

Spécialité de Master « Optique, Matière, Paris »

Proposition de stage / Internship project

See next page for **English** version

Date de la proposition : 29/09/2017

Responsable du stage / internship supervisor:

Nom / name: SCHANNE-KLEIN Prénom/ first name : Marie-Claire Tel 01 69 33 50 60
Co-supervision : LATOUR Gaël (IMNC- Univ. Paris-Sud / CNRS)
Courriel / mail: marie-claire.schanne-klein@polytechnique.edu
gael.latour@u-psud.fr

Nom du Laboratoire : Laboratoire d'Optique et Biosciences (LOB)

Code d'identification : UMR7645 Organisme : CNRS / Ecole Polytechnique
Site Internet / web site: <http://www.lob.polytechnique.fr/>
Adresse / address: Campus Polytechnique, 91 128 Palaiseau cedex
Lieu du stage / internship place: LOB, Ecole Polytechnique

Titre du stage : Cartographie de la structure 3D de la cornée humaine par microscopie SHG

Résumé : 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 1 µm et 1 mm, 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/>) :

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

Ce stage pourra-t-il se prolonger en thèse ? Possibility of a PhD ? : OUI

Si oui, financement de thèse envisagé/ financial support for the PhD: Ecole Doctorale Interfaces, IDEX

Lasers, Optique, Matière

X

Lumière, Matière, Interactions

X

Proposition de stage / Internship project

See previous page for **French** version

Date de la proposition : 29/09/2017

Responsable du stage / internship supervisor:

Nom / name:	SCHANNE-KLEIN	Prénom/ first name :	Marie-Claire	Tel 01 69 33 50 60
Co-supervision :	LATOURE	Gaël	(IMNC- Univ. Paris-Sud / CNRS)	
Courriel / mail:	marie-claire.schanne-klein@polytechnique.edu			
	gael.latour@u-psud.fr			

Laboratory : Laboratoire d'Optique et Biosciences (LOB)

Code d'identification :	UMR7645	Organisme :	CNRS / Ecole Polytechnique
Site Internet / web site:	http://www.lob.polytechnique.fr/		
Adresse / address:	Campus Polytechnique, 91 128 Palaiseau cedex		
Lieu du stage / internship place:	LOB, Ecole Polytechnique		

Research project: Mapping of Human corneal 3D structure using Second Harmonic microscopy

Development of **nonlinear optical microscopy** has strongly improved three-dimensional (3D) imaging of biological tissues. Notably, Second Harmonic Generation (SHG) signals enable the visualization of fibrillar collagen with unequalled contrast and without any labeling, which is not possible using conventional techniques [1]. Collagen is the main component of connective tissues in mammals: it is synthesized as triple helices that spontaneously self-assemble to form fibrils (10-300 nm diameter) that further organize and form various structures with sizes 1 μm to 1 mm, which are specific for every type of tissue. The size and 3D distribution of collagen fibrils determine the biophysical and biomechanical response of tissues: opacity and compliance of skin, transparency and rigidity of cornea, etc... *In situ* characterization of collagen 3D distribution is therefore a major biomedical challenge, specifically to understand the very specific architecture of organs such as cornea, to get insight into pathological dysfunction and to develop new diagnosis tools.

In this context, we have implemented SHG microscopy experiments and characterized in a quantitative way the lamellar structure of *ex vivo* Human corneas and *in vivo* Rat corneas [2, 3]. However, we have only visualized small regions of interest because of the limited field of view of optical microscopy (less than 1 mm²), while full-size imaging of cornea is necessary to identify structural changes from center to periphery, and in the anterior versus posterior regions. This internship therefore **aims to carry out a detailed mapping of the full 3D structure of cornea**, in close collaboration with the *Banque Française des Yeux* and *Hôpital des 15-20* (Paris). The work will comprise 3 steps: (i) the implementation of a motorized stage to acquire automatically tiles mapping the full cornea ($\approx 1 \text{ cm}^2 \times 0.5 \text{ mm}$) at μm resolution; (ii) multiphoton imaging of the full volume of Human corneas, using epi- and trans-detection of SHG signals and acquisition of polarization-resolved SHG images, which provide complementary information about the direction and organization of fibrils at sub- μm scale; (iii) the development of automated image processing tools to calculate relevant parameters for quantitative assessment of the cornea structure.

This internship may be continued by a PhD about similar measurements of structural parameters as a function of the intra-ocular pressure, in healthy corneas and dystrophic corneas (keratoconic corneas) with disrupted mechanical properties.

Recent related publications (see also <http://www.lob.polytechnique.fr/>) :

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

Ce stage pourra-t-il se prolonger en thèse ? Possibility of a PhD ? : YES**Si oui, financement de thèse envisagé/ financial support for the PhD: Ecole Doctorale Interfaces, IDEX**

Lasers, Optique, Matière

X

Lumière, Matière, Interactions

X