



Proposition de stage/thèse

Cartographie de la structure 3D de la cornée humaine par microscopie SHG.

Le développement de la **microscopie optique non-linéaire** a constitué ces dernières années une avancée importante pour l'imagerie tridimensionnelle (3D) des tissus biologiques. En particulier, il a été démontré que le collagène présente un signal de génération de second harmonique (SHG) spécifique de sa structure fibrillaire [1]. Or le collagène est un élément majeur de l'architecture des organes chez les mammifères : il se présente sous forme de triples hélices qui s'assemblent spontanément pour former des fibrilles (diamètre 10-300 nm), qui elles-mêmes forment des structures de taille variable entre 1µm et 1mm, spécifiques de chaque type de tissu. C'est la taille et la distribution 3D des fibrilles de collagène qui détermine les propriétés biophysiques et mécaniques des tissus : l'opacité et la souplesse de la peau ou la transparence et la rigidité de la cornée. La caractérisation *in situ* de l'organisation 3D du collagène est ainsi un enjeu biomédical majeur, notamment pour caractériser la structuration très spécifique d'organes tels que la cornée, en comprendre les dysfonctionnements pathologiques et développer de nouveaux outils de diagnostic.

Dans ce contexte, nous avons mis en place des expériences d'imagerie SHG et caractérisé de manière quantitative la structure lamellaire de cornées humaines *ex vivo* et de cornées de rats *in vivo* [2,3]. Cependant, nous n'avons visualisé que des zones de taille restreinte lié au champ de vue accessible en microscopie (inférieur au mm²), alors qu'il est nécessaire d'imager l'ensemble d'une cornée pour identifier les différences de structure entre le centre et la périphérie, ou entre les faces antérieures et postérieures. **L'objectif de ce stage** est donc de réaliser une **cartographie détaillée de la structure multi-échelle de la cornée humaine**, en étroite collaboration avec la Banque Française des Yeux et l'Hôpital des 15-20 (Paris). Ce travail comportera 3 étapes : (i) la mise en place d'une platine motorisée permettant l'acquisition de mosaïques d'images pour obtenir un champ de vue total de l'ordre du cm² ; (ii) l'imagerie de l'intégrité de la cornée, via l'acquisition des signaux SHG en épi-détection et de signaux SHG résolus en polarisation, permettant une mesure plus précise de la direction et de l'organisation sub-µm des fibrilles de collagène ; (iii) la mise en place de méthodes d'analyse d'image permettant l'extraction automatisée de paramètres structuraux d'intérêt.

Ce stage pourra se prolonger par une thèse sur la mesure de ces paramètres structuraux en fonction de la pression intra-oculaire, sur des cornées contrôles et sur des cornées présentant des dystrophies (kératocône) affectant leurs propriétés mécaniques.

Publications récentes sur ce sujet (voir aussi <http://www.lob.polytechnique.fr/>) :

- [1] Bancelin et al, *Determination of collagen fibril size via absolute measurements of SHG signals*, Nat. Commun. 5, art. 4920 (2014)
- [2] Latour et al, *In vivo imaging of the cornea by polarization-resolved SHG microscopy*, Biomed. Opt. Express 3 (2012)
- [3] Grieve et al, *Stromal striae: a new insight into corneal physiology and mechanics*, Sci. Rep. *in press* (2017).

Responsable: **SCHANNE-KLEIN Marie-Claire**, DR CNRS
Tel: +33 1 69 33 50 60
marie-claire.schanne-klein@polytechnique.edu

Co-encadrement: **LATOUR Gaël**, MdC Univ. Paris-Sud
gael.latour@u-psud.fr

