le transfert du produit dans le moule se fait à la toute fin seulement.

### **Partie 1 : Préparation de la solution**

1. Placer l'éprouvette de 50 mL sur un support en styromousse et la placer dans la balance (précision 0.1 mg). Faire la mise à zéro. Déposer tranquillement dans l'éprouvette la masse de TiO<sub>2</sub> voulue.
2. En utilisant une pipette pasteur, transférer dans l'éprouvette la masse d'agent durcissant.
3. Mélanger au vortex et placer l'éprouvette dans un bécher rempli d'eau. Placer le bécher dans un bain à ultrasons (non-chauffé) pour une durée de 15-20 minutes.
4. Mélanger au vortex pour s'assurer qu'il n'y a pas de dépôt au fond de l'éprouvette et la placer une seconde fois dans le bain à ultrasons pour une durée de 10 minutes.
5. Placer l'éprouvette sur la balance et verser le pré-polymère avec une pipette pasteur dont le bout a été coupé.
6. Avec une micropipette, mesurer et verser la nigrosine dans l'éprouvette. Mélanger avec une tige en métal jusqu'à atteindre l'homogénéité de la substance. (10 minutes)

### **Partie 2 : Moulage et durcissement**

1. Verser la substance préparée dans un moule (ex. imprimé à l'aide de l'imprimante 3D ou dans une boîte de pétri). S'assurer que le moule est propre. Pour un moule d'impression 3D, il est recommandé d'y appliquer au préalable une couche de vernis en vaporisateur afin de boucher les irrégularités de surface.
2. Placer le moule dans la chambre sous vide, faire le vide et laisser le moule pendant 20 minutes pour retirer les bulles d'air. Après 20 minutes, enlever le vide de la chambre, même s'il reste

des bulles, car le retour d'air peu les éclater. Répéter au besoin. S'il y a une bulle récalcitrante, l'enlever avec le jet d'azote.

3. Lorsqu'il n'y a plus de bulles, déposer le fantôme dans le four à PDMS et laisser durcir pendant au moins 2 heures.
4. Démouler le fantôme.

## ANNEXE B – SUPPORT À POLARISEUR POUR UN MICROSCOPE NEUROCHIRURGICAL

Un microscope neurochirurgical possède une pièce en forme d’anneau placée au bout de la tête du microscope pour y attacher un drap stérile (figure B.1). Ce drap contient un anneau de plastique (dur ou de caoutchouc) permettant de s’insérer facilement sur le microscope.



Figure B.1 Drap stérile placé autour du microscope neurochirurgical. Droite : anneau de plastique permettant de fixer le drap.

Dans le cadre du projet, il était nécessaire de placer un polariseur à la sortie de la source du microscope, soit entre la tête du microscope et l’anneau de plastique. Un support a été développé afin de pouvoir placer un polariseur à la sortie de la source blanche du microscope neurochirurgical (côté distal), tout en préservant la possibilité d’y attacher un drap stérile. La pièce a été dessinée à l’aide d’un logiciel de modélisation 3D (CATIA), puis imprimée à l’aide d’une imprimante 3D (Makerbot). Afin de faire tenir le support au microscope, l’attache d’un drap servant à recouvrir le microscope a été découpée et réutilisée.

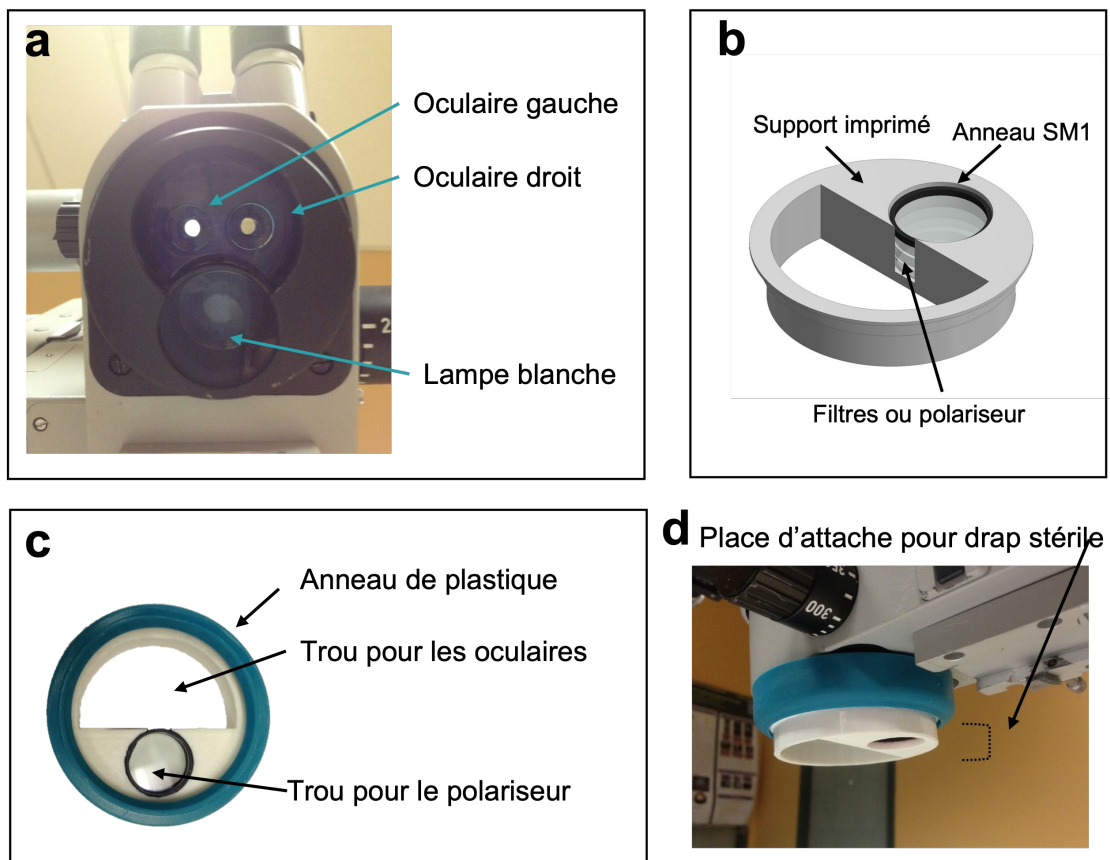


Figure B.2 Structure du support à polariseur pour le microscope OPMI Pentero. a) Photographie du dessous du microscope où l'on peut voir la sortie de la source de lumière et les entrées des oculaires, b) dessin du support modélisé, c) photographie (vue de haut) du support fabriqué, d) support connecté au microscope.

Le plastique choisi était du ABS blanc, pour éviter l'absorption de lumière et ainsi risquer de le faire fondre durant l'utilisation. La pièce imprimée 3D a été collée au support en plastique du drap à l'aide de colle chaude. Le polariseur a été placé dans le trou prévu à cet effet, puis un anneau de serra SM1 (ThorLabs, États-Unis) a été placé sur le dessus et solidifié à l'aide de quelques gouttes de colle chaude.

La pièce a été conçue afin d'y attacher un drap stérile en dessous. Les dimensions de la pièce imprimée ont donc tenu compte de la différence de taille des modèles de microscope. Pour le modèle OPMI Pentero utilisé au CHUM, le drap de marque Ecolab a été utilisé. (*Microshield*



*microscope drape for zeiss MD*). Pour le modèle NC4 utilisé à l'hôpital Notre-Dame, le drap Vision guard de Carl Zeiss a été utilisé.

Le support a également été légèrement modifié pour contenir des filtres passe-haut (3 filtres de 3 mm d'épaisseur) pour un autre projet de recherche du laboratoire. Il a permis de mesurer des spectres Raman du cerveau lors de la neurochirurgie, tout en conservant la lumière du microscope allumée [156], ce qui n'était pas possible auparavant au laboratoire.

## ANNEXE C – LISTE DES CONTRIBUTIONS SCIENTIFIQUES

### Articles

1. **A. Laurence**, D.H. Toffa, K. Peng, M. Robert, A. Bouthillier, DK. Nguyen, F. Leblond, «Hemodynamic response of interictal epileptiform discharges detected with multispectral intraoperative imaging», *Biomedical Optics Express* (Submitted 2022).
2. **A. Laurence**, A. Bouthillier, M. Robert, DK. Nguyen, F. Leblond, «Multispectral diffuse reflectance can discriminate blood vessels and bleeding during neurosurgery based on low-frequency hemodynamics», *J Biomed Opt.* (2020).
3. E. Beaulieu, **A. Laurence**, M. Birlea, G. Sheehy, L. Angulo-Rodriguez, M. Latour, R. Albadine, F. Saad, D. Trudel, F. Leblond, «Development of a wide-field optical spectroscopy tissue characterisation system integrating reflectance spectroscopy and spatial frequency domain imaging to quantify intrinsic fluorescence in radical prostatectomy specimens», *J. Biomed. Opt.* (2020).
4. J. Pichette & **A. Laurence**, L. Angulo, F. Lesage, A. Bouthillier, D. K. Nguyen, F. Leblond, «Intraoperative video-rate hemodynamic response assessment in human cortex using snapshot hyperspectral optical imaging», *Neurophotonics* (2016).
5. J. Desroches, **A. Laurence**, M. Jermyn, M. Pinto, M.-A. Tremblay, K. Petrecca and F. Leblond, «Raman spectroscopy in microsurgery: impact of operating microscope illumination sources on data quality and tissue classification», *Analyst* (2016).
6. A. Goyette, J. Pichette, M.-A. Tremblay, **A. Laurence**, M. Jermyn, K. Mok, K. D. Paulsen, D. W. Roberts, K. Petrecca, B. C. Wilson, F. Leblond, «Sub-diffuse interstitial optical tomography to improve the safety of brain needle biopsies: a proof-of-concept study», *Optics Letters*. 40, 170-173 (2015).

### Présentations orales

1. **A. Laurence**, K. Peng, D. Toffa, M. Robert, F. Lesage, A. Bouthillier, D.K. Nguyen, F. Leblond, «Localization of epileptic activity based on hemodynamics using an intraoperative hyperspectral imaging system», *OSA Biophotonics Conference*, online (2020).
2. **A. Laurence**, A. Bouthillier, D.K. Nguyen, F. Leblond, «Intraoperative hyperspectral imaging of brain hemodynamics during epileptiform activity», *Congrès Annuel de l'Association de neurochirurgie du Québec (ANCQ)*, Montréal (2019). (**Prix de la meilleure présentation**)
3. E. Beaulieu, **A. Laurence**, M. Latour, R. Albadine, D. Trudel, F. Leblond, «Post-prostatectomy spatial frequency domain imaging for positive margins identification using endogenous tissue fluorescence, absorption and scattering», (Conference Presentation)", *Proc. SPIE 10871, Multimodal Biomedical Imaging XIV, 108710B* (2019).
4. **A. Laurence**, F. Daoust, «Développement d'instruments médicaux utilisant la spectroscopie optique afin de guider les interventions chirurgicales», *Congrès de l'association québécoise des physiciens médicaux cliniques (AQPMC)* (2018).

5. F. Leblond, F. Daoust, **A. Laurence**, É. Beaulieu, F. Dallaire, É. Lemoine, S. David, D. Trudel, J. Bismuth, M.-M. Baillargeon, I. Dicaire, P. Orsini, M. Massabki, M.-C. Guiot & K. Petrecca, «Multimodal Wide-Field Optical Spectroscopy Imaging platform for Intraoperative Tissue Characterization», ICOBSI - International Conference On Bio Sensing And Imaging, Florence, Italie (2018).
6. **A. Laurence**, L. Angulo-Rodríguez, F. Lesage, A. Bouthillier, D. K. Nguyen, F. Leblond, «Intraoperative hyperspectral imaging of brain hemodynamics during epileptiform activity», Clinical and Translational Neurophotonics 2018, part of Photonics West 2018, v. 10480 (Proceedings of SPIE) (2018).
7. **A. Laurence**, J. Pichette, L.M. Angulo-Rodríguez, C. St-Pierre, F. Lesage, A. Bouthillier, D.K. Nguyen, F. Leblond, «Intraoperative brain hemodynamic response assessment with real-time hyperspectral optical imaging». Clinical and Translational Neurophotonics, part of Photonics West 2016, v. 9690 (Proceedings of SPIE) (2016).
8. M. Sibai, I. Veilleux, M. Jermyn, G. Sheehy, **A. Laurence**, F. Leblond, B. C. Wilson, «Quantitative fluorescence imaging enabled by spatial frequency domain imaging in the sub-diffusive regime for image-guided glioma resection», Photonics West 2015, San Francisco, Californie (2015).
9. A. Goyette, **A. Laurence**, K. St-Arnaud, W-J. Madore, M. Strupler, A. Beckley, C. Boudoux, B. Wilson, F. Leblond, «Integrated optical spectroscopy system to guide brain needle biopsies», Photonics West 2014, San Francisco, Californie (2014).

### Présentation par affiche

1. **A. Laurence**, E. Beaulieu, D. K. Nguyen, A. Bouthillier, R.W. Dudley, D. Trudel, F. Leblond, «Multimodal imaging platform for surgical guidance during epilepsy surgery», Proc. SPIE, European Conferences on Biomedical optics (2019).
2. **A. Laurence**, L. Angulo-Rodríguez, A. Bouthillier, D.K. Nguyen, F. Leblond, «Intraoperative hyperspectral imaging of brain hemodynamics during epileptiform activity», Journée scientifique de l'Institut du cancer de Montréal (2019).
3. **A. Laurence**, L. Angulo-Rodríguez, A. Bouthillier, D. K. Nguyen, F. Leblond, «Intraoperative hyperspectral imaging of brain hemodynamics during epileptiform activity», affiche au Congrès de la Ligue canadienne contre l'épilepsie (CLAE), St-John's, Terre-Neuve et Labrador (2018).
4. **A. Laurence**, L. Angulo-Rodríguez, A. Bouthillier, D. K. Nguyen, F. Leblond, «Intraoperative hyperspectral imaging of brain hemodynamics during epileptiform activity», Journée de l'Innovation de l'OSA-SPIE, Polytechnique Montréal (2018).
5. **A. Laurence**, J. Pichette, L. Angulo-Rodríguez, C. St-Pierre, F. Lesage, A. Bouthillier, D. K. Nguyen, F. Leblond, « Intraoperative brain hemodynamic response assessment with real-time hyperspectral optical imaging», 1er Forum Franco-Québécois d'innovation en santé (2016).