



HAL
open science

Greffe de cornée automatisée assistée par laser femtoseconde optimisé en longueur d'onde

Florent Deloison

► **To cite this version:**

Florent Deloison. Greffe de cornée automatisée assistée par laser femtoseconde optimisé en longueur d'onde. Optique [physics.optics]. Ecole Polytechnique X, 2010. Français. NNT : 2501924230J . pastel-00577221

HAL Id: pastel-00577221

<https://pastel.hal.science/pastel-00577221>

Submitted on 16 Mar 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse
présentée pour obtenir le titre de
Docteur *es Science* de l'École Polytechnique
Spécialité :Physique

par
Florent DELOISON

**Greffe de cornée automatisée assistée
par laser femtoseconde optimisé en
longueur d'onde**

Soutenue le 15 Octobre 2010 devant le jury composé de

Jean-Louis Bourges	rapporteur
Frederic Druon	
Benoit Forget	rapporteur
François Hache	président
Jean-Marc Legeais	
Éric Mottay	
Karsten Plamann	directeur de thèse
Marie-Claire Schanne-Klein	

Préparée au
Laboratoire d'Optique Appliquée UMR 7605

REMERCIEMENTS

Quel soulagement d'en arriver aux remerciements qui évoquent les dernières lignes de rédaction clôturant cette thèse ! Quelle déchirure aussi, puisque cela signifie que la fin est proche, qu'il va falloir quitter le laboratoire et toutes les amitiés qui ont pu se lier, puisque cela signifie également la fin des études avec l'obtention de ce doctorat que je regardai déjà enfant comme un rêve quasi inaccessible et que mes professeur me dérobaient par la dure réalité des devoirs maison, enfin puisque cela suppose de regarder en arrière le travail accompli, toutes les personnes croisées, celles qui ont particulièrement compté, celles de l'ombre qu'il ne faut pas oublier et sans qui tout cela n'aurait pas été possible, celles qui ont participé activement et celles qui par un regard, par un mot ou par un sourire me redonnaient l'optimisme qui défini selon moi le bonheur !

Avec cette thèse s'achève donc trois années et demie de travail au sein du Laboratoire d'Optique Appliquée et en particulier au sein du groupe OPS. Commencé en avril 2007 par un stage de master 2 et poursuivi par trois années de doctorat sur de passionnantes thématiques liées à la biophotonique, cette période m'aura permis de rencontrer des personnes formidables et de vivre en partie la transformation du groupe de Karsten Plamann dont le changement de nom, passant de Optique et Physique du Solide à Optique Photonique Santé illustre bien le désir d'orienter ses recherches vers des applications médicales, avec pour fil conducteur la volonté de transférer les innovations vers des applications en milieu hospitalier et de faire progresser les connaissances sur la compréhension du corps humain. J'ai intégré un groupe en pleine dynamique qui n'était composé que de Karsten et de sa doctorante Valeria Nuzzo et qui compte désormais six membres, et dont les activités qui allient innovation et rigueur ne peuvent que prolonger cette expansion.

Pour toutes ces raisons et encore bien d'autre je tiens tout d'abord à remercier chaleureusement et amicalement Karsten Plamann qui a été un directeur de thèse particulièrement attentif, volontaire et rigoureux (je sais que ce compliment peut-être plus que tous les autres le touchera) et j'ajouterais qu'outre mon respect qu'il a de toute façon par un état de fait, je lui donne toute mon estime au sens de Blaise Pascal, ce qui

correspond à mon sens à ce qui résume au mieux l'ensemble de ses qualités. Enfin, je ne peux conclure sur Karsten sans souligner sa ferveur dans la défense de la langue française très communicative et qui je pense fera autant d'adepte qu'il aura de doctorants

Je remercie également :

La Délégation Générale de l'Armement qui m'a accordé le financement qui m'a permis d'effectuer cette thèse ;

L'école doctorale de l'École Polytechnique, son président Michel Rosso ainsi que Fabrice Baronnet, ou encore Audrey Lemarechal mais aussi toute l'équipe pour leur accueil toujours très chaleureux et leur disponibilité ;

L'Agence Nationale de la recherche qui a financé le projet GRECO sur lequel j'ai effectué ma thèse, et qui finance le projet NOUGAT qui permet entre autre au groupe de continuer ses recherches sur la thématique de chirurgie laser en ophtalmologie, avec la fondation de l'avenir et le Conseil général du département de l'Essonne au travers du projet ASTRE qui financent également une partie des activités du groupe sur la transparence du tissu cornéen ;

Mais aussi :

Tous les membres de mon jury de thèse et en particulier Jean-Louis Bourges et Benoît Forget, mes rapporteurs pour la rigueur avec laquelle ils ont lu mon manuscrit, l'intérêt qu'ils y ont porté et la pertinence de leurs remarques ;

Tous nos partenaires sur les nombreux projets :

L'Institut d'Optique Graduate School et notamment le groupe ELSA dirigé par Patrick George, et composé de Frédérique Druon membre de mon jury, Franck Morin également doctorant sur le projet GRECO mais également Marc Hanna... ;

Imagine Eyes et son directeur Nicolas Château, ainsi que Xavier Levecq, Fabrice Harms, Barbara Lamory, et Aymeric Lavergne ;

Amplitude Système dirigé par Éric Mottay également membre de mon jury et Antoine Courjaud pour ses conseils en optique non-linéaire et sa convivialité ;

La banque française des yeux dirigée par Patrick Sabatier, qui nous a notamment fourni les cornées pour nos expériences ;

Le Laboratoire d'Optique et Bioscience et notamment Marie-Claire Schann-Klein et François Hache, tout deux membres de mon jury mais également Emmanuel Beaurepaire,

Gaël Latour, tous ont une connaissance des milieux biologiques et une disponibilité qui rend chaque échange particulièrement enrichissant.

L'hôpital Hôtel Dieu de Paris et l'anciennement Laboratoire Biotechnologie et œil alors dirigé par Jean-Marc Legeais, membre de mon jury et qui reste par ses conseils et ses connaissances en chirurgie de la cornée le garant de la pertinence de nos recherches.

Mais aussi Michèle Savoldelli qui sait si bien transmettre sa passion du travail bien fait, sa bonne humeur, sa générosité et quelques recettes de cuisine ! Sans elle nous n'aurions pas cette qualité de présentation de nos résultats et ce regard critique sur ce la pertinence de nos expériences dans les moindres détails de l'œil.

Florent Aptel, ophtalmologiste de l'hôpital Édouard Herriot à Lyon, qui est venu en stage au sein de groupe OPS et qui nous a beaucoup apporté afin de mieux relier physique et médecine. Sa patience et sa curiosité en ont fait un excellent partenaire qui nous a beaucoup apporté.

Je tiens également à remercier les membres du Laboratoire d'Optique Appliquée avec qui j'ai eu l'opportunité de travailler :

Rodrigo Lopez-Martens et Olivier Albert pour leurs conseils en optique non-linéaire et leur aide dans la rédaction des articles et de ma thèse ;

Gilles Chériaux pour sa maîtrise dans l'alignement des oscillateurs ;

Mikael et Charly de la mécanique qui ont su rapidement nous fabriquer toutes les pièces dont nous avons besoin et en particulier le troisième module du démonstrateur GRECO. Leur accueil et leur convivialité font de leur atelier de mécanique un lieu où le personnel du laboratoire aime à se retrouver pour échanger des idées, refaire le monde ou simplement faire une petite pause ;

Toute l'équipe de la cellule, et notamment Grégory Iaquaniello qui a conçu l'ensemble du démonstrateur sur CATIA, mais aussi Cédric et Guillaume pour leur amitié.

Alain Paris dont la disponibilité et la gentillesse nous permet de ne pas craindre de devoir imprimer au dernier moment un poster ou un rapport!

Les secrétaires du LOA, Patricia, Octavie, Claudine, Valérie mais surtout Sandrine qui trouve toujours une solution quand une commande semble impossible à passer ;

En particulier un grand merci à Frédérika Augé-Rochereau qui nous a prêté sa salle d'expérience, a monté le laser Titane Saphir que nous avons utilisé et m'a ensuite

beaucoup aidé à l'entretenir me transmettant par la même occasion beaucoup de son savoir sur les sources femtoseconde.

Je remercie spécialement tous mes collègues avec qui j'ai eu l'occasion de travailler quotidiennement :

Valeria Nuzzo dont le travail de thèse qui a précédé le mien a largement contribué à l'obtention de l'ANR GRECO et m'a placé dans les meilleures conditions pour réussir à mon tour ces trois années de recherche ;

Stéphane Bancelin et Simon Lemaire qui ont contribué par leur stages à l'avancement de nos travaux ;

Tal Marciano qui commence sa deuxième année de doctorat sur la transparence de la cornée et Laura Kowalczyk qui a gentiment passé de longues heures à corriger les chapitres de ma thèse et en particulier y a apporté ses connaissances en biologie.

Donald Peyrot dont le travail a largement contribué à enrichir ma thèse au travers du chapitre 2 de celle-ci.

Je tiens à souligner ma gratitude envers Caroline Crotti qui commence sa troisième année de thèse, sa patience, sa gentillesse et sa rigueur en font une personne avec qui il est éminemment agréable de travailler. Elle dispose de toutes les qualités nécessaires à l'accomplissement d'une belle thèse et je tiens à l'encourager pour cette dernière ligne droite. Qu'elle sache que je resterai toujours disponible si elle a besoin de conseils ou d'encouragements.

Au cours de ces années au laboratoire j'ai eu l'occasion de rencontrer des personnes formidables et personne comme Fatima Alahyane ne peut mieux illustrer ces propos. Sa générosité sans faille, son incroyable joie de vivre même quand tant de monde aurait baissé les bras, et son formidable altruisme font de Fatima une amie sincère qui a elle seule suffi à la réussite de mon passage au laboratoire.

Je ne serai jamais arrivé jusqu'ici sans le soutien de ma famille, de mes sœurs, de mes grand-mères et en particulier de mes parents qui ont toujours su me soutenir dans les moments de doutes et m'encourager dans mes choix quels qu'ils soient. Je les remercie pour l'éducation qu'ils m'ont donnée et les valeurs qu'ils m'ont transmises. Tout le mérite de ce

travail leur revient. Une pensée va également à mon grand-père décédé l'an dernier et qui j'en suis sûr aurait fait tout son possible pour venir me soutenir lors de ma soutenance.

Je remercie également mes beaux-parents et Louis qui m'ont accueilli dans leur famille comme leur propre fils, m'ont soutenu dans les difficultés et ont fêté avec moi les réussites. J'emmène leur fille loin d'eux à l'issue de cette thèse, qu'ils ne m'en veuillent pas trop !!

Enfin ma plus belle réussite tout au long de cette thèse reste incontestablement mon mariage avec Julie et je remercie donc ma magnifique femme qui a toujours été d'un soutien sans faille et d'une incroyable générosité, sa spontanéité et son amour font de chaque journée un délice et font de moi un homme comblé, c'est pourquoi je lui dédie cette thèse.

Pour conclure je remercie toute les personnes qui se sont déplacées pour assister à ma soutenance et tous ceux qui auront l'occasion de lire cette thèse.

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Contexte

Mon projet de thèse s'est déroulé dans le cadre du projet ANR TecSan 2006 GRECO (GREffe de CORnée automatisée par laser femtoseconde avec optimisation de la longueur d'onde et correction du front d'onde, ANR-06-TecSan-025) piloté par notre groupe. Ce projet a été proposé suite au succès de l'utilisation des lasers à impulsions ultra-rapides dans la chirurgie réfractive et à la volonté d'étendre cette technologie à la greffe. La plupart des indications de greffe sont associées à une qualité optique de la cornée du patient insuffisante, ce qui rend difficile l'intervention par laser. Comme nos recherches l'ont démontré, la forte diffusion optique des cornées pathologiques aux longueurs d'onde actuellement utilisées peut être compensée par une augmentation de la longueur d'onde des lasers vers 1,65 μm . Nos partenaires sont l'hôpital Hôtel-Dieu de Paris, la société Imagine Eyes et l'Institut d'Optique Graduate School.

Objectifs de la thèse

Les principaux objectifs de mon projet étaient les suivants :

- L'étude de la transparence du tissu cornéen sain et œdémateux afin d'identifier la longueur d'onde offrant une profondeur de pénétration optimale ;
- le développement de sources lasers optimisées pour la greffe de cornée basées sur la conversion de longueurs d'onde par optique non-linéaire ;
- l'étude de l'interaction laser-tissu en vue d'une optimisation des paramètres laser ;
- la conception et la mise en place d'un système démonstrateur pour la chirurgie laser .

Présentation des principaux résultats obtenus

- Étude de la transparence de la cornée

Nous avons effectué des mesures de transmission spectrale des photons non diffusés et de l'absorption des cornées saines et œdémateuses. La comparaison de ces mesures a permis de déterminer que la profondeur de pénétration est optimale dans la fenêtre de relative transparence du tissu centrée à 1,65 μm car la diffusion est alors fortement réduite et le spectre d'absorption présente un minimum local.

- Source accordable par Amplification Paramétrique Optique (OPA)

Dans un premier temps, le plan de travail du projet GRECO prévoyait le montage d'une source flexible et accordable basée sur un laser titane:saphire disponible au laboratoire.

Nous avons choisi une architecture originale de type OPA (*Optical Parametric Amplification* = Amplificateur Paramétrique Optique), composée de deux étages d'amplification (basés sur deux cristaux de caractéristiques différentes) avec injection d'un supercontinuum de lumière blanche. Le premier étage assure une bonne sélectivité en longueur d'onde et le deuxième étage fournit un fort gain notamment au double de la longueur d'onde de pompe. Les efficacités de conversion sur l'ensemble du système atteignent 20 % quelque soit la longueur d'onde amplifiée. Le système fournit des impulsions de 300 μJ accordables entre 1,2 μm et 1,75 μm pour le signal. Cette source a servi pour les expériences chirurgicales exploratoires de la première moitié du projet GRECO.

- Source accordable par Génération Paramétrique Optique (OPG)

En parallèle des expériences chirurgicales sur l'interaction laser-tissu, une deuxième source, plus compacte et potentiellement adaptée à un contexte clinique, a été développée. Cette deuxième source est pompée par un laser industriel également compact et stable et émettant à 1,03 μm . Cette longueur d'onde est convertie par génération paramétrique optique dans un seul cristal non linéaire périodiquement polarisé ne nécessitant aucune injection. Dans un premier temps, l'ajustement de la longueur d'onde du signal amplifié se fait par simple changement de la température du cristal sans nécessiter d'alignement, ce qui contribue à la robustesse du système. Un seul passage permet une efficacité de conversion d'environ 20 % et un maximum d'énergie de 20 μJ ce qui correspond à une amélioration d'un facteur 100 par rapport à l'état de

l'art. L'utilisation de plusieurs structures périodiques juxtaposées permet d'obtenir une accordabilité totale entre 1450 nm et 1900 nm qui couvre donc les bandes d'absorption et notamment de transparence des tissus du segment antérieur.

- Résultats chirurgicaux sur la cornée et la sclère

Nos expériences chirurgicales ont été effectuées sur des cornées obtenues auprès de la Banque Française des Yeux. Nous avons réalisé une étude systématique de la profondeur de pénétration et de la qualité du résultat chirurgical en fonction de la longueur d'onde et de l'état pathologique de la cornée. Les mesures de transparence puis les expériences chirurgicales utilisant l'OPA ou l'OPG ont mis en évidence une forte dépendance entre profondeur de pénétration et longueur d'onde.

- L'utilisation des longueurs d'onde autour de 1 μm correspondant aux systèmes cliniques actuels se heurte à une profondeur de pénétration très limitée dans des cornées œdémateuses. Ce constat est en accord avec l'expérience de nos partenaires cliniques qui estiment également que les performances des systèmes actuels sont limitées pour une application à la greffe de cornée.
- L'augmentation de la longueur d'onde limite la contribution des processus de diffusion de la lumière. Néanmoins, la bande d'absorption de l'eau centrée à 1,45 μm augmente la contribution des effets thermiques. L'utilisation de longueurs d'onde proches de cette bande n'est donc pas pertinent.
- Il existe une fenêtre de relative transparence optique centrée à 1,65 μm au sein de laquelle l'absorption est faible et la contribution de la diffusion de la lumière est quasi négligeable. Dans l'absolu, nous avons pu constater une amélioration d'environ un facteur 3 par rapport aux lasers cliniques travaillant aux longueurs d'onde autour de 1 μm . La qualité des incisions est excellente et la validité des hypothèses de travail du projet GRECO a pu être vérifiée.
- Le dispositif démonstrateur pour la greffe de cornée automatisée et de géométrie complexe.

Le programme de travail du projet GRECO prévoyait le montage d'un système démonstrateur regroupant les éléments d'un système de greffe de cornée. Nous avons

conçu et mis en place un dispositif démonstrateur composé de trois parties modulables. La première unité contient le laser qui peut être soit un laser fibré centré à 1590 nm développé par l'Institut d'Optique *Graduate School* soit le système laser accordable par OPG qui a été développée au cours de la présente thèse. La deuxième unité contient un module d'optique adaptative qui corrige la qualité du front d'onde du faisceau laser. La troisième unité permet la délivrance du faisceau en 3 dimensions dans le volume de la cornée. Le tout est piloté automatiquement à travers une interface d'ordinateur basée sur le logiciel *LabView* développé au cours de la présente thèse.

Conclusion et perspectives

Durant mon doctorat, j'ai développé deux sources non-linéaires performantes et innovantes basées respectivement sur le principe de l'amplification et de la génération paramétrique optique. Les performances notamment de la deuxième source sont largement supérieures à l'état d'art. Celle-ci respecte les contraintes de fiabilité et de compacité nécessaires à un appareil clinique. Cette source est à la base de discussions actuelles sur un projet de valorisation.

Ces sources ont permis d'identifier puis de démontrer les avantages d'une chirurgie de la cornée à 1,65 μm . Nous avons mis en place un système démonstrateur basé sur cette longueur d'onde qui incorpore un module de correction du front d'onde et un dispositif d'administration du faisceau.

Le groupe OPS est désormais en mesure d'étendre les champs d'investigations en chirurgie femtoseconde, tout d'abord dans la sclère puis plus généralement dans l'ensemble des tissus notamment au travers de nouveaux projets aujourd'hui en préparation tel que la chirurgie de la cataracte ou encore le transfert de gènes.

ABSTRACT

Context

My PhD project was conducted within the framework of the “GRECO” project (ANR-06-TecSan-025) which is coordinated by our group and funded by the French National Research Agency. Following the success of femtosecond laser technology in refractive surgery, the project aims to extend the application of these lasers to corneal grafting. Most of the indications for corneal grafting are associated to an insufficient optical quality of the patient’s cornea, which also compromises the intervention by laser. Our findings suggest that the strong optical scattering of the pathological corneas at the laser wavelengths presently used can be compensated by an increase of the wavelength of lasers towards the window of relative tissular transparency centred at 1,65 μm . Our project partners are the Hôtel-Dieu hospital at Paris, the Imagine Eyes company and the *Institut d’Optique* Graduate School.

Objectives of the thesis

The principal objectives of my thesis were the following:

- the study of the transparency of healthy and edematous corneas in view of identifying the wavelengths with optimal penetration depths;
- the development of laser sources optimised for corneal grafting based on nonlinear wavelength conversion;
- the study of the laser-tissue interaction process in view of optimising the laser parameters;
- the conception and realisation of a demonstrator device for laser surgery.

Presentation of the main results

- Study of corneal transparency

We have performed spectral measurements of the directly transmitted light *ie* without scattering, and the total light transmission on healthy and edematous corneas. The comparison of these measurements allowed us to determine that the wavelength

that offers the optimal penetration depth in the tissue is centered at 1.65 μm where the scattering part is very low and it corresponds to a local minimum of absorption spectra.

- Laser source based on Optical Parametric Amplification

The work plan of the GRECO project comprised the assembly of a flexible and parametric laser source based on a laser titanium:sapphire pump source in order to perform laboratory experiments covering a broad wavelength range. We chose an architecture based on the OPA principle which consists of two amplification stages (based on two crystals of different characteristics) preceded by the injection of a supercontinuum. The first stage provides good wavelength selectivity and the second a strong gain, particularly at twice the pump wavelength. The conversion efficiencies on the system are of about 20 % over the entire wavelength range of tuneability. The system supplies pulses of 300 μJ tuneable between 1.2 μm and 1.75 μm for the signal. This source served for the exploratory surgical experiments performed during the first half of the GRECO project.

- Laser source based on Optical Parametric Generation (OPG)

In parallel to the surgical experiments on the laser-tissue interaction, I developed a second source taking into account the requirements for clinical use. This second source is pumped by a compact and stable commercial solid state laser emitting at 1.03 μm . This wavelength is converted by optical parametric generation in a single nonlinear periodically poled crystal without injection; the system remains thus simple, compact and stable. The wavelength tuneability of the amplified signal is obtained by a change in the temperature of the crystal. Thus, no realignment is needed, which contributes to the robustness of the system. A single passage provides a conversion efficiency of about 20 % and maximum pulse energy of 20 μJ , which corresponds to a performance a 100 times greater than the state of art. The use of several periodically poled structures in the same crystal leads to an overall tuneability of the signal between 1450 nm and 1900 nm and thus covers the entire spectral range of corneal transparency and opacity in the short wavelength infrared.

- Surgical results on the cornea and on the sclera

Our surgical experiments have been performed on corneas obtained under permission from the French Eye Bank. We have conducted a systematic study of the penetration depth and the quality of the surgical result as a function of wavelength and the pathological state of the cornea. In parallel, systematic measurements of the corneal transparency depending on the presence and degree of oedema have been made.

- The use of wavelengths around 1 μm corresponding to present clinical systems is compromised by a very limited penetration depth in oedematous cornea. This conclusion agrees with the experience of our medical partners who estimate that the performances of clinical systems are limited when used for corneal grafting.
- Using longer wavelengths limits the contribution of light scattering. However, the absorption band of water centred at 1.45 μm increases the contribution of thermal effects; the use of wavelengths close to this band therefore is not possible
- A window of relative transparency centred at 1.65 μm exists, within which absorption is weak and the contribution of light scattering is almost negligible. We have observed an overall improvement of a factor of about 3 compared to lasers working at wavelengths around 1 μm . The quality of the incisions is excellent and the validity of the work hypothesis of the GRECO project has thus been demonstrated.
- The demonstrator device for an automated corneal graft with complex geometries

The work plan of the GRECO project also comprised the assembly of a demonstrator device, combining the elements for an optimised system permitting corneal grafting. The demonstrator consists of three modules. The first unit contains the laser is alternatively the aforementioned OPG device or a compact fibre laser emitting at 1.6 μm developed at the *Institut d'Optique* Graduate School. The second unit contains a module of adaptive optics. The third unit allows the delivery of the beam to the cornea and its positioning in three dimensions. The system is controlled by a computer interface based on LabView software.

Conclusion and perspectives

During my thesis work I have developed two innovative and powerful nonlinear laser sources respectively based on the principle of optical parametric amplification and generation. The performances notably of the second system are largely superior to the state of art. The source corresponds to the criteria of reliability and compactness necessary for a clinical device.

These sources have permitted to identify and to demonstrate the advantages of corneal surgery at 1.65 μm . We have mounted a demonstrator system based on this wavelength which incorporates a wavefront correction module and a beam delivery system.

The OPS group is now in a position to extend its activities in femtosecond laser surgery to other applications as glaucoma surgery in the sclera and new projects in cataract surgery or gene transfection.

SOMMAIRE

Résumé de la thèse	9
Abstract	13
Introduction	23
Objectifs	25
Plan	27
Chapitre 1 Contexte médical.....	31
1.1. L'œil humain	31
1.2. Anatomie de la cornée.....	33
1.3. Les pathologies oculaires traitées au laser	37
1.3.1. Les pathologies de la tunique externe pouvant être traitées au laser ...	39
1.3.1.1. La greffe de cornée.....	39
1.3.1.2. Le glaucome (intervention dans la sclérotique).....	41
1.4. État de l'art de la greffe de cornée.....	42
1.4.1. Protocoles chirurgicaux	42
1.4.2. Les systèmes cliniques.....	44
Chapitre 2 Propriétés optiques de la cornée.....	47
2.1. Indice de réfraction et biréfringence.....	47
2.1.1. Indice de réfraction.....	47
2.1.2. Biréfringence	48
2.2. Caractérisation des propriétés de transmission de la cornée	49
2.2.1. Protocole de déturgescence.....	49
2.2.2. Transparence de la cornée.....	54
2.2.2.1. Considérations théoriques.....	54
2.2.2.2. Résultats expérimentaux.....	58

Chapitre 3	Les lasers à impulsions ultra-brèves à usage chirurgical et leur interaction avec le tissu	69
3.1.	Les lasers ultracourts	69
3.1.1.	Les impulsions laser ultra-brèves : considérations mathématiques.	69
3.1.2.	Les lasers femtosecondes : état de l'art.....	72
3.1.2.1.	L'amplification d'impulsion par dérive de fréquence (CPA)	73
3.1.2.2.	Les oscillateurs à cavité étendue.....	75
3.1.2.3.	Les lasers fibrés.....	76
3.2.	L'interaction laser tissu	78
3.2.1.	La photodisruption ou claquage optique	79
3.2.1.1.	Ionisation non-linéaire.....	81
3.2.1.2.	Propagation non-linéaire des impulsions.....	84
3.2.1.3.	Application au tissu biologique.....	87
Chapitre 4	Développement de sources optimisées.....	91
4.1.	Principe de la conversion paramétrique	92
4.2.	Source accordable par accord de phase biréfringent	97
4.2.1.	État de l'art des sources par accord de phase biréfringent.....	97
4.2.2.	Le laser de pompe titane:saphir	99
4.2.3.	L'amplificateur paramétrique optique.....	101
4.2.3.1.	L'injection par supercontinuum	103
4.2.3.2.	Propriété optique des cristaux non-linéaires de BBO et de BiBO	104
4.2.4.	Résultats.....	107
4.2.4.1.	Énergies délivrées par l'OPA.....	107
4.2.4.2.	Durée et phase spectrale des impulsions.....	108
4.2.5.	Accordabilité de l'OPA	110

4.3.	Source accordable par quasi-accord de phase	111
4.3.1.	État de l'art des sources par quasi-accord de phase	111
4.3.2.	Le laser de pompe Yb :KYW.....	112
4.3.3.	Le générateur paramétrique optique	113
4.3.3.1.	Caractéristiques du cristal de PPMLN.....	113
4.3.3.2.	Dispositif expérimental.....	113
4.3.4.	Résultats.....	114
4.3.4.1.	Énergies délivrées par l'OPG.....	114
4.3.4.2.	Accordabilité et largeur spectrale des impulsions du signal.....	115
4.3.4.3.	Durée des impulsions	119
4.3.4.4.	Discussion	120
4.4.	Le laser fibré dopé erbium	122
Chapitre 5	Chirurgie cornéenne par laser optimisé	127
5.1.	Dispositif expérimental	128
5.1.1.	Le dispositif d'expériences chirurgicales	128
5.1.2.	Préparation des échantillons	132
5.2.	Dissection par laser femtoseconde	134
5.2.1.	Introduction.....	134
5.2.2.	Méthode.....	135
5.2.3.	Seuil de claquage optique	136
5.2.4.	Résultats.....	139
5.2.4.1.	Étude de l'influence de la longueur d'onde sur les découpes	139
5.2.4.1.1.	Résultats avec la source OPA	139
5.2.4.1.2.	Résultats avec la source OPG	141
5.2.4.2.	Dissection avec le laser fibré dopé erbium.....	144
5.2.4.3.	Comparaison des incisions à 1030 nm vs. à 1650 nm.....	149

5.3.	Conclusion	153
Chapitre 6	Le dispositif démonstrateur de greffe de cornée	157
6.1.	Introduction	157
6.2.	Étude des dispositifs de balayage et de focalisation	158
6.3.	Le système de correction du front d'onde.....	162
6.4.	Le dispositif démonstrateur	164
6.5.	Discussion sur les performances et les évolutions	169
	Conclusion et perspectives	173
	Annexe 1:Principe de la conversion paramétrique.....	179
	Bibliographie	193

INTRODUCTION

Le principe du laser fût théoriquement décrit par Einstein au début du XXème siècle [1]. Le premier laser opérationnel a été développé par Maiman en 1960 [2] et le potentiel de cette technologie pour des applications médicales à immédiatement intéressé les chercheurs. Dès 1961, un laser a été utilisé pour le traitement d'une tumeur de la rétine. Le fait que cette opération concerne l'ophtalmologie n'est pas anodin et c'est d'ailleurs cette spécialité qui concentrera la plupart des efforts et des développements en matière de technologies laser à usage médical et chirurgical. En effet l'œil est de part sa fonction même un système optique transparent dans le visible et le proche infrarouge, zone spectrale qui regroupe la majorité des longueurs d'ondes d'émission des lasers existants. La transparence des tissus offre alors l'énorme avantage de permettre d'opérer l'œil en profondeur tout en conservant le globe oculaire fermé.

Depuis, les développements progressifs de la technologie laser ont permis de proposer une multitude de nouveaux paramètres de fonctionnement. La variation de ces paramètres tels que la longueur d'onde, l'énergie, la puissance, les conditions de focalisation ou encore la durée de l'interaction donnent aujourd'hui accès à un grand nombre d'autres applications médicales.

La variation de la longueur d'onde d'émission permet de faire varier les interactions en fonction des propriétés d'absorption ou de transmission des tissus. Typiquement, l'ultraviolet permet de rompre les liaisons moléculaires, l'infrarouge moyen et lointain intervient généralement pour des interactions photo-thermique et le visible ou le proche infrarouge autorisent de grandes profondeurs de pénétration.

De même, la durée des impulsions est un paramètre essentiel de l'interaction laser tissu. Ainsi, la variation de ce paramètre donne accès à des effets photo-chimiques, photo-thermiques, photo-ablatifs, photo-mécaniques ou photo-disruptifs. Ce dernier concerne le régime femtoseconde et nous intéressera principalement dans cette thèse.

En particulier, l'apparition des lasers femtoseconde conçus pour des applications chirurgicales a permis une importante évolution en ophtalmologie car ils procurent des découpes particulièrement nettes et reproductibles avec des précisions micrométriques. Leur première application concerne la réalisation d'un capot cornéen d'une centaine de micromètres d'épaisseur dans les procédures dites de LASIK (*laser in situ*

keratomileusis) dont le but est de corriger les troubles de la vision liés à la myopie ou à l'hypermétropie à l'aide d'un second laser (excimer). Cette technologie s'est ensuite étendue plus largement à des applications en greffe de cornée, de pose d'anneaux cornéens ou encore très récemment à la correction de la presbytie. Bien que très performants lorsque la cornée demeure saine et donc optiquement transparente, cet outil montre de nombreuses limitations dès que la cornée devient œdémateuse et donc fortement diffusante. Cela représente pourtant l'essentiel des pathologies nécessitant une intervention de greffe de cornée. L'ensemble de ces limitations a été étudié au travers de la thèse de V. Nuzzo [3]. Elle a permis d'élaborer les stratégies sur lesquelles repose le projet collaboratif GRECO (GREffe automatisée de la CORnée par laser femtoseconde utilisant un système de correction du front d'onde et un laser optimisé) ainsi que mon travail de thèse. Ce projet financé par l'agence Nationale de la Recherche (ANR-06-TecSan-025) réunit quatre partenaires : une équipe clinique appartenant au service d'ophtalmologie de l'hôpital Hôtel Dieu de Paris (Université René Descartes), l'équipe « Lasers solides et application » appartenant à l'Institut d'Optique *Graduate School*, la société *Imagine Eyes* et notre équipe spécialisée dans l'interaction laser-tissu. Le projet est parti du constat que la diffusion dans la cornée ayant essentiellement un comportement de type Rayleigh, elle diminue rapidement avec l'augmentation de la longueur d'onde. Par conséquent, une augmentation suffisante de la longueur d'onde d'émission des lasers doit permettre d'augmenter significativement les profondeurs de pénétration dans le tissu, à condition de conserver un spectre de transmission de la cornée suffisamment élevé. L'objectif à atteindre concerne des profondeurs de l'ordre du millimètre, ce qui correspond à l'épaisseur maximale d'une cornée pathologique. D'autre part, Il est également important de ne pas trop augmenter la longueur d'onde afin de conserver une précision micrométrique. Le meilleur compromis physiologique et médicale consiste à utiliser des longueurs d'onde centrées entre 1.6 et 1.7 μm plutôt que celles des systèmes cliniques actuels qui sont de l'ordre de 1 μm . En effet, nous allons le démontrer, la diffusion dans la cornée est alors quasiment nulle et les profondeurs de pénétration sont de l'ordre du mm.

Il n'existe à ce jour aucune source laser émettant directement à ces longueurs d'onde. La seule solution technologique disponible au début du projet impliquait l'utilisation de systèmes par effets non-linéaires ne remplissant pas les conditions de robustesse, de stabilité et de compacité indispensables pour satisfaire aux contraintes

d'une application clinique. Le sujet de ma thèse a donc concerné le développement de sources adaptées puis la démonstration de leur potentiel pour des applications de greffe de cornée, quelque soit leur pathologie.

OBJECTIFS

Les objectifs de ce travail de recherche sont de développer un outil optimisé pour la greffe de cornée automatisée par laser femtosecondes opérationnel quelque soit le degré d'œdème des cornées des patients.

Deux axes ont été suivis en parallèle pour définir les paramètres optimaux :

- Tout d'abord, une étude précise de la transparence de la cornée en fonction de la longueur d'onde reprend les données présentées dans les années 1960 par Bøttner en les complétant. Elle a permis de calculer les profondeurs de pénétration entre 400 nm et 1700 nm, afin de déterminer la longueur d'onde optimale pour une opération en profondeur dans la cornée pathologique.
- En parallèle le développement de sources lasers femtosecondes émettant sur une large plage de longueurs d'onde incluant la zone entre 1,6 μm et 1,7 μm ont permis de vérifier expérimentalement les performances liées à un décalage de la longueur d'onde du proche infrarouge vers le SWIR (pour *Short Wavelength Infrared*¹) (1 μm \rightarrow 1,65 μm).

Ce dernier point à fait l'objet de trois axes d'étude donnant lieu à trois solutions expérimentales dont les deux premières ont été proposées puis développées dans le cadre de cette thèse :

- la première source est basée sur la technologie OPA (pour Amplification Paramétrique Optique). Elle est pompée par un laser titane:saphir de laboratoire et offre une large plage d'accordabilité s'étendant de 1200 nm à 1750 nm (signal). Cette source a rapidement été opérationnelle et a permis d'effectuer les premières études de profondeur de pénétration des découpes par laser en fonction de la longueur d'onde d'émission ;

¹ Cela correspond au spectre allant de 1,4 μm à 3 μm . Dans notre cas nous l'utilisons pour parler d'un spectre allant jusqu'à 1750 nm.

- la seconde source, basée sur la technologie OPG (Génération Paramétrique Optique), est pompée par une source dopée Ytterbium. Elle offre l'avantage d'être compacte, stable et accordable entre 1450 nm et 2000 nm. Elle délivre des impulsions de 20 μ J à une cadence de 10 kHz ;
- en parallèle, une source fibrée dopée erbium basée sur la technologie télécom a été développée par nos partenaires de l'Institut d'Optique Graduate School. Cette source présente l'avantage qu'offrent les lasers fibrés en général, c'est-à-dire qu'elle est compacte, peu coûteuse et demande peu d'entretien et d'alignement. Elle émet des impulsions de 2,5 μ J centrées à 1600 nm. Ses caractéristiques peuvent être retrouvées plus en détail dans la thèse de Franck Morin et dans un article du même auteur [44].

Outre l'optimisation de la longueur d'onde, un système d'optique adaptative a été mis en place en partenariat avec la société *Imagine Eyes* afin de corriger l'ensemble des aberrations du système optique jusqu'à l'échantillon. Ce système autorise également un contrôle actif et une optimisation en temps réel des conditions de propagation et de focalisation du faisceau grâce à un algorithme génétique dont le facteur de mérite est lié à l'intensité de seconde harmonique générée au point focal dans la cornée.

Un système d'administration du faisceau du laser permettant d'effectuer un balayage sur une surface et une profondeur équivalente à celle d'une cornée humaine a également été développé, il permet de reproduire les principaux protocoles chirurgicaux actuellement disponibles sur les systèmes cliniques.

L'ensemble de ces outils nous ont permis de mettre en place un dispositif démonstrateur afin de déterminer et de valider les performances et les améliorations apportées par la modification de la longueur d'onde. À partir de ces résultats, un certain nombre de propositions ont également pu être dans l'optique d'un développement ultérieur d'un prototype. Le potentiel de cet outil dans le cadre de nouvelles applications est également discuté avec à terme dans l'idée de pouvoir proposer un système unique multi-fonctions capable d'intervenir sur l'ensemble du segment antérieur de l'œil.

PLAN

Cette thèse est structurée en six chapitres que l'on peut répartir en trois axes principaux. Tout d'abord, nous présenterons une revue des connaissances essentielles liées au sujet. Elles concernent les caractéristiques optiques de la cornée et l'état de l'art de la chirurgie de ce tissu par laser femtoseconde. En seconde partie, nous présenterons la physique des sources développées et détaillerons leurs caractéristiques et leurs performances. La troisième partie nous permettra de relater les différents résultats des expériences effectuées sur la cornée et de présenter le dispositif démonstrateur développé.

Le chapitre 1 contient une description anatomique de l'œil humain ainsi que le détail des différentes pathologies que l'on peut rencontrer dans les différentes parties de l'œil et qui sont d'ores et déjà ou qui pourront probablement être traitées grâce à la technologie laser.

Le chapitre 2 décrit les propriétés optiques de la cornée et notamment celles concernant sa transparence et sa diffusion en fonction de l'état d'avancement de pathologies typiques. Il présente les dernières théories concernant la transparence de la cornée et les résultats des expériences ayant permis d'évaluer les profondeurs de pénétration et les sections efficaces de diffusion de la cornée en fonction de la longueur d'onde.

Le chapitre 3 présente l'état de l'art de la chirurgie laser femtoseconde et les principaux mécanismes physiques de l'interaction laser-tissu, en particulier ceux liés aux impulsions femtosecondes.

Le chapitre 4 est consacré aux différentes sources développées durant mon doctorat et contient une description des phénomènes physiques liés à l'optique non-linéaire et à la conversion de longueurs d'onde.

Le chapitre 5 propose une description de la méthode de préparation des échantillons et des protocoles ayant servis dans le cadre des expériences de découpes laser sur cornée humaine. Nous y reportons les résultats les plus représentatifs de ces expériences en fonction de différents paramètres: la transparence de la cornée, la longueur d'onde d'émission du laser, l'énergie des impulsions, l'ouverture numérique de l'optique de

focalisation et le système laser. Les résultats sont ensuite analysés en histologie par microscopie optique et en ultrastructure par microscopie électronique en transmission. La qualité et la profondeur des découpes sont ensuite comparées avec celles effectuées avec un laser équivalent à ceux utilisés dans les systèmes cliniques.

Le chapitre 6 permet de présenter les caractéristiques précises du démonstrateur mis en place et de détailler ses performances et l'ensemble des modifications et améliorations nécessaires à l'obtention d'un prototype utilisable dans le cadre d'essais cliniques.

Enfin, en conclusion et perspectives on trouve un résumé des travaux réalisés pendant mon doctorat et un aperçu des évolutions envisageables en chirurgie ophtalmologique par l'utilisation des lasers femtosecondes.

Chapitre 1 CONTEXTE MÉDICAL

Le chapitre 1 contient une description de l'anatomie de l'œil humain. Une revue des différentes pathologies oculaires qui sont d'ores et déjà ou seront potentiellement traitées grâce à la technologie laser est également présentée avec plus particulièrement celles nécessitant un laser femtoseconde.

1.1. L'œil humain

L'œil, ou globe oculaire, est un organe dont la fonction est de détecter la lumière et de procurer le sens de la vue. De structure creuse et de forme globalement sphérique, il fait en moyenne 2,5 cm de long et 2,3 cm de haut. Les figures 1 et 2 sont des représentations schématiques des principaux composants de l'anatomie de l'œil.

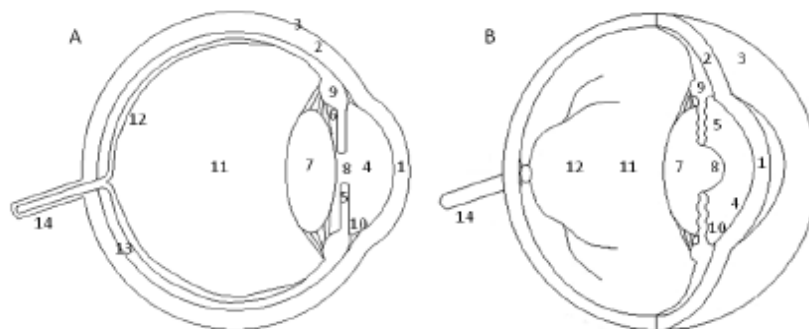


Figure 1 : perspective d'une coupe transversale (A) et deux-points (B) de l'œil humain : cornée (1), sclérotique (2), conjonctive (3), chambre antérieure (4), iris (5), chambre postérieure (6), cristallin (7), pupille (8), corps ciliaire (9), trabeculum et canal de Schlemm (10), humeur vitreuse (11), rétine (12), choroïde (13) et nerf optique (14) [5].

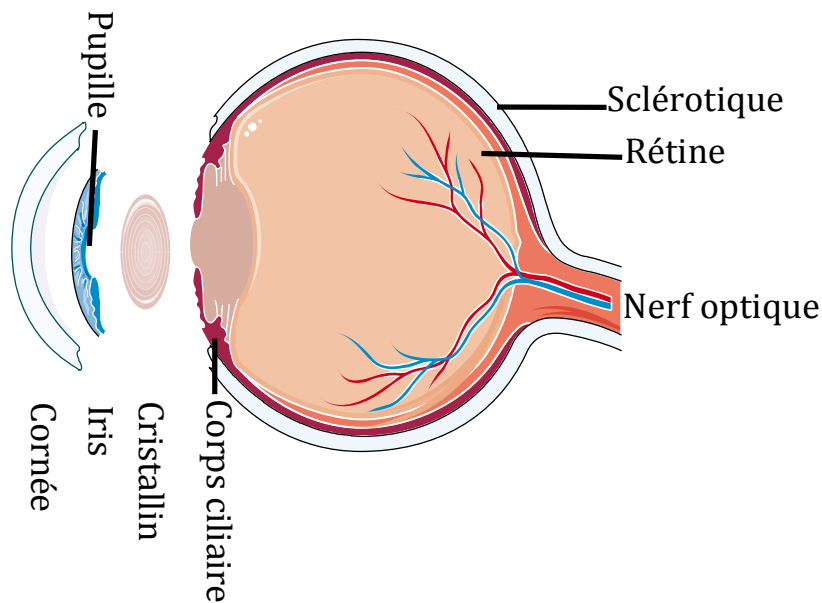


Figure 2 : Description schématique de l'anatomie de l'œil [6]

La lumière entre par la cornée puis traverse l'humeur aqueuse et la pupille qui joue le rôle d'un diaphragme. Elle est ensuite transmise par le cristallin et atteint enfin la rétine en passant par l'humeur vitrée. Les principales caractéristiques optiques de ces milieux sont décrites dans le tableau 1.

Structure	Rayon de courbure antérieur	Rayon de courbure postérieur	Pouvoir de focalisation	Indice de réfraction
Cornée	7,8 mm	6,8 mm	2/3	1,377
Humeur aqueuse	----	----	----	1,337
Cristallin	10 mm	6 mm	1/3	1,413
Humeur vitrée	----	----	----	1,336

Tableau 1 : Caractéristiques optiques principales des éléments de l'œil traversés par la lumière lors de la formation d'une image [7].

Le globe oculaire se compose de trois tuniques, du cristallin et de deux milieux liquides transparents : l'humeur aqueuse dans le segment antérieur et le vitré dans le segment postérieur.

La tunique interne est la partie sensorielle de l'œil : elle comprend la rétine qui est constituée de l'épithélium pigmentaire rétinien et de la rétine neurosensorielle. Cette dernière est constituée de six types de cellules neuronales parmi lesquelles les cellules assurant le traitement de l'information lumineuse ou la photo-transduction sont les photorécepteurs : les bâtonnets sont responsables de la vision nocturne (scotopique) et

les cônes sont responsables de la vision diurne (photopique). La papille optique est la région où près d'un million de fibres nerveuses se réunissent pour former le nerf optique avec qui cheminent les vaisseaux centraux de la rétine. Au centre de l'axe optique se trouve la *macula lutea*, « la tâche jaune », au cœur de laquelle est située la fovéa, zone rétinienne composée uniquement de cônes et où l'acuité visuelle est la plus sensible.

La tunique intermédiaire vascularisée, l'uvée, est composée de la choroïde, puis s'épaissit sur l'avant pour former le corps ciliaire et l'iris. La choroïde a un rôle essentiel dans la nutrition de la rétine. Par sa pigmentation, l'iris donne la couleur de l'œil et est innervé par des fibres nerveuses stimulant la dilatation et la constriction de la pupille, en fonction de la luminosité environnante. Situé en couronne derrière l'iris, le corps ciliaire est constitué par des procès ciliaires, responsables de la sécrétion de l'humeur aqueuse et par le muscle ciliaire dont la contraction contrôle la forme du cristallin.

Enfin, la tunique fibreuse externe est celle qui nous intéresse particulièrement puisqu'elle se compose de la sclère en périphérie et se prolonge dans le segment antérieur par la cornée. La sclère (ou sclérotique) est la partie blanche de l'œil qui le protège des agressions extérieures. Transparente et non vascularisée la cornée joue le rôle de première lentille optique de l'œil puisqu'elle est responsable aux 2/3 du pouvoir de focalisation de l'œil.

1.2. Anatomie de la cornée

Formant la première « fenêtre » de l'œil devant l'iris et la chambre antérieure, la cornée est exposée à l'environnement externe. Ses fonctions principales sont de focaliser et de transmettre la lumière vers la rétine et de protéger les composants internes de l'œil contre les agressions physiques. Elle est de forme convexe et asphérique, et présente un rayon de courbure plus important au centre qu'à sa périphérie. Elle mesure horizontalement de 11 à 12 mm contre 9 à 10 mm verticalement. Son épaisseur physiologique varie de 0,5 à 0,7 mm et peut atteindre plus d'1 mm lorsqu'elle est pathologique. Son pouvoir de réfraction étant de 40 à 44 dioptries, une faible variation de sa forme ou de son épaisseur peut entraîner d'importantes modifications dans la vision.

Sa transparence est également une des caractéristiques importantes de ce tissu. Bien que la sclère et la cornée aient une constitution très proche, la première est opaque alors que la seconde est transparente. La différence vient de la forte organisation du tissu et aux faibles variations d'indices de réfraction (*cf* section 2.2.2). Cette structure a été étudiée par microscopie électronique en transmission et par diffraction de rayons X.

La cornée est formée de trois tissus superposés : l'épithélium, le stroma et l'endothélium. Ils sont séparés par deux couches membranaires : la couche de Bowman et la membrane de Descemet (figure 3). Normalement avasculaire, la cornée tire son énergie métabolique du film lacrymal très mince (environ 7 μm) qui la recouvre, de la conjonctive et de l'humeur aqueuse [8].

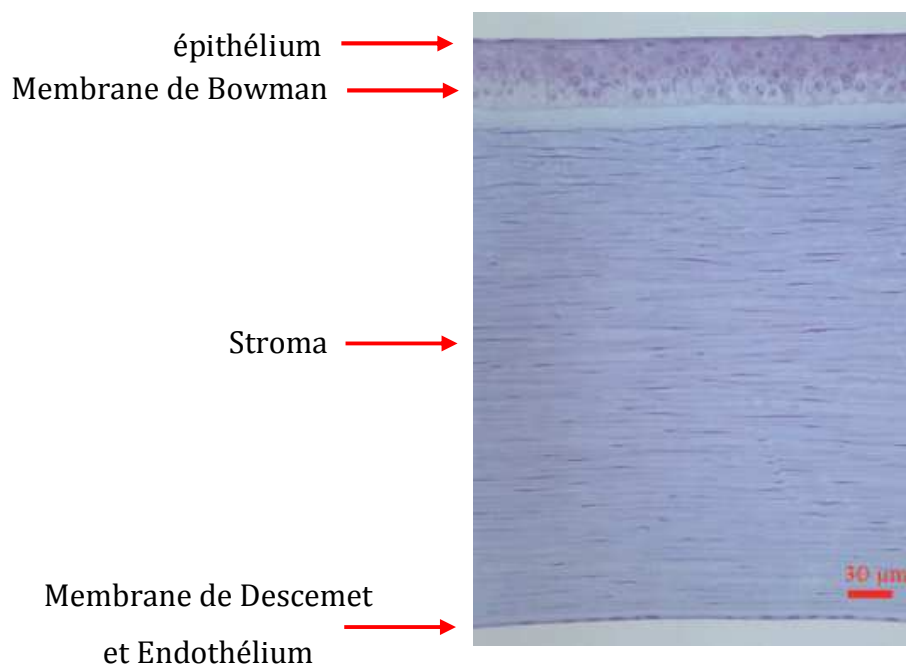


Figure 3: Coupe histologique de la cornée²

L'épithélium, de 50 à 52 μm d'épaisseur, est constitué de cellules présentant trois stades de différenciation. Les cellules superficielles sont les plus distinctes : elles sont sans noyau et organisées en 2 à 3 couches de cellules plates et desquamantes³. Les cellules intermédiaires forment deux à trois assises de cellules en voie d'apoptose (mort cellulaire). Les cellules basales forment une couche monostratifiée. Très hautes et en contact avec la lame basale, elles sont douées d'un métabolisme particulier leur

² de Michèle Savoldelli Hôtel Dieu Paris

³ Mort progressive des couches superficielles de l'épiderme

permettant de vivre dans un environnement non vascularisé. Comme celles de l'épithélium cutané, ces cellules sont capables de proliférer. Elles s'auto-renouvellent rapidement à partir des cellules souches situées dans la zone séparant la cornée de la sclère : le limbe. Il suffit de 7 jours pour que cette couche épithéliale se renouvelle complètement.

La couche de Bowman mesure entre 8 et 12 μm . Cette structure acellulaire correspond à une condensation du stroma antérieur composé essentiellement de protéoglycanes et de collagènes de type I et III. Ces fibrilles de collagène sont entremêlées, contrairement à l'organisation bien ordonnée des fibrilles stromales.

Le stroma constitue 90 % de l'épaisseur totale de la cornée (500 μm). Ce sont sa structure et ses caractéristiques qui confèrent à la cornée ses propriétés particulières de transparence et de résistance mécanique. Composé à 80% d'eau, il contient quelques cellules : les kératocytes, des fibres nerveuses et une matrice extracellulaire composée principalement de collagène, de protéoglycanes, de glycosaminoglycanes et d'autres protéines qui peuvent absorber jusqu'à 1000 fois leur volume en eau.

Les fibrilles de collagène forment des lamelles empilées les unes sur les autres, orientées parallèlement à la surface de la cornée. Elles sont principalement composées de collagène de type V qui limite le diamètre maximum des fibrilles, et contiennent également une proportion non négligeable de collagène de type V. La régularité de la structure stromale est assurée par le collagène de type VI et XII. Ces fibrilles sont formées à partir du tropocollagène, une molécule de 1,5 nm de diamètre et de 300 nm de long, constituée de trois chaînes polypeptidiques, associées entre elles hélicoïdalement avec une période de 8,6 nm (figure 4).

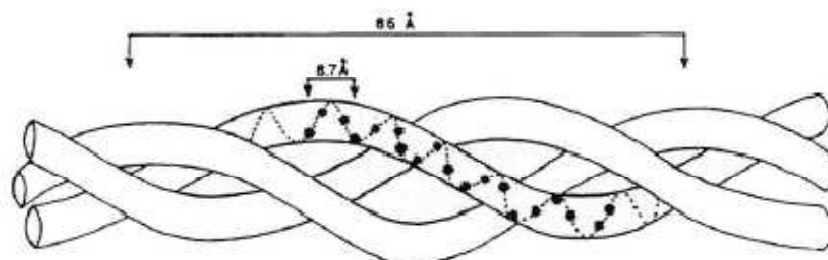


Figure 4 Représentation schématique de la molécule de tropocollagène (modifié à partir de [9])

Une fibrille est formée de cinq molécules de procollagène qui se rassemblent de façon quasi hexagonale. Un ensemble régulièrement espacé de fibrilles compose les lamelles de collagènes. Les mesures par diffraction de rayons X ont permis de déterminer le

diamètre de fibrilles et leur distance centre à centre qui valent respectivement 31 nm et 62 nm en moyenne [10,11,12]. Au centre de la cornée, le stroma cornéen contient plus de 300 lamelles, chacune mesurant 1 à 2 μm , parallèles à la surface et se différenciant l'une par rapport à l'autre par une rotation entre 0° et $\pm 90^\circ$ de leur orientation par rapport à la surface (figure 5) [9]. La régularité de cet arrangement est indispensable à la transparence de la cornée.

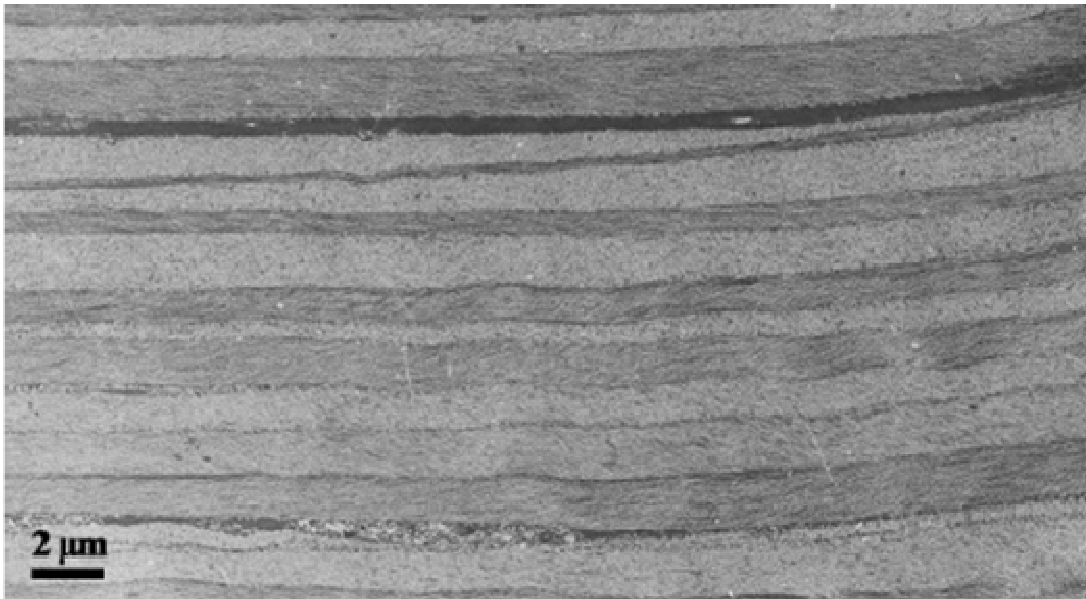


Figure 5 Micrographe du stroma cornéen montrant l'organisation des lamelles du stroma⁴

Les kératocytes qui ne constituent que 2 à 3% du volume stromal apparaissent comme de longues cellules aplaties et parallèles aux lamelles de collagène. Ils forment un réseau tridimensionnel dans lequel les cellules sont liées les unes aux autres, contribuant ainsi à la stabilité, la forme et la régularité de la structure cornéenne.

La membrane de Descemet, légèrement plus mince que la couche de Bowman (8 à 10 μm), forme une barrière protectrice entre le stroma et l'endothélium. Elle est riche en différentes molécules dont la fibronectine, la laminine, des collagènes de types IV et VIII ainsi que des protéoglycanes.

L'endothélium a un rôle fondamental dans l'entretien de la transparence de la cornée. Pour contrôler son état d'hydratation, il agit comme une pompe à eau en assurant en permanence des mouvements ioniques entre le stroma et l'humeur aqueuse. Mesurant entre 4 et 6 μm , cette monocouche cellulaire a un aspect très uniforme, avec

⁴ De Michèle Savoldelli, Hôpital Hôtel Dieu Paris

une densité cellulaire d'environ 3500 cellules/mm². Ses cellules ont une morphologie régulière hexagonale en partie due à la présence de filaments d'actine reliant les cellules les unes aux autres au niveau apical (côté humeur aqueuse).

L'endothélium cornéen mature ne prolifère pas. Ainsi, une fois cette couche monocellulaire formée et bien différenciée, les cellules endothéliales restent quiescentes⁵. En cas de traumatisme localisé, les cellules endothéliales voisines s'étalent, augmentent de taille et comblent l'espace, ce qui fait de l'endothélium une zone extrêmement fragile qu'il est important de préserver, notamment lors d'interventions chirurgicales. Le stress, le vieillissement, des conditions pathologiques diverses sont des facteurs qui entraînent une diminution de la densité cellulaire avec une augmentation de la taille des cellules (polymégatisme) et une perte de leur morphologie hexagonale (pléomorphisme). Lorsque la densité cellulaire descend en dessous d'un certain seuil (500 – 1.000 cellules/mm²), la fonction de pompe de l'endothélium est altérée, ce qui entraîne une surhydratation de la cornée, conduisant à la formation d'un œdème. Ce dysfonctionnement des cellules endothéliales compromet la transparence cornéenne et conduit inévitablement à une greffe.

1.3. Les pathologies oculaires traitées au laser

De nombreuses pathologies oculaires peuvent être traitées par une grande variété de lasers. Cette section donne une vue d'ensemble des différents effets physiques exploités et des pathologies concernées. Les principaux paramètres étant la longueur d'onde, la durée de l'interaction laser-tissu et le taux de répétition. Nous verrons ensuite comment ces paramètres peuvent être exploités pour optimiser la chirurgie du segment antérieur de l'œil. Un résumé des applications est présenté dans le tableau 2 [13].

⁵ Cellules ne se divisant pas

Lasers	Longueur d'onde	Effet sur le tissu	Application ophtalmologique
Excimère	193 nm	Photo-ablation	<ul style="list-style-type: none"> • Kératoplastie du stroma antérieur et épithélial • Photokératectomie réfractive • LASIK
Argon	488-514 nm	Photocoagulation	<ul style="list-style-type: none"> • Photocoagulation rétinienne • Iridiotomie • Trabéculotomie • Iridioplastie • Sclérostomie
Krypton	647 nm	Photocoagulation	<ul style="list-style-type: none"> • Photocoagulation rétinienne
Diode	810 nm	Photocoagulation	<ul style="list-style-type: none"> • Cyclophotocoagulation • Photocoagulation rétinienne • Iridiotomie • Trabéculoplastie • Sclérostomie
Ytterbium	1030-1050 nm	Photo-disruption	<ul style="list-style-type: none"> • Femto-LASIK • Greffe de cornée • Presbytie • Intracore • Chirurgie de la cataracte
Néodyme :YAG		Photocoagulation	<ul style="list-style-type: none"> • Capsulotomie • Cyclophotocoagulation • Chirurgie de la cataracte
Continue	1064 nm		
pulsé		Photodisruption	<ul style="list-style-type: none"> • Photocoagulation rétinienne • Iridiotomie • Trabéculoplastie • Sclérostomie
CO2	10 600 nm	Photoablation	<ul style="list-style-type: none"> • Blépharoplastie • Carcinome conjonctival

Tableau 2 : État de l'art des interventions laser dans le traitement des pathologies oculaires

- Le premier laser ayant servi cliniquement est le laser rubis dès 1961 pour ses propriétés de photo-ablation. Il n'est cependant plus utilisé aujourd'hui.
- Le laser argon entraîne une dénaturation des protéines par effet thermique à l'origine d'une nécrose de coagulation.
- Le laser krypton est également utilisé pour son effet coagulant induit par la chaleur.
- Émettant dans l'UV, le laser excimer offre la possibilité de rompre les jonctions intermoléculaires. Il est exclusivement utilisé pour la chirurgie réfractive, opération au cours de laquelle le rayon de courbure de la cornée est corrigé par ablation du tissu
- Le laser à CO₂ a pour effet de carboniser ou vaporiser les tissus.
- Les lasers à néodyme:YAG (*Yttrium Aluminium Garnet*) permettent de générer, en mode continu, une photo-coagulation thermique et en mode pulsé, des effets photo-mécaniques.

Aujourd'hui, ce dernier type de laser est remplacé par les lasers à diode, plus compacts et économiques, et permettant d'obtenir les mêmes effets thermiques. Pour la chirurgie de la cornée, les effets mécaniques sont obtenus grâce aux lasers femtosecondes à ytterbium ou à néodyme: verre.

1.3.1. Les pathologies de la tunique externe pouvant être traitées au laser

1.3.1.1. La greffe de cornée

La kératoplastie, ou greffe de cornée, est une procédure chirurgicale impliquant le remplacement d'une partie ou de la totalité d'une cornée pathologique par la cornée saine d'un donneur récemment décédé [14,15] (figure 6). Il s'agit de la plus ancienne, de la plus fréquente et d'une des plus efficaces greffe de tissu. Environ 100.000 procédures sont effectuées chaque année dans le monde [16,17,18].

En plus du fait que la cornée ne soit pas vascularisée, l'œil est pourvu d'un privilège immunologique. Cette propriété a été rapportée en 1948 par Medawar qui a observé la tolérance de tissus greffés dans différents sites anatomiques privilégiés : le cerveau, les organes sexuels et la chambre antérieure de l'œil. De ce fait, lors des greffes

de cornée, peu de complications sont liées à une incompatibilité immunologique, et le taux de rejet est très faible [19,20].

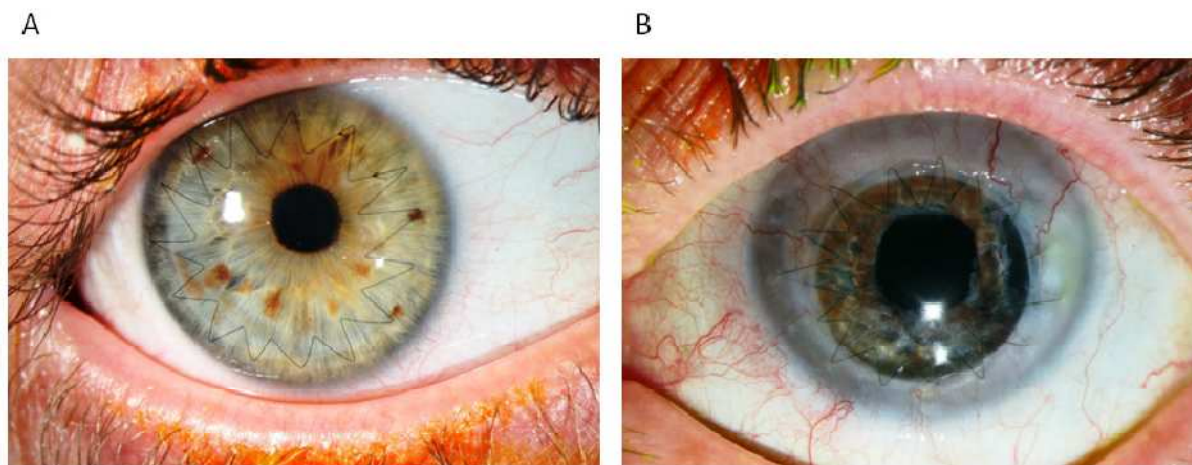


Figure 6 : Kératoplastie pour des opacités kératoconiques localisées (A) et des opacités œdémateuses diffuses(B)⁶. Le kératocône est une pathologie cornéenne évoluant progressivement. Elle se caractérise par un amincissement du stroma qui conduit la cornée à prendre une forme conique, entraînant une perte de la fonction visuelle sous forme de myopie ou d’astigmatisme.

Les troubles optiques induits par une opacification de la cornée constituent la principale raison pour préconiser une greffe. Ce type d’opération est également indiqué pour des raisons mécaniques, par exemple, afin de préserver l’intégrité de l’œil lorsque la cornée est trop fine voire perforée ou pour le traitement de certaines pathologies oculaires telles que les inflammations (uvéïtes), infectieuses ou non infectieuses. Les études antérieures et les registres locaux et nationaux donnent pour ces principales indications les chiffres répertoriés dans le tableau 3 [21,22,23,24,25].

Indication :	Disfonctionnement des cellules endothéliales	Infection	Dystrophies	Échec de greffes
Proportion des patients :	30 à 50 %	10 à 20 %	10 à 20 %	5 à 10 %

Tableau 3 : Principales indications de greffes de cornées [5].

Les échecs de greffes sont fréquemment dus à la perte de cellules endothéliales induite par l’intervention chirurgicale intraoculaire.

⁶ Florent Aptel, hôpital Édouard Herriot, Lyon, [5]

1.3.1.2. Le glaucome (intervention dans la sclérotique)

Le glaucome est une maladie multifactorielle qui se caractérise par la dégénérescence progressive des cellules ganglionnaires de la rétine, ce qui entraîne une forte atrophie du nerf optique et engendre une baisse progressive de la vision pouvant aller jusqu'à la cécité [26,27]. Le glaucome étant la seconde cause de cécité dans le monde après la cataracte, le nombre de personnes atteintes de cette pathologie est estimé entre 80 et 105 millions, dont environ 5 millions avec une perte totale de la vue [30,31]. Différents facteurs de risques ont été identifiés : une pression intraoculaire élevée, les antécédents familiaux, l'origine africaine, l'âge (à partir de 50 ans) et la myopie [28]. A ce jour, la pression intraoculaire élevée est le facteur le plus étudié car c'est le seul qui puisse être traité cliniquement.

La pression intraoculaire peut être régulée par un équilibre entre la production d'humeur aqueuse par le corps ciliaire et son drainage par le trabéculum. L'humeur aqueuse est évacuée de la chambre postérieure vers la chambre antérieure par l'angle irido-cornéen qui correspond à la zone de transition entre la cornée, la sclère, l'iris et le corps ciliaire. Elle est alors absorbée par le trabéculum, une bande prismatique triangulaire, disposée en anneaux parallèles et située au niveau du limbe (zone de jonction entre la cornée et la sclère) pour finalement rejoindre la circulation générale des veines.

La majorité des glaucomes est due à une résistance accrue du drainage de l'humeur aqueuse par le trabéculum du fait d'un rétrécissement de l'espacement intercellulaire. Les études cliniques antérieures ont démontré que le pourcentage de patients développant un glaucome augmente rapidement dès que la pression intraoculaire dépasse 21 mm de mercure (3.10^3 Pa), ce qui est encore plus flagrant pour des pressions entre 26 et 30 mm de mercure [28,29]. L'un des buts du traitement est donc de réduire la pression intraoculaire avant la perte de vision. Le traitement recommandé est progressif et commence par l'administration de médicaments. Puis lorsque le seuil d'indication thérapeutique est atteint, une intervention chirurgicale aujourd'hui majoritairement manuelle est préconisée [32,33]. L'échec des traitements médicamenteux est fréquent, par conséquent la chirurgie est souvent nécessaire. Ainsi, en France, 25% des patients sont opérés deux ans après leur première apparition d'un

glaucome [34] et en 2005 plus de 1600 interventions ont été effectuées [35] pour presque 400 000 aux USA chaque année [36,37].

1.4. État de l'art de la greffe de cornée

1.4.1. Protocoles chirurgicaux

La greffe de pleine épaisseur (kératoplastie transfixiante) est la plus commune des interventions de greffe. Le remplacement de la totalité de la cornée donne d'excellents résultats visuels pour le patient souffrant de différents degrés d'œdèmes [38,39]. Cependant, la kératoplastie transfixiante peut engendrer de nombreuses complications. L'exposition complète du globe oculaire peut provoquer des hémorragies intraoculaires et augmenter les risques d'infections postopératoires [40,41,42]. L'ouverture large peut causer de l'astigmatisme retardant la récupération visuelle et affaiblir le globe oculaire [42,43,45]. De plus, le remplacement de l'endothélium, parfois inutile, augmente les risques immunologiques de rejet et diminue la survie à long-terme du greffon du fait de la perte continue des cellules endothéliales.

La greffe lamellaire est devenue de plus en plus répandue ces 10 dernières années [46,47,48,49]. Seule la partie pathologique de la cornée est alors remplacée par du tissu cornéen sain d'un donneur. Plusieurs formes de kératoplasties lamellaires ont été développées car ce type de chirurgie présente plusieurs avantages (figure 7). Il s'agit d'une opération moins invasive qui diminue les risques d'infections. L'intégrité, la robustesse et la qualité de l'œil sont préservées. Dans le cas des greffes lamellaires antérieures, c'est-à-dire sans remplacement de l'endothélium, les risques de rejets immunologiques sont fortement atténués et l'efficacité à long-terme est grandement améliorée.

La plupart des greffes transfixiantes ou lamellaires sont aujourd'hui effectuées manuellement ou à l'aide d'un microkératome⁷. En kératoplastie transfixiante, un trépan est généralement utilisé pour couper la cornée du patient et celle du donneur. Le greffon est ensuite positionné sur l'œil receveur et suturé avec un fil très fin en nylon. Le principal facteur de recouvrement visuel après une greffe transfixiante est le niveau

⁷ Rabot à lame de diamant permettant la découpe d'un capot cornéen

d'astigmatisme induit par la découpe ou la suture. Pour la greffe lamellaire manuelle, un scalpel « lamellaire » est le plus souvent utilisé. Dans le cas des greffes lamellaires antérieures, l'usage d'un microkératome chirurgical semi-automatique est également possible. Le pronostic de succès est alors lié à la qualité et à la régularité des surfaces des lamelles. Cependant, cette procédure demeure encore limitée du fait des difficultés à obtenir des surfaces très régulières – ce qui limite la récupération visuelle et à cause des risques de perforation de la membrane de Descemet pour les greffes lamellaires profondes. Dans ce dernier cas, le chirurgien est contraint de réaliser une greffe de pleine épaisseur [50].

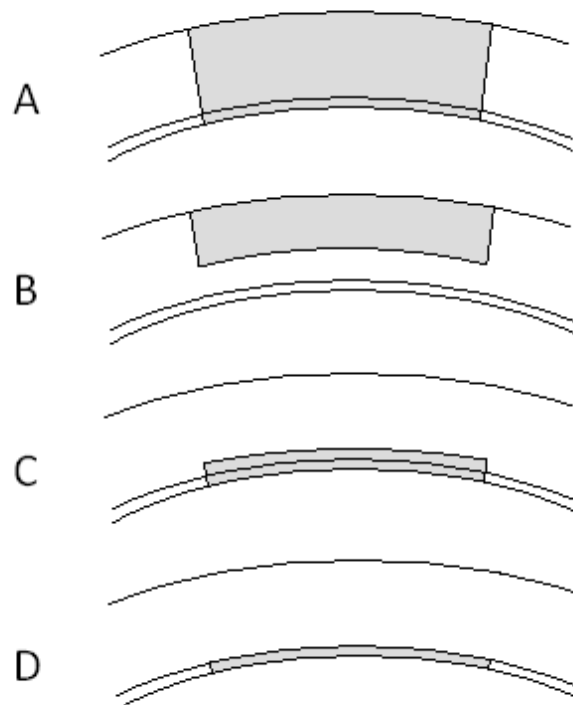


Figure 7 : Schéma des différentes pratiques de greffe, (A) kératoplastie transfixiante, (B) kératoplastie lamellaire antérieure, (C) kératoplastie lamellaire postérieure profonde, (D) kératoplastie endothéliale.

Au cours de cette dernière décennie, les lasers femtosecondes sont apparus comme des outils très performants pour la réalisation de greffes lamellaires ou transfixiantes. Leur première application clinique en ophtalmologie a concerné la préparation du capot lors des interventions *Laser In Situ Keratomileusis* (LASIK), dans le cadre de la chirurgie réfractive. Ils peuvent ainsi remplacer le microkératome [50,51,52].

Leur application s'est plus récemment étendue à la greffe de cornée [53,54,55,56]. Il a pour avantage d'améliorer la cohésion entre la découpe de la cornée du patient et celle du greffon grâce à de meilleures flexibilité, précision et reproductibilité [57,58,59,60]. Ce type de laser donne accès à une grande diversité de géométries des greffons. Ainsi, la surface de contact peut être étendue et l'intrication peut être optimisée : la tenue du greffon et son adéquation avec le lit receveur sont améliorées, diminuant du même fait la durée de récupération et les risques d'astigmatisme. Les avantages sont similaires pour les greffes lamellaires puisque la profondeur, l'épaisseur et les surfaces de coupes sont mieux contrôlées.

1.4.2. Les systèmes cliniques

Cinq systèmes laser femtosecondes sont actuellement commercialisés en chirurgie ophtalmologique dont le dernier très récemment.

- Intralase FS (Abott Medical Optics, Santa Ana, Californie, États-Unis).
- Femtec (PerfectVision, Heidelberg, Allemagne).
- Visumax (Carl Zeiss Meditec, Jena, Allemagne).
- Femto LDV (anciennement Da Vinci, Ziemer Ophthalmic Systems AG, Port, Suisse).
- Ultraflap (Alcon-Wavelight AG, Erlangen, Allemagne).

Les caractéristiques principales de ces systèmes sont résumées dans le tableau 4 excepté pour l'Ultraflap, pour lequel aucun communiqué détaillé n'est disponible, excepté une étude chirurgicale [61]. Les quatre premiers systèmes émettent dans l'infrarouge proche, juste au dessus de $1 \mu\text{m}$. Les trois premiers utilisent un oscillateur, suivi d'un amplificateur régénératif et délivrent donc des impulsions femtosecondes de quelques μJ à des taux de répétition entre 30 et 500 kHz. Par contre, le femto LDV n'est composé que d'un oscillateur, délivrant quelques dizaines de nJ à une cadence de l'ordre du MHz. Ce système permet une succession de plus petites bulles de cavitation améliorant la qualité de surface des coupes mais il complexifie nettement les contraintes sur le système optique de délivrance du faisceau. La nécessité d'une forte ouverture numérique rend délicate la propagation en profondeur d'un tel faisceau et donc une éventuelle application à la greffe de cornée.

	Intralase FS	Femtec	Visumax	Femto LDV
Système laser	Oscillateur amplifié	Oscillateur amplifié	Oscillateur fibré amplifié	Oscillateur non amplifié
Longueur d'onde	1 μm	1 μm	1 μm	1 μm
Taux de répétition	30, puis 60 puis 150 kHz	40 puis 80 kHz	500 kHz	>MHz
Durée des impulsions	400 à 800 fs	500 à 800 fs	200 à 600 fs	200 à 300 fs
Énergie	$\sim 1\mu\text{J}$	$\sim 1\mu\text{J}$	$< 1\mu\text{J}$	$\ll 1\mu\text{J}$
Taille focale	Qq μm	Qq μm	$\sim \mu\text{m}$	$< \mu\text{m}$
Lentille d'aplanation	Plane (bientôt disponible incurvé)	Incurvé	Incurvé	Plane
Option kératoplastie	Oui	Oui	Oui	Non
Dimension	Assez volumineux	Assez volumineux	Assez volumineux	Plutôt compacte et amovible

Tableau 4 : Caractéristiques des lasers cliniques [62,63,64,65]

Les systèmes Intralase FS et Femto LDV utilisent un *cône d'aplanation* permettant d'obtenir une surface de cornée plane, tandis que le Femtec et le Visumax utilisent une fenêtre incurvée respectant mieux les contraintes physiologiques de la géométrie cornéenne. La durée totale de la procédure varie entre 10 s et 1 mn, suivant les systèmes et la géométrie de découpe. Au moins les trois premiers proposent actuellement une option greffe de cornée.

Les lasers actuellement commercialisés ont tous été initialement développés pour la chirurgie réfractive, donc pour la découpe peu profonde de tissus transparents. Leurs caractéristiques de focalisation, d'énergie et de profondeur de pénétration n'ont donc pas optimisées pour la greffe de cornée. En effet, selon l'expérience de nos partenaires cliniques, la dissection est souvent incomplète et irrégulière (présence de ponts tissulaires) [66,67]. Par conséquent, les greffes réalisées avec ces systèmes concernent essentiellement des pathologies localisées, tels que les kératocônes ou certaines infections [68,69].

Chapitre 2 PROPRIÉTÉS OPTIQUES DE LA CORNÉE

Le chapitre 2 décrit les propriétés optiques de la cornée et leur lien avec la présence de pathologies et en particulier d'œdèmes. Cela a pour effet d'augmenter l'épaisseur de la cornée et de modifier sa microstructure. Ces variations désordonnent le tissu, ce qui a une incidence directe sur les propriétés de diffusion de la lumière et donc sur la transparence de la cornée. Ce phénomène est fortement dépendant de la longueur d'onde de la lumière. Les profondeurs de pénétration des lasers peuvent donc être optimisées en décalant leur spectre d'émission vers l'infrarouge. Les cornées humaines dont nous disposons pour nos expériences souffrent systématiquement de la présence d'œdèmes. Un traitement physico-chimique de déturgescence permet de contrôler leur degré d'œdèmes jusqu'à leur redonner leur épaisseur et leur transparence physiologique. Cette méthode est utilisée notamment pour redonner sa transparence à la cornée du donneur au préalable d'une intervention de greffe de cornée. Elle nous permet d'étudier en détail les liens entre les propriétés de transparence du tissu et la perturbation de leur structure⁸.

2.1. Indice de réfraction et biréfringence

2.1.1. Indice de réfraction

Les expériences par diffraction de rayons X menées par Leonard *et al.* [70] ont permis de déterminer la fraction volumique des fibrilles de collagène dans le tissu sain et d'en déduire indirectement qu'il existe une différence d'indice de réfraction entre les fibrilles de collagène et la matrice extra-fibrillaire. Ces fibrilles ne pouvant être considérées comme isolées, il est difficile de mesurer les indices respectifs de ces éléments. Cependant, la technique utilisée donne une information sur le volume et permet d'évaluer l'indice de réfraction total par la relation de Gladstone-Dale.

⁸ Une grande partie du travail expérimental présenté dans ce chapitre a été effectué dans le cadre du projet post-doctoral de Donald Peyrot qui a été mené en parallèle de cette thèse.

L'indice réfractif total n_{tot} d'un milieu complexe peut être exprimé comme la somme partielle des indices réfractifs des éléments qui le composent, n_1, n_2, \dots, n_N , pondérés par la fraction volumique de chaque composant, f_1, f_2, \dots, f_N ,

$$n_{tot} = n_1 f_1 + n_2 f_2 + \dots + n_N f_N; \quad (2-1)$$

Dans une cornée humaine, Leonard *et al.* [70] ont établi que l'indice des fibrilles est de 1,41, contre 1,36 pour la matrice extra-fibrillaire, avec une fraction volumique des fibrilles de 0,22. En appliquant la loi de Gladstone-Dale, l'indice moyen pour le stroma calculé est de 1,37, ce qui est en accord avec le résultat obtenu par Maurice dans une étude antérieure [71].

2.1.2. Biréfringence

Le tissu cornéen présente deux propriétés de biréfringence : l'une est intrinsèque et l'autre est une biréfringence de forme [71,72]. La première est issue de la structure longitudinale des molécules qui composent les fibrilles de collagène. La lumière polarisée linéairement suivant l'axe des fibrilles se propage plus lentement que celle polarisée perpendiculairement à ces mêmes fibrilles. La biréfringence de forme est attribuée aux anisotropies du stroma organisé en lamelles de collagène. Chaque lamelle contribue indépendamment à un retard dont l'axe lent est orienté le long de l'axe des fibrilles qui la composent. La biréfringence globale de la cornée correspond à la contribution cumulée des lamelles sur l'intégralité du stroma. Une autre approche consiste à assimiler la cornée à un cristal biaxe incurvé dont l'axe rapide principal est perpendiculaire à la surface.

Un grand nombre de situations cliniques en ophtalmologie (chirurgie ou diagnostic) impliquent une lumière incidente polarisée perpendiculairement à la surface. Cependant, cet axe entraîne peu de modifications de la polarisation car la biréfringence cornéenne est essentiellement influente selon les axes tangentiels à la surface.

Ces propriétés de biréfringence ont été étudiées par des mesures de transmission de la polarisation croisée au travers d'une cornée de lapin, en faisant tourner la polarisation du faisceau incident sur 360° [12]. Les résultats sont présentés en figure 8 et

montrent l'influence de cette biréfringence bien que le minimum de transmission soit strictement positif lorsque polariseur et analyseur sont perpendiculaires.

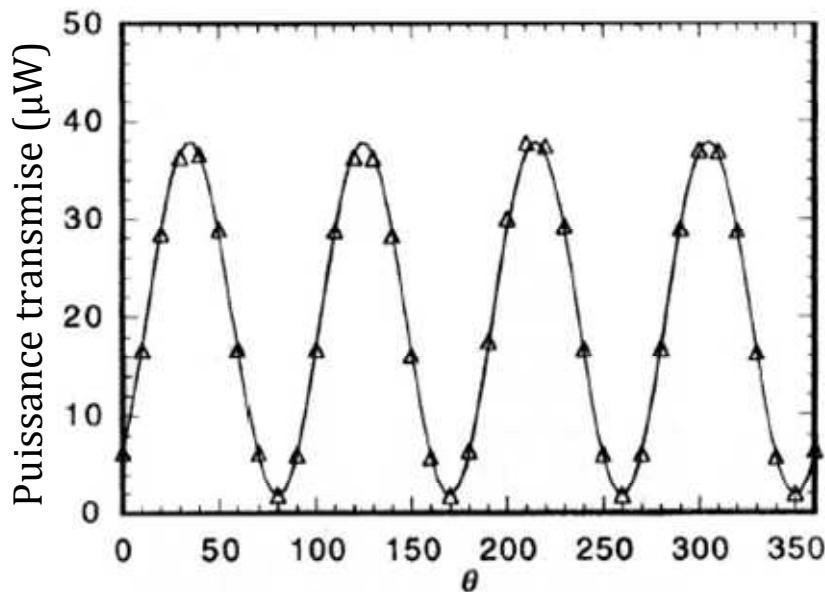


Figure 8 : Puissance transmise en configuration polariseur/analyseur au travers d'une cornée de lapin enregistrée en tournant la polarisation incidente sur 360°. La ligne solide est une interpolation de l'évolution des données [12].

2.2. Caractérisation des propriétés de transmission de la cornée

2.2.1. Protocole de déturgescence

Afin de caractériser les propriétés optiques de transmission des cornées, nous avons mené une série d'expériences sur des cornées humaines fournies par la Banque française des yeux. Ces échantillons sont exclusivement réservés à un usage scientifique lorsque leur qualité les rend impropres à la greffe (mauvaise qualité endothéliale, défauts épithéliaux, aire transparente insuffisante), conformément aux directives de la déclaration d'Helsinki et à la législation française.

Les cornées sont prélevées sur des personnes récemment décédées et conservées dans un milieu de conservation pour organo-culture, entre 31°C et 35°C [74,75]. Au cours des dix jours qui suivent leur prélèvement, la qualité des cornées est évaluée grâce à des

tests microbiologiques, à l'observation de leur aspect général (anomalies du globe extérieur et signes d'opération antérieure, abrasions et défauts épithéliaux, opacités stromales et formes cornéennes anormales : kératocônes et micro- ou mégalo-cornée notamment, état de la chambre antérieure : forme, présence de sang) et à l'évaluation de leur qualité endothéliale. Généralement réalisée par microscopie en lumière transmise (contraste de phase), cette analyse nécessite de mettre en évidence les cellules endothéliales par induction du gonflement de l'espace intercellulaire à l'aide d'une solution hypotonique (NaCl 0,9%). L'utilisation d'un colorant vital (*i.e.* le bleu trypan) permet de mettre en évidence les cellules mortes ou nécrotiques et les parties dénudées de la membrane de Descemet. Après l'évaluation de la densité de cellules endothéliales, les cornées propres à la greffe, *i.e.* présentant une densité cellulaire supérieure à 2.000 cellules/mm², sont séparées des autres [76,77].

Les cornées rejetées pour la greffe et destinées à un usage scientifique peuvent être conservées dans un milieu de culture 4 à 5 semaines après leur prélèvement avant d'être utilisées au laboratoire. Compte tenu de leur mauvaise qualité endothéliale, elles sont généralement fortement œdémateuses au moment des expérimentations (leur épaisseur pouvant atteindre le double de l'épaisseur physiologique). Elles représentent donc un bon modèle pour nos études de greffes de cornées pathologiques par laser.

Afin de comparer le comportement en transmission d'une cornée œdémateuse avec celui d'une cornée saine en fonction de la longueur d'onde, certains échantillons sont placés dans un milieu leur permettant de retrouver une épaisseur physiologique normale et leur transparence. Ce processus est appelé *déturgescence*. Il est également utilisé pour les cornées destinées à la greffe, dans ce cas les greffons sont incubés dans le milieu de déturgescence 2 à 3 jours avant l'opération. Ce milieu contient des macromolécules qui augmentent la pression osmotique du milieu de base, ce qui permet d'entraîner une déshydratation du stroma [78]. Dans le cadre de nos expérimentations, les cornées sont mises en déturgescence 48 à 72 h dans une solution de Hanks, supplémentée avec un polymère glucidique de 500 kDa⁹, le Dextran 500¹⁰, typiquement utilisé à une concentration de 5%.

Au cours du projet postdoctoral de Donald Peyrot effectué au sein du groupe et en parallèle de cette thèse, nous avons étudié les influences du temps d'incubation et de

⁹ Da=Dalton=atomic mass unit

¹⁰ Sigma-Aldrich, Spruce st, St Louis, États-Unis

la concentration en Dextran du milieu de déturgescence sur l'évolution de l'épaisseur cornéenne afin de pouvoir redonner aux cornées leurs propriétés naturelles (épaisseur d'environ 550 μm et transparence). Quarante-quatre cornées ont été placées dans des milieux de déturgescence contenant 2 à 13% massique de Dextran 500 (2%, 2,9%, 3,9%, 4,8%, 6,5%, 9,1% et 13%). Dans chacune des conditions, l'évolution de la déshydratation du stroma a été suivie en mesurant à intervalle régulier l'épaisseur des échantillons par pachymétrie ultrasonore¹¹. Ces échantillons ont ensuite été fixés dans une solution de glutaraldéhyde puis conservés dans une solution tampon de cacocylate (pH 7,4) afin d'être inclus dans une résine, coupés (coupe de 100 nm à 1 μm d'épaisseur) et analysés en histologie par microscopie optique et en ultrastructure par microscopie électronique en transmission.

La figure 9 représente l'évolution caractéristique de l'épaisseur d'une cornée pour une concentration de Dextran de 4,8 %

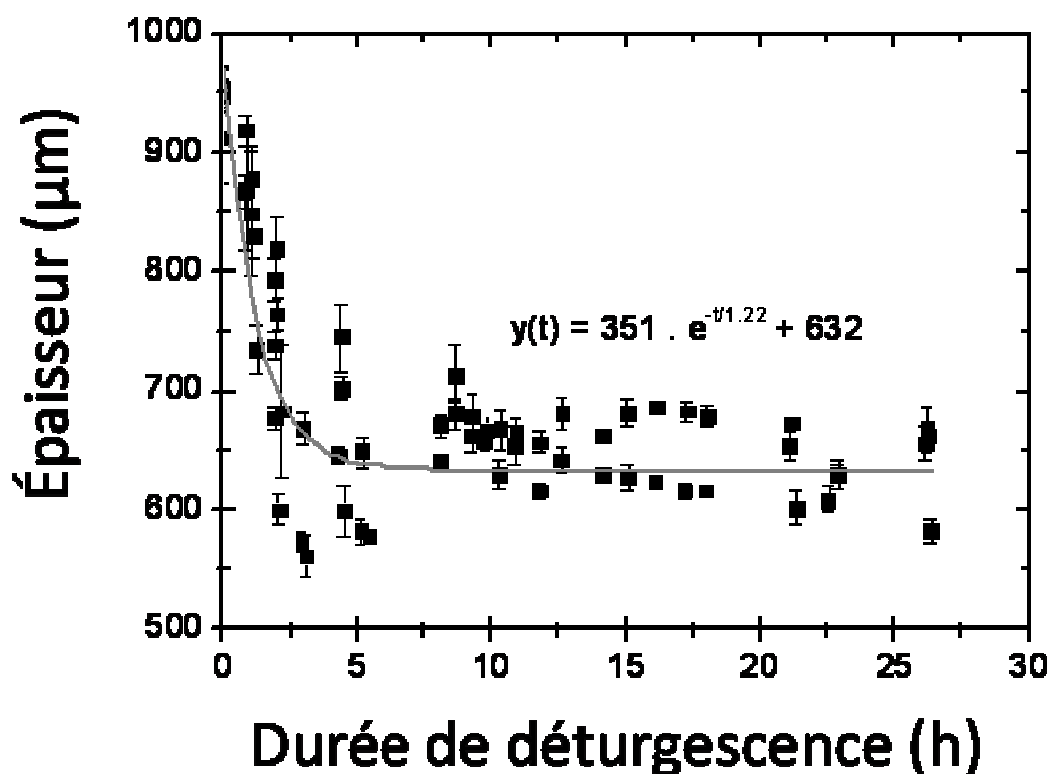


Figure 9 : Évolution caractéristique de l'épaisseur des cornées incubées dans un milieu de déturgescence contenant 4,8% de Dextran 500.

¹¹ Pocket II, Quantel medical, Clermont-Ferrand, France

L'épaisseur des cornées en fonction du temps d'incubation dans le milieu de déturgescence montre une évolution en exponentielle décroissante :

$$y(t) = A_0 e^{-\frac{t}{T_0}} + Y_0, \quad (2-2)$$

où A_0 correspond au paramètre d'épaisseur de cornée en μm , Y_0 à l'épaisseur minimale atteinte, T_0 au temps caractéristique et $Y(t)$ à l'épaisseur au cours du temps.

Cette étude a permis de déterminer la durée d'immersion nécessaire en fonction de la concentration en Dextran 500 pour atteindre une épaisseur donnée (figure 10). L'épaisseur physiologique d'une cornée étant d'environ 500 μm une fois l'épithélium retiré, les échantillons doivent être mis en déturgescence dans des milieux contenant 6 à 8% de Dextran 500.

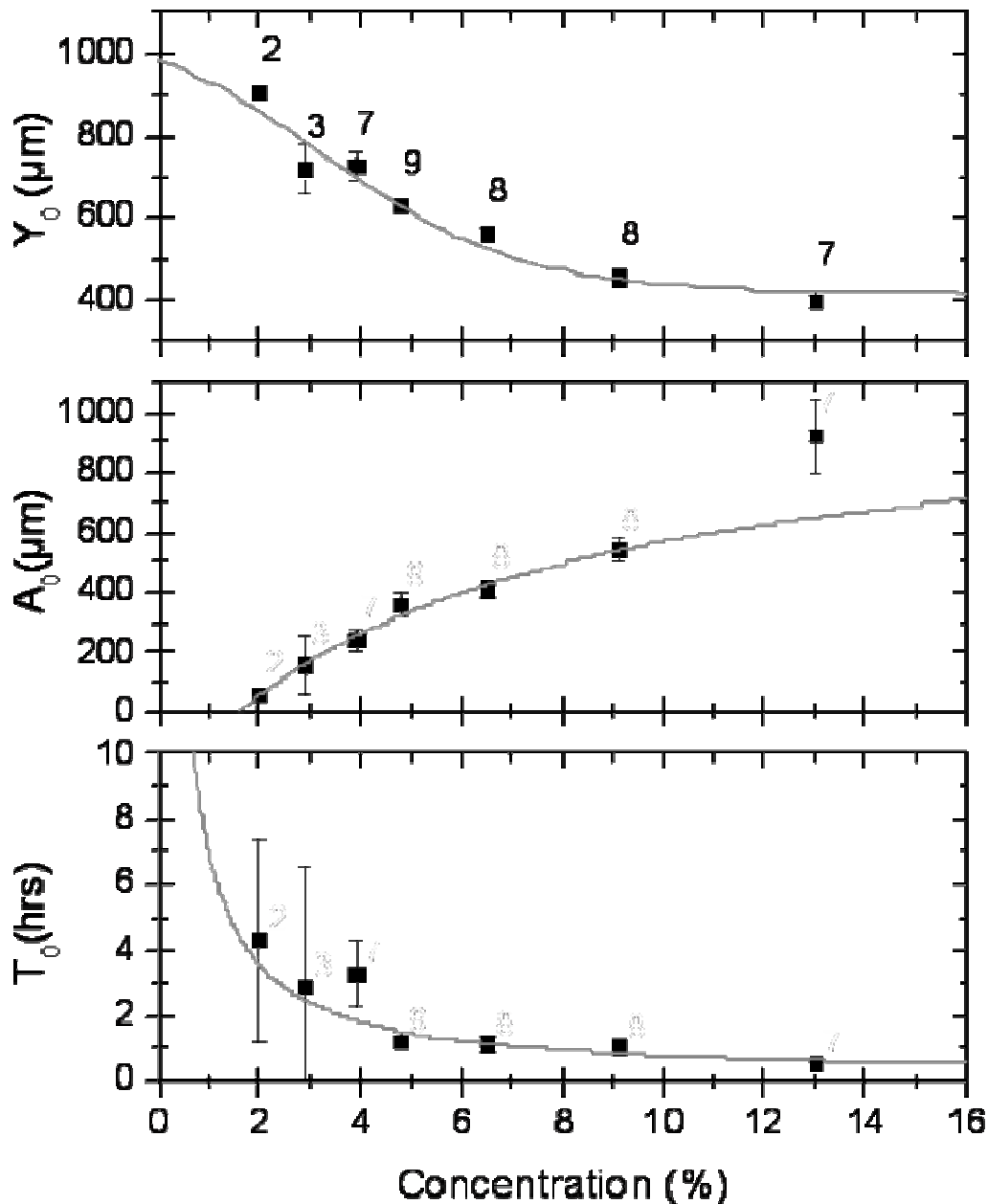


Figure 10 : Épaisseur minimale Y_0 atteignable (en haut), paramètre de déturgescence A_0 (au milieu) et durée de déturgescence caractéristique (en bas) en fonction de la concentration en Dextran 500 calculés à partir de l'équation 2-2

Cependant, bien que cette technique de déturgescence soit efficace, le Dextran est également connu pour être légèrement toxique pour les cellules endothéliales. La figure 11 montre 3 images en ultrastructure du stroma cornéen postérieur, observé en microscopie électronique en transmission, après 12 heures d'incubation dans des milieux de déturgescence contenant 4% (a), 7% (b) et 15% (c) de Dextran 500. Ces traitements ont respectivement conduit à des épaisseurs cornéennes de 850 μm (cornée œdémateuse), 610 μm (cornée saine) et 453 μm (cornée déshydratée).

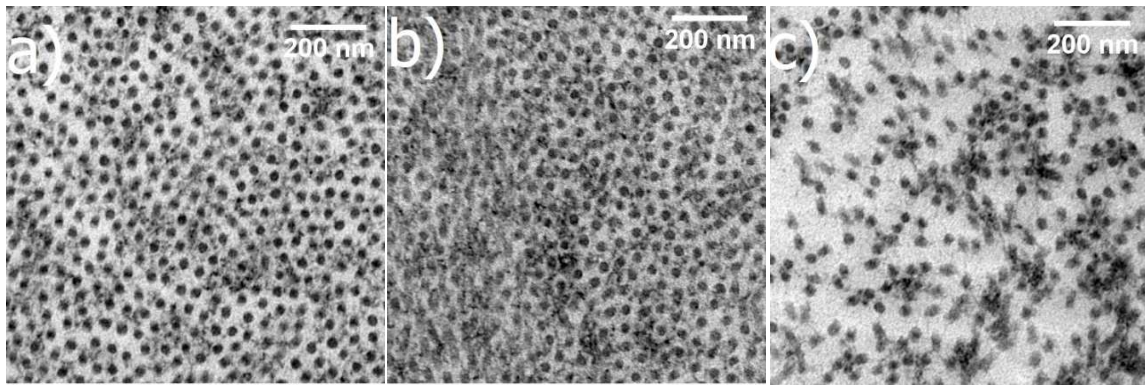


Figure 11 : Microscopie électronique en transmission du stroma postérieur de cornées de : a) 850 μm , b) 610 μm et c) 453 μm d'épaisseur.

Nous verrons ultérieurement en quoi cette structure influence la qualité optique de la cornée. Toutefois, il est d'ores et déjà possible de constater que le collagène stromal de la cornée « saine » (b) présente une structure bien ordonnée, avec un écart inter-fibrillaire régulier, alors que l'écart moyen inter-fibrillaire est plus important et plus distribué dans la cornée œdémateuse (a) bien que sa structure soit encore relativement ordonnée. La dernière, déshydratée (c), montre clairement une structure très désordonnée, démontrant que l'excès de Dextran est fortement délétère pour le tissu cornéen, comme décrit dans la littérature [79,80,81]. Certaines fibrilles sont collées, le potentiel répulsif qui les maintient à distance a donc été dépassé, ce qui provoque des agrégats.

2.2.2. Transparence de la cornée

2.2.2.1. Considérations théoriques

La composition de la cornée est similaire à celle d'autres tissus, telles que la sclère, pourtant elle est transparente. Un grand nombre de théories ont été proposées pour expliquer cette particularité et certains détails méritent encore d'être clarifiés [71,5-93].

Il est généralement admis que la transparence des cornées est étroitement liée à l'organisation spatiale des fibrilles de collagène dans le stroma (90% de la cornée). Deux processus de diffusion peuvent cependant être identifiés. Les fibrilles de collagène agissent comme des diffuseurs allongés dont le diamètre est très petit et la longueur très grande devant la longueur d'onde. De plus leur indice de réfraction est différent de celui

de la matrice extrafibrillaire. On se retrouve donc dans un régime de diffusion dit Rayleigh. Cette théorie démontre que la section efficace de diffusion d'une fibrille individuelle varie avec la longueur d'onde (λ) en λ^{-3} [83,94-96]. La diffusion Rayleigh est plus communément liée à une évolution en λ^{-4} , la différence vient du fait que les fibrilles agissent comme des diffuseurs allongés dans une dimension de l'espace contrairement à la théorie qui se base sur des petits diffuseurs sphériques tel que des particules quasi-ponctuelles.

Dans ses études sur le sujet, Maurice met l'accent sur le fait que si les fibrilles agissaient comme des diffuseurs indépendants, même les cornées saines seraient opaques [83]. C'est donc l'arrangement régulier des fibrilles constaté dans les cornées saines qui permet d'obtenir un indice de réfraction effectif globale suffisamment homogène pour assurer la transparence de la cornée. Les perturbations de la structure de la cornée provoquées par un œdème ou d'autres pathologies entraînent une augmentation de la diffusion et donc une baisse de la transparence. D'un point de vue théorique, la figure de diffusion angulaire vers l'avant est proportionnelle à la transformée de Fourier de la fonction d'autocorrélation de la distribution des fibrilles [5]. Une étude réalisée sur des images d'ultrastructure a permis de mettre en évidence ces variations dans l'ordre des fibrilles à petite, moyenne et grande échelle pour une cornée saine et une cornée œdémateuse. Cette étude est présentée sur la figure 12. Elle met en évidence la structure hexagonale de la distribution des fibrilles de collagène à petite échelle. À moyenne et grand échelle, les trois axes distincts le long desquels la structure est périodique disparaissent au profit d'un spectre annulaire dont le rayon correspond à l'inverse de l'espacement inter-fibrillaire qui reste cependant constant et peu distribué autour de sa moyenne dans les cornées saines. La perte de l'organisation dans les cornées œdémateuses se manifeste par un spectre large, distribué autour des basses fréquences et ne montrant pas de fréquences spatiale privilégiée. L'influence de l'ordre dans la conservation de la transparence cornéenne est intimement lié aux phénomènes de diffusion décrits dans les paragraphes suivants.

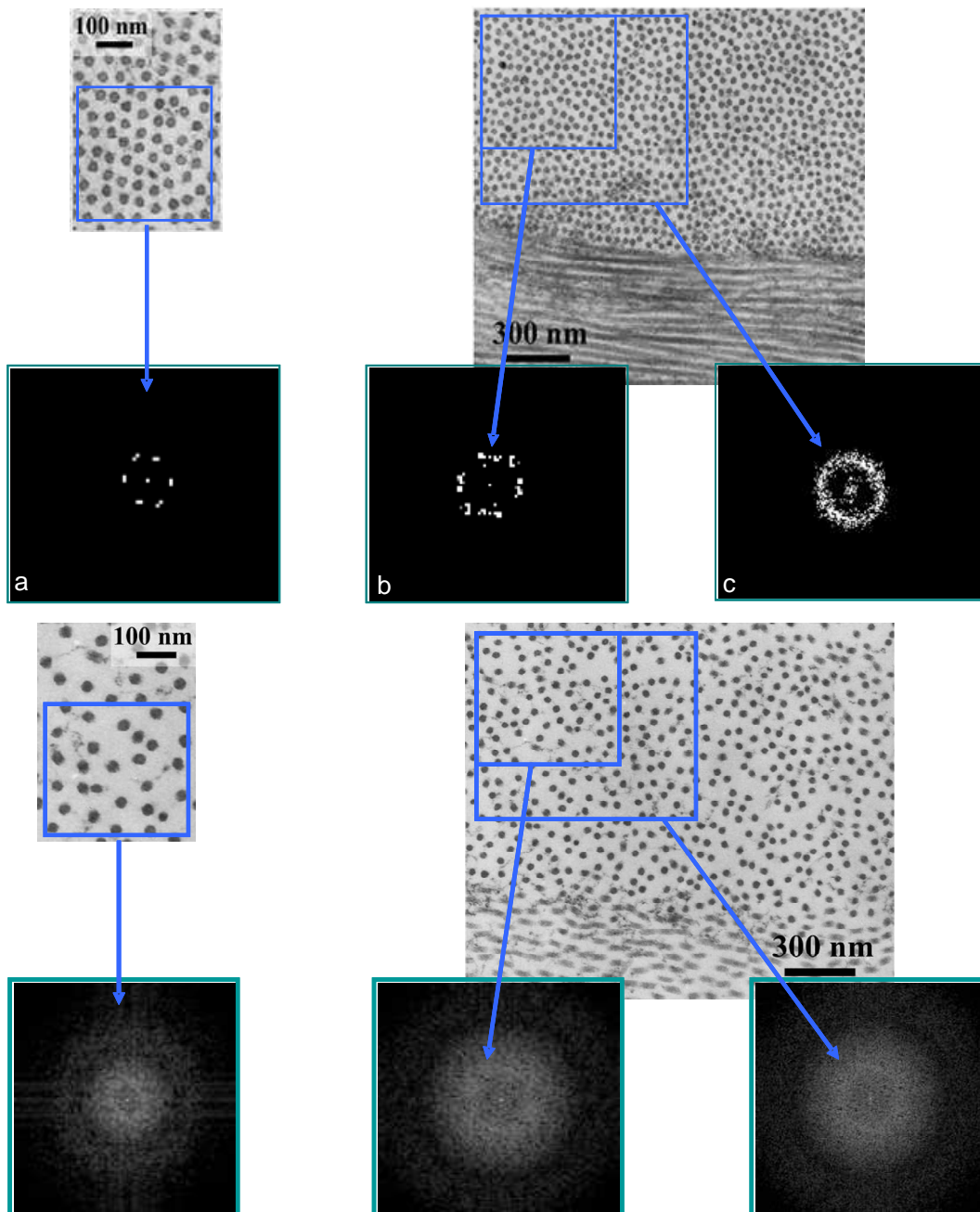


Figure 12 : Démonstration mathématique par analyse de Fourier de l'ordre à petite, moyenne et grande échelle pour une cornée saine (en haut) et une cornée œdémateuse (en bas), pour des zones de a) 300 nm b)600 nm et c) 400 nm de côté.

Une seconde origine de la diffusion provient des structures dont les dimensions sont comparables à la longueur d'onde. Le modèle de diffusion qui décrit ce processus est appelé diffusion de Mie. Cette théorie strictement dite a été développée pour des éléments parfaitement sphériques mais cela reste néanmoins une bonne approximation pour des considérations qualitatives. Les composants de la cornée qui correspondent à

cet ordre de grandeur sont en premier lieu les kératocytes. Ces cellules peuvent être responsables de la faible diffusion résiduelle qui demeure dans les cornées saines. Leur contribution augmente avec leur transformation en myofibroblastes couramment rencontrés dans les cornées œdémateuses [97]. Dans les cornées les plus œdémateuses, on peut retrouver des « lacs » de liquide interstitiel dont les dimensions sont également comparables à la longueur d'onde [79]. Ils se forment entre les lamelles de collagène, et engendrent des variations d'indice de réfraction. Contrairement à la diffusion Rayleigh, la diffusion Mie n'est pas *a priori* fortement dépendante en longueur d'onde. Cependant, cumulée avec la diffusion Rayleigh, elles provoquent une diminution de la dépendance en longueur d'onde globale dès que la cornée est fortement œdémateuse. On constate alors une évolution en λ^{-2} [98].

L'ensemble de ces considérations peuvent être modélisées en exprimant la puissance diffusée en fonction du vecteur de diffusion correspondant à la différence entre le vecteur d'onde de l'onde diffusée \vec{k} et le vecteur d'onde de l'onde incidente \vec{k}_0 :

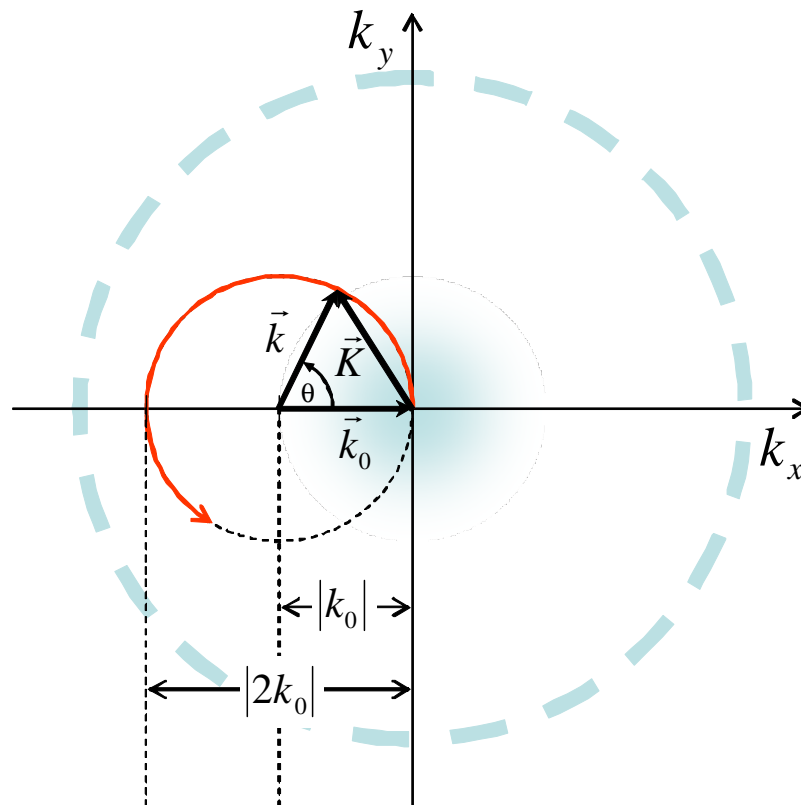


Figure 13 : Orientation des vecteurs d'onde incident et de diffusion et du vecteur de diffusion dans l'espace Fourier

$$\frac{P(\vec{K})}{l} = \frac{|E_0|^2 |\rho(\vec{K})|^2}{2\eta} \times \sigma_{Rayleigh} \quad (2-3)$$

où l est la longueur des fibrilles, E_0 est l'amplitude du champ électrique de l'onde incidente, $|\rho(\vec{K})|^2$ est le module carré de la transformée de Fourier de la fonction de distribution des fibrilles qui est égale à la transformée de Fourier de la fonction d'autocorrélation, η est l'impédance caractéristique du milieu et $\sigma_{Rayleigh}$ est proportionnel à λ^{-3} .

Le fait que la fonction d'autocorrélation apparaisse dans l'équation 2-3 illustre clairement la relation qui lie l'ordre relatif de la disposition des fibrilles et le phénomène de diffusion.

En résumé, on peut retenir deux caractéristiques essentielles pour expliquer la transparence de la cornée :

- La cornée doit être mince ($\sim 550 \mu\text{m}$) et présenter des fibrilles de collagène de diamètre homogène ($\sim 30\text{nm}$), disposées régulièrement, avec une distance inter-fibrillaire moyenne de 60nm . Le maintien de cette valeur dépend de la qualité de la substance fondamentale et de l'état d'hydratation du stroma lié à l'action de l'endothélium.
- La structure régulière de l'arrangement des fibrilles de collagène dans la cornée réduit considérablement leur section efficace de diffusion de la lumière.

2.2.2.2. Résultats expérimentaux

D'un point de vue applicatif, c'est-à-dire dans le cadre du développement d'outil de chirurgie de la cornée par laser, il est important de considérer non seulement la diffusion, mais également l'absorption du tissu cornéen. Afin de pénétrer en profondeur dans la cornée, il est impératif que celle-ci soit suffisamment transparente, sans quoi l'énergie injectée devra être notablement augmentée, ce qui augmente les risques de lésions. Jusqu'à présent, les mesures de spectres de transmission reposaient sur le travail de Boettner et Wolter, dont les résultats, datant de 1960, sont présentés sur la figure 14 [99,100]. Elles pouvaient également être interpolées à partir des coefficients d'absorption des différents composants de la cornée, comme présenté sur la figure 15 [9]. Pour disposer d'une précision suffisante, nous avons affiné les résultats de Boettner et Wolter dont la résolution n'était que de 50 nm dans l'infrarouge. Il a également fallu les compléter par une étude de transmission (résolue en transmission directe et totale)

en fonction du degré d'opacité de la cornée. Dans ce contexte, un montage expérimental a été mis en place afin de mesurer les spectres de la cornée entre 400 nm et 1700 nm, avec des résolutions de 1 à 5 nm (figure 16).

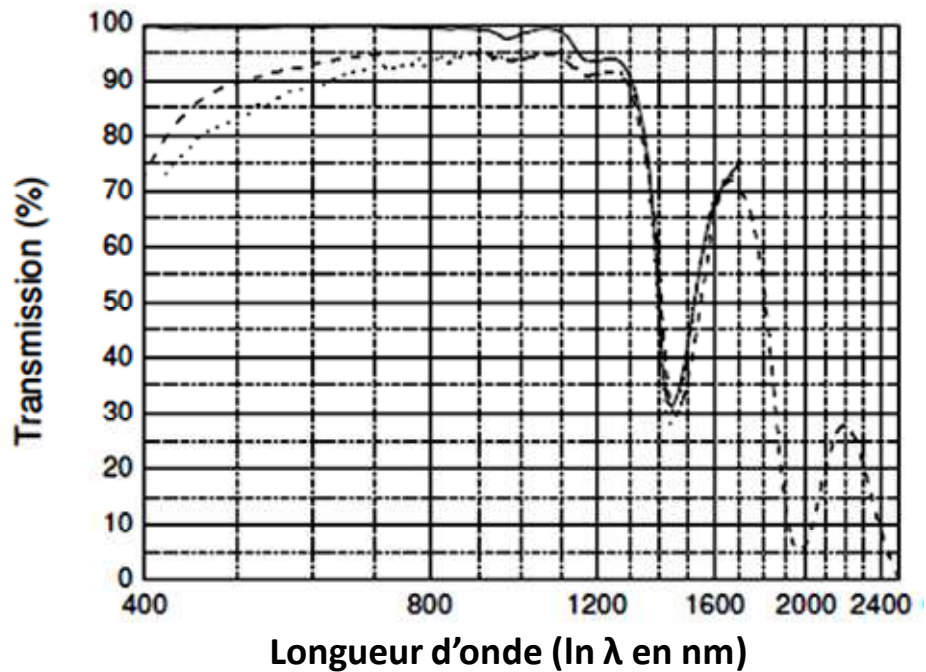


Figure 14 : Spectre de transmission totale d'une cornée saine, tracés à partir des données de Boettner et Wolter (trait d'union), et de nos mesures sur cornée saine (pointillé) et dans le mélange eau/collagène (trait plein) [99,100].

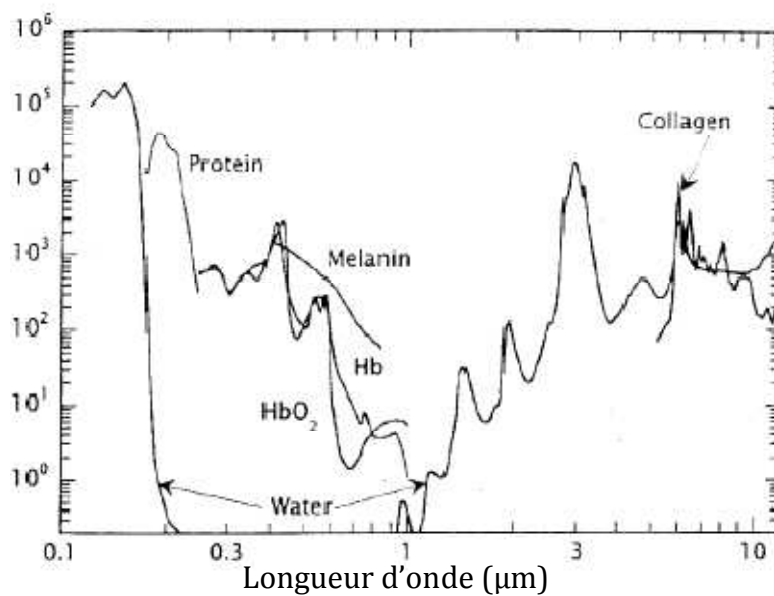


Figure 15 : Coefficient d'absorption des principaux tissus humains[9]

L'association des mesures de transmission (directe et totale) est nécessaire pour quantifier la part de diffusion et d'absorption provoquées par la traversée de la cornée. Les schémas des dispositifs utilisés sont présentés sur la figure 16.

Un premier dispositif (figure 16a) permet de mesurer la transmission « directe » (T_D) ou, plus exactement, la part de lumière qui ne subit qu'une faible déviation par rapport à la direction de l'axe optique du fait des petites variations d'indices de réfraction dans la cornée. La lumière est ensuite collectée par une lentille placée à une certaine distance après la cornée pour être couplée¹² dans une fibre d'environ 100 à 200 μm de cœur et reliée à deux spectromètres (visible et infrarouge). La combinaison des deux permet de couvrir une plage de longueurs d'onde allant de 400 nm à 1700 nm, avec une superposition entre 1000 nm et 1100 nm. La configuration du montage est donc proche d'un système confocal puisque l'angle solide de couplage est très étroit ($\Omega \cong 3\pi \cdot 10^{-8}$ sr). Nous considérons par définition que seuls les photons dont le vecteur d'onde demeure à l'intérieur de cet angle solide ne subissent pas de phénomènes de diffusion. Le dispositif dédié à la mesure de transmission totale T_T , est constitué d'un faisceau collimaté de lumière blanche qui, après avoir traversé la cornée, est détecté grâce à l'utilisation d'une sphère intégrante placée immédiatement après le tissu et reliée aux spectromètres (figure 16b). Cette mesure donne la quantité totale de lumière traversant la cornée et permet de quantifier la proportion absorbée dans la cornée moins environ 4 % de réflexion et une faible partie rétrodiffusée. Pour effectuer ces deux mesures, la cornée est placée dans un porte-échantillon constitué de deux lentilles placées en contact de la cornée et épousant respectivement la courbure antérieure et postérieure de celle-ci. Afin d'éliminer au mieux la réfraction naturelle de la cornée, les surfaces au contact de l'air sont planes et l'indice de réfraction de ces lentilles est comparable à celui de la cornée.

¹² focalisée puis injectée dans une fibre

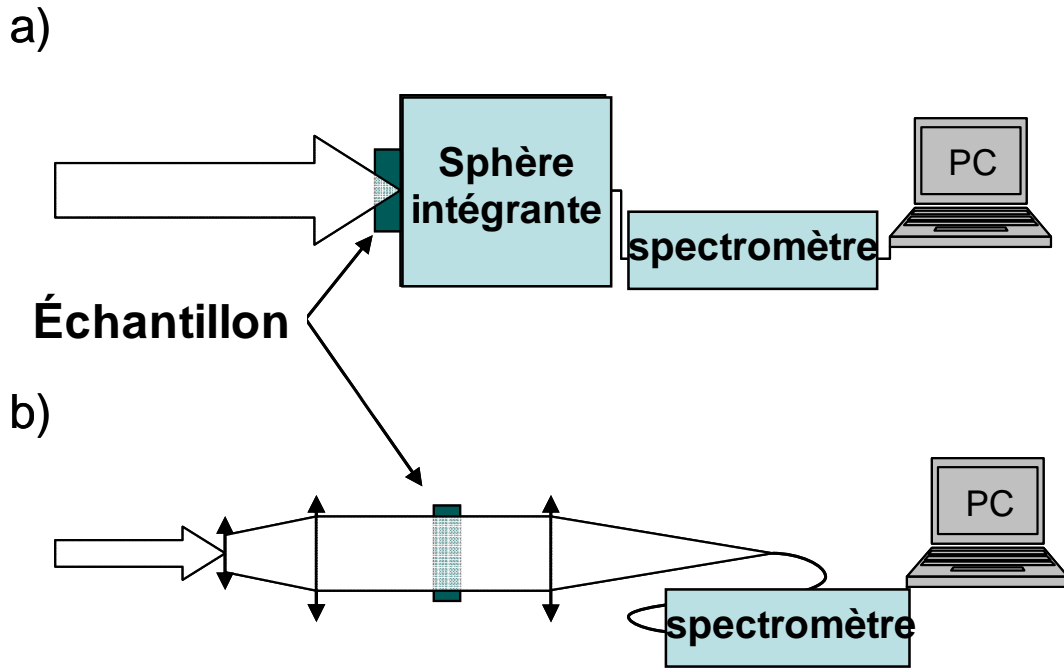


Figure 16 : Dispositifs expérimentaux de mesure des spectres de transmission directe (a) et totale (b).

Les transmissions totale T_T et directe T_D peuvent être exprimées comme :

$$T_T = \frac{I_T}{I_0} = e^{-L/\delta_A}, \quad 2-4$$

$$T_D = \frac{I_D}{I_0} = e^{-L/\delta_A} \times e^{-L/\delta_S} = e^{-L/\delta_T}, \quad 2-5$$

Les notations utilisées correspondent à l'intensité incidente sur l'échantillon I_0 , à l'intensité totale transmise I_T et à l'intensité directe transmise I_D , n étant la densité volumique de diffuseurs, α le coefficient d'absorption, L l'épaisseur de l'échantillon et δ la profondeur de pénétration effective à $1/e$ accompagnée d'un indice T , A ou S faisant référence à la profondeur de pénétration totale, d'absorption et de diffusion respectivement.

En divisant l'équation 2-4 par l'équation 2-3, on obtient la contribution du spectre non diffusé et donc la contribution du spectre diffusé par l'échantillon (Σ):

$$\Sigma = 1 - \frac{T_D}{T_T} = 1 - e^{-\frac{t}{\delta_s}};$$

2-6

Grâce au protocole de déturgescence mis en place, nous avons pu mesurer les transmissions directe et totale des cornées saines ou présentant différents degrés d'opacité. Les spectres de transmission totale et directe et le spectre de diffusion d'une cornée œdémateuse sont présentés sur la figure 17.

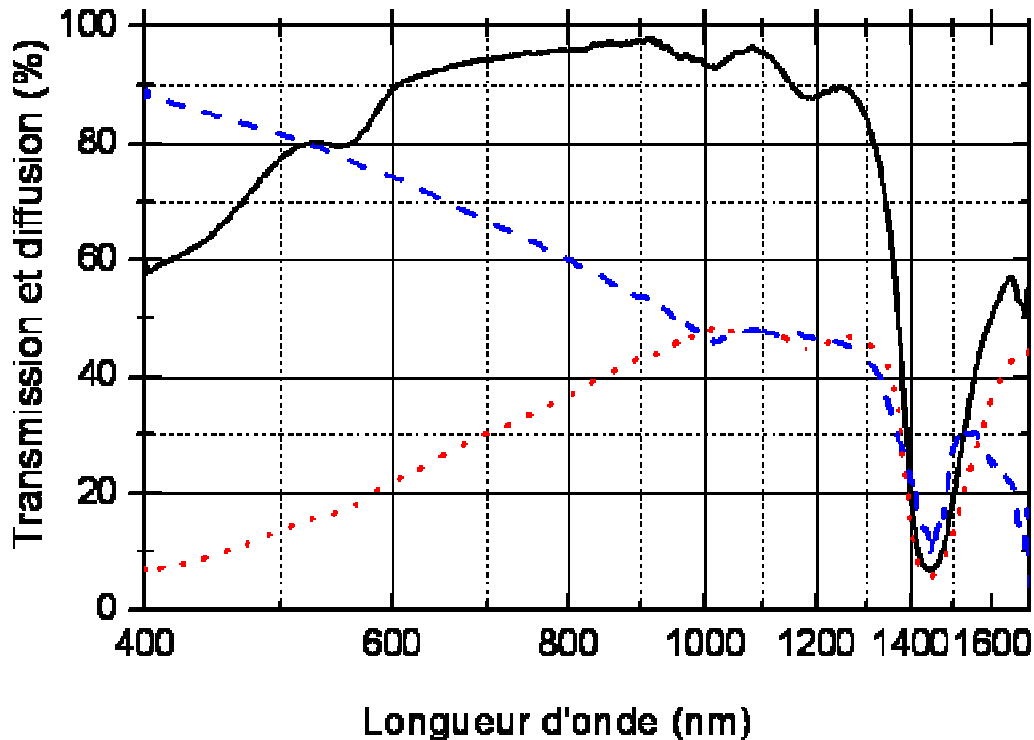


Figure 17 : Spectres de transmission totale T_T (trait plein noir) et directe T_D (pointillé rouge) et de diffusion Σ (trait d'union bleu) d'une cornée œdémateuse.

Bien que les valeurs absolues de transmission varient suivant l'état pathologique des cornées, la tendance reste systématiquement identique. Les mesures montrent une zone de forte transmission dans le visible et le proche infrarouge, soit entre 400 nm et 1,3 μm , suivi d'un pic d'absorption centré à 1,45 μm et s'étendant entre 1,35 μm et 1,55 μm , puis, de nouveau, une région de relative transparence entre 1,6 et 1,8 μm avec un peu plus de 50% de lumière transmise.

Afin de vérifier la contribution éventuelle de la diffusion de surface d'une cornée, une étude en transmission a également été réalisée sur un modèle de l'épaisseur d'une cornée, composé d'eau et de collagène de type I en solution acide liquide en proportion identique à celle rencontrée dans les cornées. Les résultats de cette étude montrent que

dans la limite de résolution de notre mesure, le spectre de transmission du modèle est identique à celui de l'eau pure avec une transmission de quasi 100 % dans la zone 400 nm – 1,3 μ m. Le tissu cornéen présente lui une baisse progressive de transmission lorsque la longueur d'onde diminue qui est due au fait que les longueurs d'ondes les plus courtes sont plus largement soumises à un processus de diffusion, conformément aux considérations théoriques décrites plus haut. Les longueurs d'onde courtes interagissent d'abord avec l'élargissement du pic de Fourier aux fréquences spatiales de l'ordre de la demi-distance inter-fibrillaire moyenne, ou s'en rapprochant. Au-delà, la transmission à travers la cornée n'atteint pas 100 % car une partie est rétrodiffusée et ne peut être mesurée par la sphère intégrante utilisée.

Sur l'ensemble des spectres présentés sur la figure 17, trois longueurs d'onde présentent un intérêt tout particulier pour la chirurgie de la cornée. En effet, 800 nm et 1050 nm correspondent aux longueurs d'ondes des lasers utilisés expérimentalement et cliniquement, tandis que 1650 nm correspond au maximum local de transmission dans l'infrarouge moyen. Bien que la transmission totale soit supérieure à 800 nm et 1030 nm, la proportion de diffusion est largement moindre à 1650 nm. À cette longueur d'onde, 88 % de l'énergie peut être transmise directement. La synthèse des contributions de transmission totale, directe et de diffusion à chacune de ces longueurs d'onde présentées dans le tableau 5 montre très clairement l'intérêt d'utiliser des lasers émettant à 1650 nm dans le but d'optimiser la chirurgie de greffe de cornée par laser.

	800 nm	1050 nm	1650 nm
Transmission totale	99%	94%	50%
Transmission directe	47%	56%	45%
Diffusion	53%	40%	12%

Tableau 5 : Comparaison de la transmission totale et directe et de la diffusion à 800 nm, 1050 nm et 1650 nm

À partir des équations 2-4, 2-5 et 2-6, on peut reformuler ces spectres sous forme de profondeur de pénétration δ de la lumière transmise ou sous forme de section efficace de diffusion par fibrille, ce qui est plus pertinent pour déterminer la longueur d'onde optimale en chirurgie de la cornée pathologique.

La figure 18 représente les composantes de profondeur de pénétration totale, de diffusion et d'absorption pour une cornée moyennement œdémateuse d'épaisseur 750

μm . La figure 19 représente la section efficace de diffusion en fonction de la longueur d'onde et de l'épaisseur des cornées.

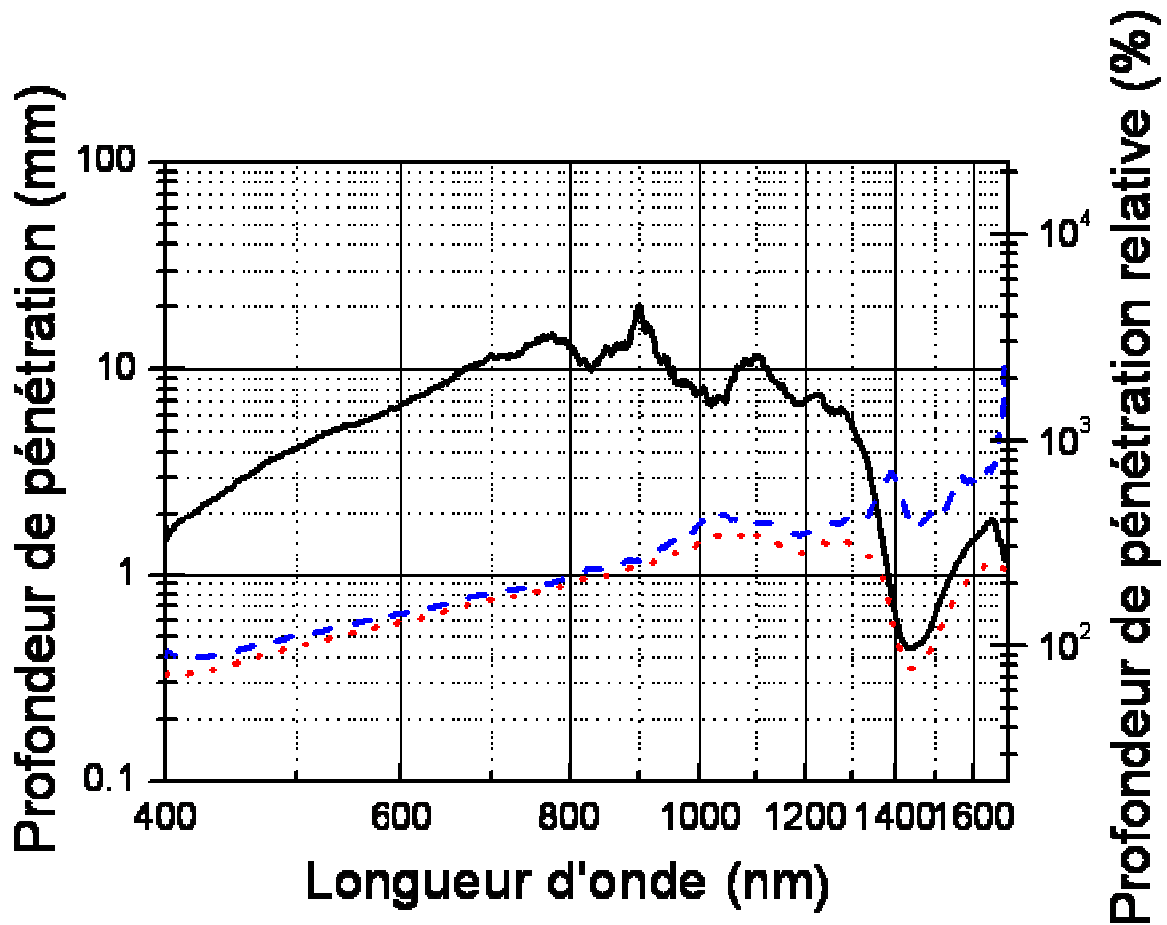


Figure 18 : Profondeur de pénétration dans une cornée (trait d'union bleu) en fonction de ses composantes d'absorption (trait plein noir) et de diffusion (pointillé rouge)

On peut ainsi observer que la profondeur de pénétration augmente de façon quasi-monotone avec la longueur d'onde. Elle est limitée par la diffusion sur tout le spectre de transparence de la cornée et par l'absorption à partir de 1300 nm (considérant l'épaisseur des cornées). Or, puisque l'absorption correspond à une baisse linéaire de l'énergie contrairement à la diffusion qui provoque un élargissement de la fonction d'appareil du laser, elle peut être compensée par une augmentation adaptée et définie de l'énergie. On remarque également que la section efficace de diffusion est environ un facteur 3 plus faible à 1650 nm qu'à 1050 nm. Cela démontre la pertinence d'une chirurgie assistée d'un laser centré à 1650 nm.

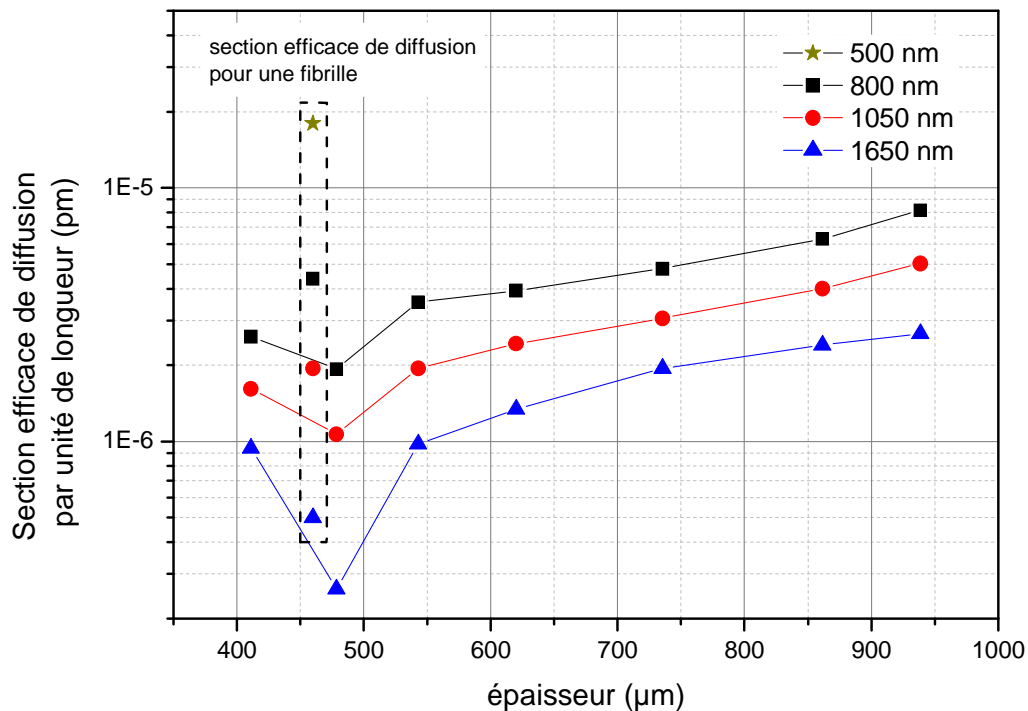


Figure 19 : Section efficace de diffusion en fonction de l'épaisseur des cornées à différentes longueurs d'ondes : 500 nm, 800 nm, 1050 nm et 1650 nm.

La figure 19 montre également que lorsque la cornée devient fortement œdémateuse, la section efficace de diffusion par fibrille devient supérieure à celle d'une fibrille indépendante, ce qui prouve qu'un processus de diffusion supplémentaire s'ajoute à la diffusion Rayleigh collective. On peut attribuer ceci à la diffusion Mie qui devient de plus en plus importante avec l'apparition de « lacs » ou autres défauts de dimensions comparables ou supérieurs à la longueur d'onde. De même, la section efficace de diffusion augmente en deçà de l'épaisseur physiologique, car le collagène subit également une désorganisation.

En résumé, on peut extraire de ces résultats un certain nombre de conclusions concernant le comportement d'un faisceau laser dans le cadre d'une application sur la greffe de cornée :

- *la diffusion évolue globalement en λ^3 pour une cornée « normalement » œdémateuse, et selon Mc Cally et al. en λ^2 lorsque celle-ci est très œdémateuse [101]. Lorsque la cornée est très œdémateuse, la section efficace*

de diffusion moyenne dans la cornée devient supérieure à celle d'une fibrille indépendante.

- *la profondeur de pénétration est maximale à 1650 nm et est alors essentiellement limitée par l'absorption. Elle atteint environ 2 mm soit 4 fois plus qu'une cornée saine et au moins 2 fois plus qu'une cornée très œdémateuse.*
- *la section efficace de diffusion est environ 3 fois plus importante à la longueur d'onde des lasers cliniques (autour de 1 μm) qu'à 1650 nm.*

Étant donné que la profondeur de pénétration 1/e est limitée par l'absorption et est de l'ordre de 2 mm à 1,65 μm et que la contrainte de diffusion peut être négligée en première approximation, on peut s'attendre à une augmentation d'environ un facteur 3 de la profondeur de pénétration du laser pour une énergie identique lors des expériences de chirurgie sur cornées si l'on passe d'un laser dont la longueur d'onde d'émission est centrée autour de 1 μm à un laser centré à 1,65 μm .

Chapitre 3 LES LASERS À IMPULSIONS ULTRA-BRÈVES À USAGE CHIRURGICAL ET LEUR INTERACTION AVEC LE TISSU

Ce troisième chapitre présentera les bases de la physique régissant les principes des lasers à impulsions ultra-brèves. Une présentation des caractéristiques des lasers femtoseconde en usage en chirurgie de la cornée permet ensuite de faire un tour d'horizon de ce qui existe et des évolutions récentes. Dans cette thèse, le laser est avant tout un outil pour optimiser la chirurgie de la cornée, nous verrons donc ensuite quelle est la physique de l'interaction laser tissu et comment le laser femtoseconde permet une telle intervention.

3.1. Les lasers ultracourts

3.1.1. Les impulsions laser ultra-brèves : considérations mathématiques

On considère l'amplitude du champ électrique E_0 d'une onde électromagnétique \mathcal{E} , se propageant dans le temps, oscillant à la fréquence ω_0 correspondant à sa longueur d'onde centrale et dont l'enveloppe est considérée gaussienne tel que $\mathcal{A}(t) = E_0 e^{-\frac{t^2}{2\tau^2}}$.

$$\mathcal{E}(t) = E_0 e^{-\frac{t^2}{2\tau^2}} e^{-i\omega_0 t}, \quad (3-1)$$

où t est le temps et τ la durée de l'impulsion.

On en déduit l'équation de l'intensité

$$I(t) = \frac{1}{2\eta_0} |\mathcal{E}(t)|^2 = I_0 e^{-2\frac{t^2}{2\tau^2}}, \quad (3-2)$$

où $\eta_0 = \sqrt{\frac{\mu_0}{\epsilon_0}} = 377\Omega$ est l'impédance du vide et $I_0 = 2\frac{E_0^2}{\eta_0}$ est l'intensité crête. Le paramètre τ est lié à la largeur à mi-hauteur temporelle $\Delta t_{\frac{1}{2}}$ et spectrale $\Delta\omega_{\frac{1}{2}}$ de l'impulsion par les relations suivantes :

$$\begin{cases} \Delta t_{\frac{1}{2}} = 2\tau\sqrt{\ln 2}, \\ \Delta\omega_{\frac{1}{2}} = 2\frac{\sqrt{\ln 2}}{\tau}. \end{cases} \quad (3-3)$$

Si désormais on passe par transformée de Fourier de l'espace des temps vers l'espace des fréquences tel que par convention :

$$\mathcal{E}(\omega) = \mathcal{F}[\mathcal{E}(t)] = \int_{-\infty}^{+\infty} \mathcal{E}(t)e^{i\omega t} dt, \quad (3-4)$$

$$\mathcal{E}(t) = \mathcal{F}^{-1}[\mathcal{E}(\omega)] = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} \mathcal{E}(\omega)e^{-i\omega t} d\omega, \quad (3-5)$$

on peut alors utiliser le théorème de convolution pour exprimer $E(t)$ tel que

$$\mathcal{E}(\omega) = \frac{E_0}{2\pi} \mathcal{F}\left[e^{-\frac{t^2}{2\tau^2}}\right] \otimes \mathcal{F}[e^{-i\omega_0 t}],$$

$$\mathcal{E}(\omega) = \frac{E_0}{2\pi} \tau\sqrt{2\pi}e^{-\frac{t^2}{2\tau^2}} \otimes 2\pi\delta(\omega - \omega_0),$$

$$\mathcal{E}(\omega) = E_0\tau\sqrt{2\pi}e^{-\frac{(\omega-\omega_0)^2\tau^2}{2}}. \quad (3-6)$$

La transformée de Fourier d'une impulsion gaussienne dans le temps est donc une gaussienne dans l'espace des fréquences. L'intensité spectrale est donnée par l'équation suivante :

$$I(\omega) = \frac{2}{\eta_0} |\mathcal{E}(\omega)|^2 = 2\pi\tau^2 I_0 e^{-(\omega-\omega_0)^2\tau^2}. \quad (3-7)$$

De façon générale, quelque soit la forme et le spectre de l'impulsion, le produit de la largeur temporelle par la largeur spectrale doit satisfaire au principe d'incertitude d'Heisenberg tel que

$$\Delta t \Delta \omega \geq \frac{1}{2} . \quad (3-8)$$

Par conséquent, si une impulsion gaussienne vérifie l'égalité dans l'équation ci-dessus, on dit qu'elle est limitée par transformée de Fourier. On est alors au minimum de durée temporelle possible pour une impulsion de largeur spectrale donnée. Ainsi, dans le visible et le proche-infrarouge, pour avoir une impulsion subpicoseconde, il est nécessaire d'avoir un spectre large d'au moins quelques nanomètres. Or, l'indice optique d'un milieu étant dépendant de la longueur d'onde, la largeur spectrale des impulsions implique de prendre en compte la dispersion de vitesse de groupe lors de leur propagation, ainsi :

$$T(\omega) = \frac{d\Phi(\omega)}{d\omega} ; \quad (3-9)$$

où $\Phi(\omega)$ est la phase spectrale de l'impulsion définie comme étant la phase du champ électrique dans le domaine spectrale et s'exprime comme suit par un développement de Taylor :

$$\begin{aligned} \Phi(\omega) = & \Phi_0 + \left(\frac{d\Phi}{d\omega}\right)_{\omega=\omega_0} (\omega - \omega_0) + \frac{1}{2} \left(\frac{d^2\Phi}{d\omega^2}\right)_{\omega=\omega_0} (\omega - \omega_0)^2 \\ & + \frac{1}{6} \left(\frac{d^3\Phi}{d\omega^3}\right)_{\omega=\omega_0} (\omega - \omega_0)^3 + \dots ; \end{aligned} \quad (3-10)$$

$$\Phi(\omega) = \Phi_0 + \Phi^{(1)}(\omega - \omega_0) + \frac{1}{2} \Phi^{(2)}(\omega - \omega_0)^2 + \frac{1}{6} \Phi^{(3)}(\omega - \omega_0)^3 + \dots , \quad (3-11)$$

où $\Phi^{(1)}$ correspond à un retard constant dans la propagation de l'impulsion (indépendant de la fréquence), il ne modifie donc pas les propriétés de l'impulsion. $\Phi^{(2)}$ est connu sous le nom de dispersion de vitesse de groupe, et engendre un retard linéaire avec la fréquence.

On peut alors en déduire que

$$T(\omega) = \Phi^{(1)} + \Phi^{(2)}(\omega - \omega_0) + \frac{1}{2} \Phi^{(3)}(\omega - \omega_0)^2 + \dots . \quad (3-12)$$

3.1.2. Les lasers femtosecondes : état de l'art

Deux technologies laser femtoseconde sont actuellement couramment utilisées en ophtalmologie clinique ou pour la recherche dans ce domaine. Une technologie basée sur des verres dopées au néodyme ou à l'ytterbium permet de générer des impulsions de quelques centaines de femtoseconde centrées en longueur d'onde autour de $1\mu\text{m}$. Une autre technologie basée sur des cristaux de saphir dopés au titane donne accès à des impulsions de quelques femtosecondes centrées autour d'une longueur d'onde de 800 nm. Dans les deux cas, la longueur d'onde d'émission et la durée des impulsions en font des sources adaptées à la découpe du tissu cornéen. Cependant, la première présente l'avantage d'utiliser des diodes lasers comme sources de pompe, ce qui la rend plus simple à utiliser et plus fiable. De plus, ce type de sources donne lieu à un encombrement réduit. C'est donc cette technologie qui est aujourd'hui largement utilisée pour des applications industrielles et cliniques. C'est pourquoi je détaillerai ici principalement l'état de l'art et les dernières avancées en matière de lasers femtoseconde pompés diode et émettant vers $1\mu\text{m}$. Durant mon doctorat, j'ai travaillé sur une source utilisant un cristal dopé à l'ytterbium ainsi que sur une source ti:saphir. Le principe reste généralement le même si ce n'est que dans le cas des lasers ti:saphir, les diodes de pompe sont remplacées par des lasers argon pour l'oscillateur et par des lasers à néodyme doublés en fréquence pour l'amplification des cristaux de ti:saphir.

Les lasers à cristaux et les lasers fibrés dopés néodyme ou ytterbium ont de plus l'avantage d'émettre dans la plage spectrale de plus forte transparence de la cornée (centrée à $1\mu\text{m}$).

D'autre part, nous verrons en détail dans la section 3.2 que l'effet de découpe dans le tissu cornéen se fait au seuil de rupture et nécessite donc un minimum de densité d'énergie, d'où la nécessité d'avoir des impulsions ultracourtes de quelques μJ ou fortement focalisées. Le patient n'étant pas endormi pour ces interventions, il est également important de proposer une procédure rapide ce qui ne peut se faire qu'à des cadences minimales de quelques 10 kHz.

Un oscillateur standard ne délivre que quelques nJ (entre 5 nJ et 20 nJ) et à des taux de répétition entre 40 et 80 MHz. Trois architectures sont donc essentiellement adaptées, l'amplification d'impulsions par dérive de fréquence (CPA pour *Chirped Pulse*

Amplification) incluant un amplificateur appelé *régénératif*, les oscillateurs à cavité étendue et les CPA utilisant des fibres amplificatrices [102].

3.1.2.1. L'amplification d'impulsion par dérive de fréquence (CPA)

La technique CPA [102] permet d'amplifier les impulsions émises depuis un simple oscillateur dans un second cristal amplificateur, comme suggéré dans la figure 20. Afin d'obtenir des impulsions subpicoseconde en sortie d'oscillateur, celui-ci est basé sur la technologie de verouillage de modes passif. Le principe de blocage de mode consiste à obtenir une phase fixe entre les différents modes oscillants dans la cavité laser. Ces modes peuvent alors interférer pour générer des impulsions ultracourtes en sortie de l'oscillateur. La technique des absorbants saturables semi-conducteurs est ainsi couramment utilisée pour sa compacité, sa simplicité et sa robustesse. Elle permet de démarrer et de maintenir le régime de blocage de modes [103].

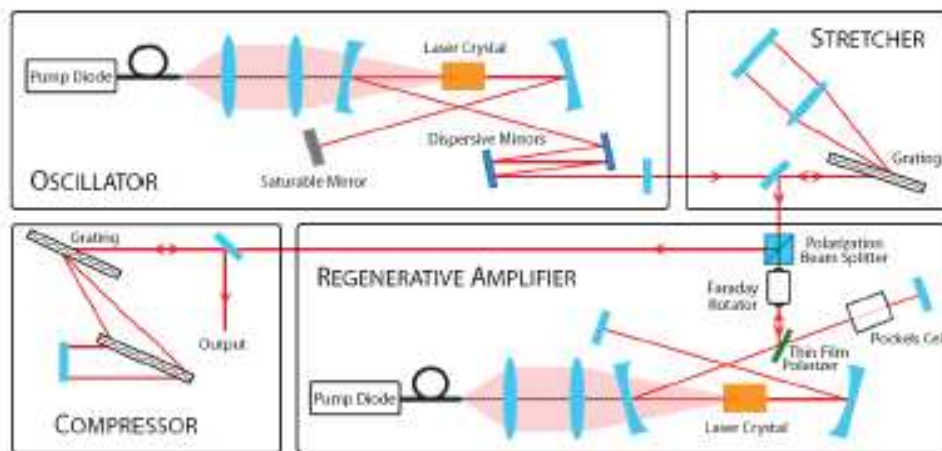


Figure 20 Schéma d'une amplification par dérive de fréquence d'un laser femtoseconde pompé par diode [5]

L'oscillateur est dit en régime soliton : il contient des composants tels que des miroirs à dispersion négative pour surcompenser la dispersion naturelle et les effets non linéaires générés dans le cristal. Le taux de répétition est lié à la durée nécessaire aux impulsions pour parcourir la globalité de la cavité oscillante.

Pour atteindre des énergies de l'ordre du μJ , les impulsions en sortie d'oscillateur doivent être amplifiées. Elles sont donc le plus souvent injectées dans une seconde

cavité oscillante appelée amplificateur régénératif pompée également par une ou plusieurs diodes. Un polariseur suivi d'une cellule de Pockels permettent de maintenir les impulsions dans cette cavité jusqu'à l'obtention de l'énergie désirée. L'impulsion est alors « libérée » dès activation de la cellule de Pockels.

Afin de maximiser l'amplification tout en évitant la distorsion des impulsions par des effets non linéaires dans la cellule de Pockels ou dans le cristal ou pour éviter de les endommager dans le cas d'une puissance crête trop élevée, les impulsions sont préalablement allongées temporellement grâce à un système par réseaux de diffraction appelé étireur. Elles sont ensuite raccourcies en sortie d'amplificateur régénératif dans un système optique équivalent, parfois identique, de réseaux de diffraction appelé compresseur. Les impulsions reprennent des durées subpicoseconde.

Il est important de noter que les diodes de pompes émettent le plus souvent en continu, le taux de répétition du laser en sortie est donc directement dû à la dynamique de la cellule de Pockels. La puissance de pompe détermine la puissance moyenne tandis que ce sont les variations dans le signal de contrôle de la cellule de Pockels qui vont permettre de modifier la cadence du laser entre 1 kHz et 300 kHz typiquement. Les taux de répétition plus élevés sont essentiellement limités par la dynamique de la cellule de Pockels qui dépend de la performance des alimentations haute tension (4-5 kV). Ces alimentations délivrent dans un premier temps un courant d'intensité crête très élevée suivi très rapidement par une extinction (~ 10 ns). Cependant, un développement et un réglage appropriés des différents composants peuvent permettre d'atteindre des cadences allant jusqu'à 1MHz.

La première démonstration de l'utilisation d'un CPA pour un laser femtoseconde pompé diode a été réalisée sur un laser néodyme:verre pompé à 808 nm [104]. L'énergie des impulsions s'élevait alors à 40 μ J avec une durée de 450 fs mais la cadence était limitée à 1 kHz ce qui correspond à une puissance moyenne de 40 mW. En effet, les propriétés thermiques de ce cristal limitent la puissance moyenne maximale à quelques centaines de milliwatts soit une cadence de quelques 10 kHz pour des impulsions de l'ordre de 10 μ J.

Une solution plus efficace consiste à utiliser des matériaux dopés ytterbium pompés par des diodes émettant à 980 nm [105]. Leurs meilleures propriétés thermiques permettent d'obtenir plusieurs watts de puissance moyenne soit plusieurs centaines de kHz pour une énergie par impulsion de 10 μ J.

Cette technologie délivrant suffisamment d'énergie à un taux de répétition élevé est majoritairement utilisée pour les applications cliniques en ophtalmologie. Cependant elle nécessite la succession de deux cavités laser et de l'électronique haute tension, ce qui augmente sa taille et surtout son coût. Une autre solution consiste en l'utilisation des oscillateurs laser à cavité étendue.

3.1.2.2. Les oscillateurs à cavité étendue

Les lasers à cavité étendue délivrent des impulsions moins énergétiques à des cadences de l'ordre du MHz et doivent par conséquent être plus fortement focalisés sur la cornée pour atteindre le seuil nécessaire à la découpe. Cela demande des efforts nettement plus importants sur le système de délivrance du faisceau en termes d'optique et de vitesse de balayage de la cornée. En contrepartie, le système laser est grandement simplifié puisqu'il ne se compose que d'une seule cavité laser et ne nécessite aucun élément à haute tension.

Cette solution technologique a été développée car elle offre un excellent compromis entre la cadence, la puissance moyenne et l'énergie des impulsions. Elle reste compatible avec une application de découpe de tissu cornéen si on réduit la cadence délivrée par un agrandissement de la cavité de l'oscillateur. En augmentant celle-ci d'un facteur entre 10 et 20 par exemple, on diminue d'autant le taux de répétition, ce qui équivaut à environ une quinzaine de mètres pour des cadences de l'ordre de 10 MHz et des impulsions d'environ 100 à 200 nJ. Évidemment, cela doit être accompagné d'un ajustement soigné du parcours du faisceau tel que décrit dans la figure 21 afin de conserver un système compact. Cela peut se faire en utilisant une cavité passive multipassage [107] et en prenant en compte l'augmentation des non-linéarités dues à l'augmentation de l'énergie intracavité. Ces systèmes délivrent des impulsions de 300 fs avec 200 à 500 nJ à une cadence de 10 MHz soit 2 à 5 W de puissance moyenne.

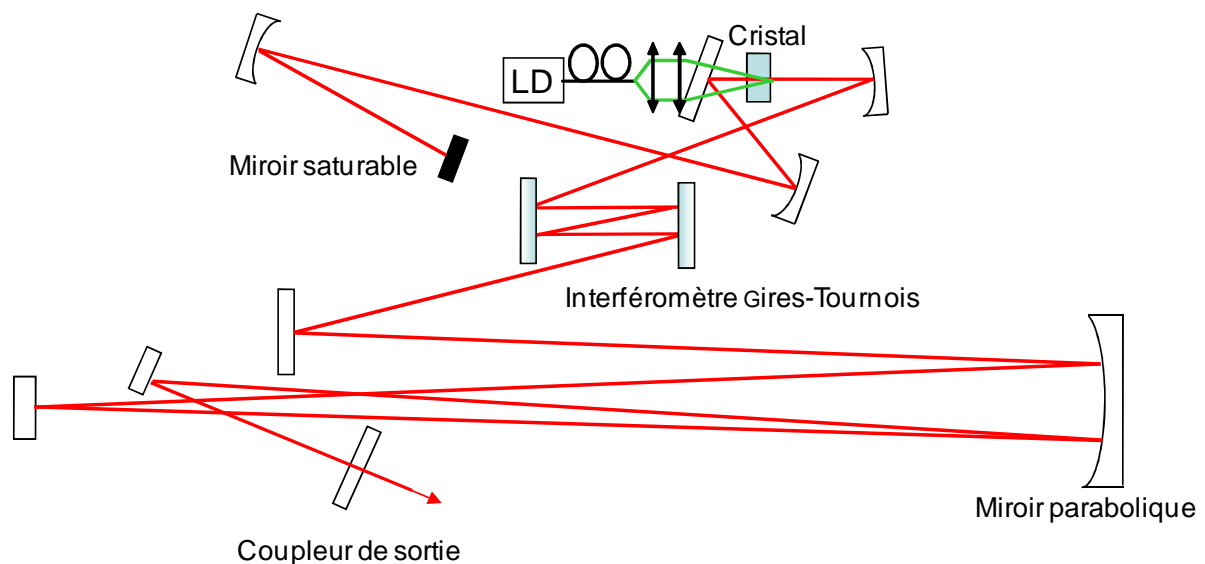


Figure 21 : Schéma d'un oscillateur à cavité étendue

3.1.2.3. Les lasers fibrés

Une approche encore différente permettant d'avoir des taux de répétition élevés tout en gardant une énergie par impulsions de quelques microjoules réside dans l'utilisation de la technologie des lasers fibrés. En effet, les lasers femtoseconde fibrés dopés par des terres-rares représentent une alternative prometteuse en comparaison des lasers à état solide, en particulier pour leur efficacité, leur compacité potentielle et leur taux de répétition élevé. Cependant, cette technologie rend plus difficile la génération d'impulsions ultracourtes aux énergies nécessaires pour la chirurgie de la cornée. La limitation principale vient des effets non-linéaires cumulés générés lors de l'amplification des impulsions tout au long des quelques mètres de longueur de fibre. Cet effet est d'autant plus limitant que les fibres ont souvent un seuil de dommage plus faible que les lasers à état solide décrits plus haut du fait de la petite surface d'interaction. Une telle longueur de fibre est nécessaire à l'obtention de quelques μJ et leur surface doit rester faible afin de conserver la qualité spatiale du faisceau. Cependant, dans les années 1990, une évolution importante a permis d'outrepasser cette limitation avec l'invention des fibres à double cœur large mode qui permettent de guider l'impulsion amplifiée et la pompe dans une même fibre mais dans deux cœurs différents, autorisant la propagation d'impulsions hautement énergétique tout en injectant une forte énergie de pompe [108].

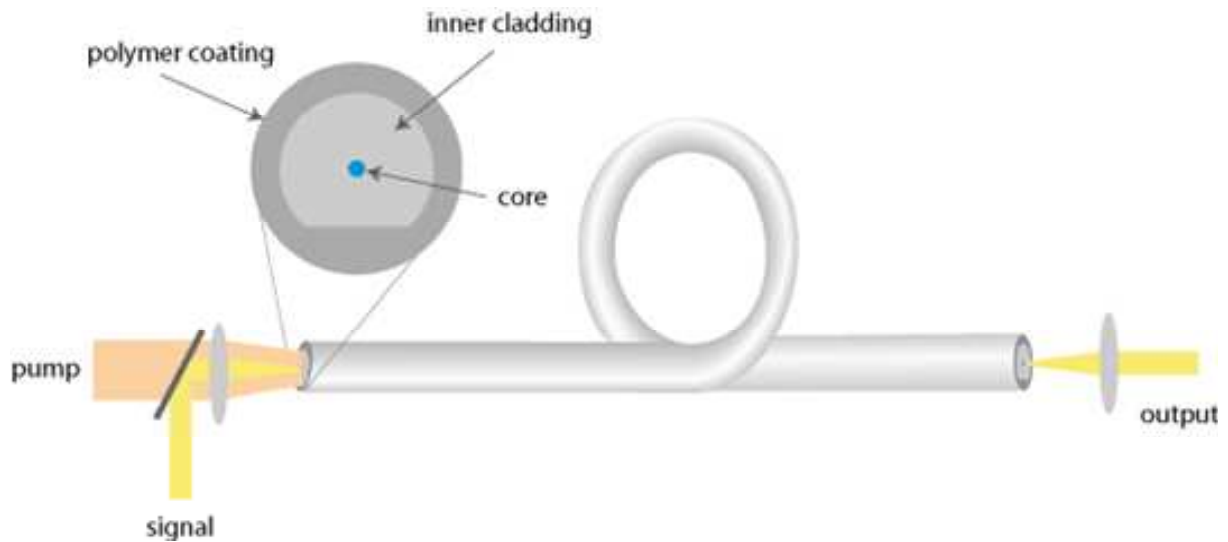


Figure 22 : Schéma d'une fibre à double cœur [109]

Les meilleures performances en termes d'efficacité, de puissance moyenne et d'énergie des impulsions actuellement disponibles sont obtenues à partir de fibres dopées ytterbium. Plusieurs centaines de Watt [110] et des énergies atteignant le millijoule [111] ont été générés avec des lasers femtoseconde utilisant cette technologie tout en conservant des taux de répétition entre 100 kHz et 100 MHz. Un schéma représentatif de cette technologie est disponible sur la figure 23. Il s'agit d'un système CPA comportant un oscillateur tel que décrit en section 3.1.2.1, suivi par une cellule acousto-optique permettant de réduire la cadence à quelques centaines de kHz typiquement. Les impulsions sont ensuite étirées puis amplifiées dans une fibre double cœur pompée par une diode laser [112,113] et recomprimées dans un compresseur classique à réseaux.

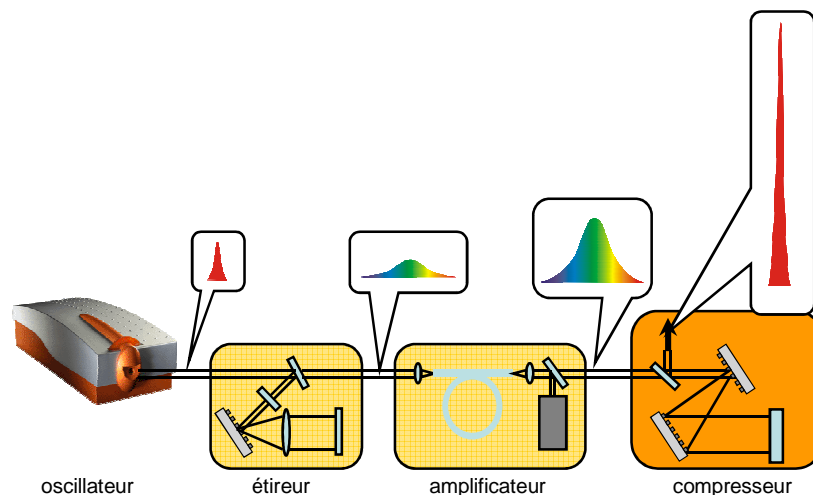


Figure 23 Système CPA utilisant une fibre double cœur pompé diode [Amplitude Systèmes]

3.2. L'interaction laser tissu

Comme nous l'avons vu, depuis l'invention des lasers ceux-ci ont été utilisés ne serait-ce qu'en ophtalmologie pour une grande variété d'interventions. La variation des paramètres tels que la longueur d'onde, la durée d'interaction, l'énergie des impulsions, la puissance ou encore les conditions de focalisation sont autant d'applications possibles en chirurgie ou en imagerie.

Dans une première approximation, nous pouvons distinguer les régimes d'interaction décrits dans le tableau 6 en fonction de la durée des impulsions [114,115].

Durée d'interaction	Processus d'interaction
> 100 ms	Interaction photothermique et photobiostimulée
$\sim 10^{-5}$ s – 1 s	Interaction photothermique
$\sim 10^{-9}$ s – 10^{-7} s	Photoablation
$\sim 10^{-12}$ s – 10^{-8} s	Interaction photochimique
$\sim 10^{-13}$ s – 10^{-10} s	Interaction par création de plasma
$< 10^{-12}$ s	Photodisruption

Tableau 6 : Régimes typiques d'interactions laser-tissu en fonction de leur durée. L'interaction dépend également de la longueur d'onde, de l'énergie, de la densité d'énergie ou encore de la cadence [114,115].

En fonction de la longueur d'onde le laser peut soit interagir directement avec les liaisons moléculaires dans l'ultra-violet, engendrer essentiellement des effets thermiques dans l'infrarouge moyen et lointain ou bien être optimisé pour maximiser la profondeur de pénétration dans le tissu dans le visible ou le proche infrarouge pour les tissus oculaires [116,117,118].

Le choix judicieux de certains paramètres notamment la longueur d'onde ou la durée des impulsions permet de privilégier certains effets tout en minimisant les autres afin d'optimiser le système pour une application médicale spécifique.

Notre recherche porte sur la greffe de cornée et plus généralement sur la découpe précise dans le volume du tissu. Outre la nécessité d'utiliser des longueurs d'onde pas ou peu absorbées par le tissu, on doit se placer dans le régime d'interaction appelé « photodisruption » ou « claquage optique ». Il concerne des durées d'impulsion subpicosecondes ($< 10^{-12}$ s). À cette échelle de temps les puissances crêtes sont

considérables pour des énergies qui restent modestes. De plus, l'interaction femtoseconde présente la particularité de ne pas engendrer de conduction de chaleur ou de propagation d'ondes acoustiques, le claquage optique se produisant lorsque l'énergie est encore confinée dans le volume focal. La modification du tissu reste donc extrêmement localisée avec une précision micrométrique.

3.2.1. La photodisruption ou claquage optique

Le processus d'interaction aux densités de puissance nécessaires pour le claquage optique est régi par des phénomènes hautement non-linéaires. Il fait intervenir la création d'un plasma de faible densité électronique au sein du tissu par ionisation non-linéaire. Si la densité d'énergie déposée est suffisante, la modification du tissu sera permanente et correspond à une dissection précise. Cet effet est obtenu grâce à la création d'une bulle de cavitation au seuil de claquage optique qui engendre une disruption confinée à la zone de focalisation.

Le seuil de claquage optique dans un milieu transparent est atteint par la combinaison de différents processus d'ionisation. Une première étape permet d'exciter les électrons afin de créer les premiers électrons libres par photoionisation multiphotonique et par effet tunnel. Dans le régime femtoseconde, des intensités d'au moins 10^{12} à 10^{13} W.cm² sont nécessaires pour engendrer une photoionisation suffisante [119,120,121,122,123,125]. Par analogie avec les matériaux diélectriques on peut considérer que les électrons sont excités depuis la bande de valence vers la bande de conduction. Ainsi, en première approximation on peut utiliser le modèle de l'eau liquide dont les caractéristiques sont souvent comparables à celles des milieux biologiques. Le gap qui sépare alors ces deux bandes vaut $\Delta = 6,5$ eV [124].

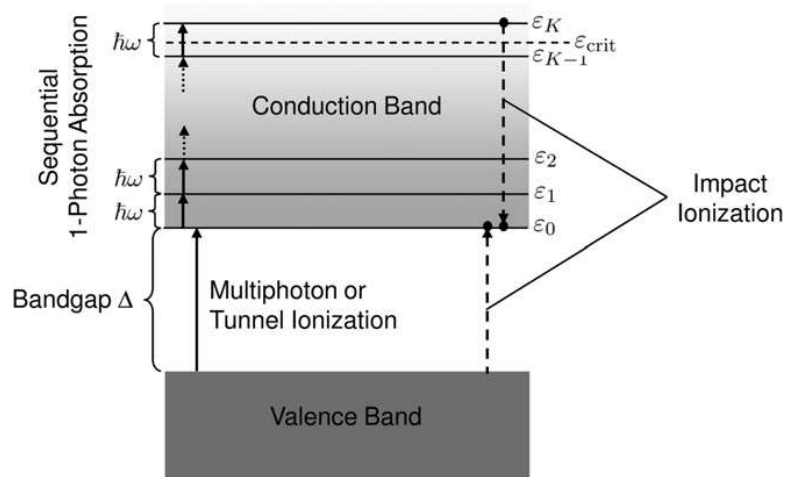


Figure 24 : Schéma des différents processus intervenant dans les phénomènes d'ionisation non-linéaire [5]

Les électrons excités vont alors entrer en collision avec les atomes et molécules présents dans le milieu et vont pouvoir être accélérés sous l'effet du champ électrique du laser par absorption linéaire également appelé Bremsstrahlung inverse [119,125,126,127,128]. Ils peuvent donc satisfaire aux conditions de conservations de l'énergie et de la quantité de mouvement en augmentant leur énergie cinétique d'un facteur $E_c = \hbar\omega$. Après un certain nombre de photons absorbés, l'énergie cinétique de l'électron excède l'énergie nécessaire au processus d'ionisation par collision, ce qui permet la création de nouveaux électrons libres qui seront eux-mêmes accélérés, pour ensuite également entrer en collision avec les atomes et libérer de nouveaux électrons et ainsi de suite. Ce processus est appelé ionisation par effet avalanche et génère un plasma de faible densité électronique.

La proportion de l'influence de l'ionisation multiphotonique et de l'effet tunnel pour démarrer ce processus est débattue dans la littérature, de même que la définition exacte correspondant à la densité critique d'électrons libres ρ nécessaire pour induire un claquage optique dans la cornée. Vogel *et al.* proposent $\rho = 10^{21} \text{ cm}^{-3}$ [125].

Après création du plasma, le volume focal se thermalise¹³ dans une échelle de temps de l'ordre de la picoseconde [125]. Cette durée est trop courte pour une relaxation acoustique. Les contraintes thermo-élastiques sont confinées au point focal, cela augmente la pression au-delà des forces de tension superficielles [9]. Cela correspond à une onde de choc dont les forces de tension sont suffisantes pour créer le phénomène mécanique de disruption [9,129]. Dans un milieu aqueux tel que la cornée, il en résulte

¹³ atteint un équilibre thermique

un « vide » appelé bulle de cavitation. Compte tenu de son origine thermoélastique, cette bulle de cavitation peut être induite à des densités d'énergies inférieures au seuil de vaporisation [125]. À titre de comparaison, les impulsions plus longues de l'ordre de la nanoseconde requièrent des densités d'énergies bien plus élevées pour induire un claquage optique et par conséquent génèrent des gradients de pression et une onde de choc extrêmes, ce qui entraîne la création d'une bulle de cavitation bien plus étendue et résulte en une précision et une netteté des incisions considérablement amoindries [130,131,132].

Le processus d'interaction des impulsions ultra-courtes avec le tissu est indépendant d'une impulsion à l'autre, on peut donc juxtaposer les impulsions l'une par rapport à l'autre. Ainsi, des cadences de 1 kHz à environ 1 MHz peuvent être utilisées pour les applications de recherche ou médicales afin d'optimiser les durées d'intervention. Au-delà de ces cadences, le régime est différent puisque l'énergie d'une impulsion individuelle ne suffit pas à obtenir le claquage optique. La dissection reste cependant possible par l'accumulation d'énergie d'un train d'impulsion libérant progressivement les électrons jusqu'à décomposition chimique [125].

3.2.1.1. Ionisation non-linéaire

L'ionisation non-linéaire est généralement décrite par la dépendance temporelle de la densité d'électrons libres $\rho(t)$ [5,119,125] :

$$\frac{d\rho(t)}{dt} = W_{PI}(I) + \eta_{av}\rho I + \eta_{diff}\rho + \eta_{rec}\rho^2 + \frac{\rho}{\tau_{cap}} ; \quad (3-13)$$

où W_{PI} est le taux de photoionisation non-linéaire et $\eta_{av}\rho I$ est le taux d'ionisation par effet avalanche qui est proportionnel à la densité d'électrons libres ρ et à l'intensité incidente du laser I . Les trois derniers termes de l'équation n'ont qu'une faible influence dans le cas d'impulsions femtoseconde : $\eta_{diff}\rho$ est le taux de diffusion des électrons libres en dehors du volume focal, diffusion qui ne se produit généralement que pour des temps d'interaction de l'ordre de la nanoseconde et au-delà. Il en va de même pour le taux de recombinaison $\eta_{rec}\rho^2$. Le dernier terme ρ/τ_{cap} représente la proportion d'électrons libres piégés dans les interbandes d'énergie, un phénomène qui intervient dans certains matériaux en régime ultracourt mais peut-être négligé dans notre contexte [133].

La photoionisation non-linéaire est décrite par la théorie de Keldysh [134], en dérivant l'expression d'ionisation non-linéaire d'atomes et de diélectriques à des intensités laser élevées. Cette théorie est valable lorsque l'énergie des photons dans le champ du laser incident est très inférieure au potentiel d'ionisation du milieu ($\hbar\omega \ll \Delta$).

Comme nous l'avons dit plus haut, la photoionisation non-linéaire peut se diviser en deux contributions : l'ionisation directe par absorption multiphotonique et l'ionisation par effet tunnel suivie par l'ionisation par effet avalanche. L'un ou l'autre de ces régimes peut être dominant suivant l'intensité, la longueur d'onde et le potentiel d'ionisation. Le paramètre γ introduit par Keldysh permet de déterminer l'effet prédominant [134].

$$\gamma = \frac{\omega}{eE} \sqrt{m' \Delta} = \frac{\omega}{e} \sqrt{\frac{m' \Delta c \epsilon_0 n}{2I}} . \quad (3-14)$$

γ est exprimé en fonction de la charge élémentaire des électrons e , du champ électrique E et de la masse réduite des électrons m' . L'intensité est liée au champ électrique comme $I = 1/2c\epsilon_0 n |E|^2$. Les constantes sont définies tel que c correspond à la vitesse de la lumière dans le vide, ϵ_0 à la permittivité du vide et n à l'indice de réfraction du milieu. La figure 25 montre l'évolution du taux de photoionisation non-linéaire W_{PI} en fonction de l'intensité ainsi que l'évolution du seul taux d'ionisation par absorption multiphotonique.

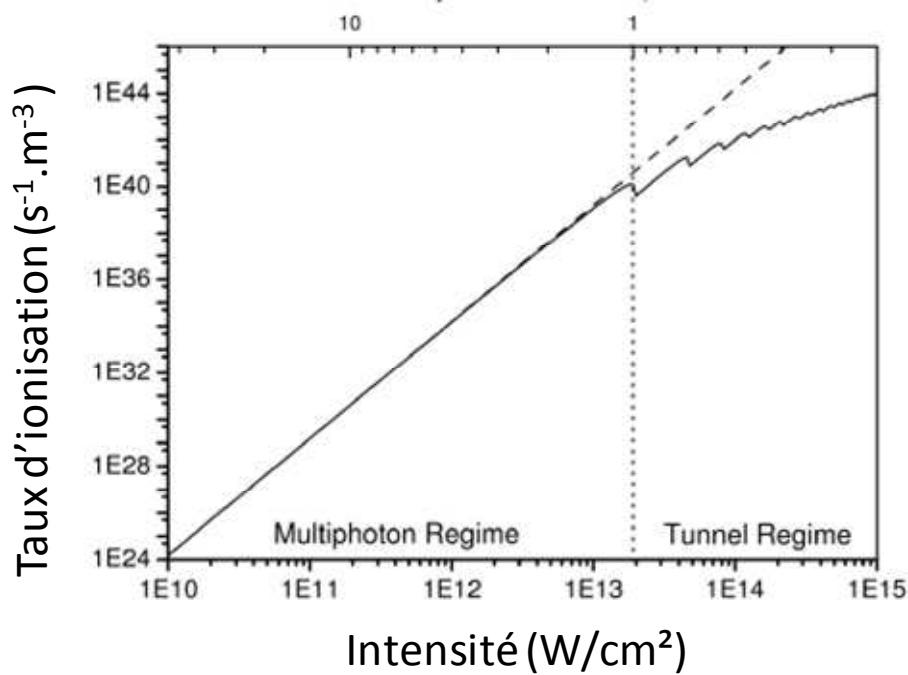


Figure 25 Taux d'ionisation non-linéaire totale W_{PI} (trait plein) et réduit à la seule absorption multiphotonique (trait pointillé) en fonction de l'intensité et du paramètre de Keldysh pour $\lambda = 780$ nm et $\Delta = 6,56$ eV [134].

Pour $\gamma \gg 1$, c'est à dire pour de faibles intensités, l'ionisation par absorption multiphotonique est prédominante. Nous avons $W_{PI} \propto I^K$, où $K=5$ est l'ordre d'ionisation non-linéaire qui correspond au plus petit nombre entier de photons nécessaire pour dépasser le potentiel d'ionisation ($K\hbar\omega > \Delta$ et $\lambda=800$ nm). Pour $\gamma \ll 1$, l'ionisation par effet tunnel est prédominante. Son taux est alors directement proportionnel à la force du champ électrique ($W_{PI} \propto E \propto \sqrt{I}$). De plus, l'effet tunnel est plus efficace pour des longueurs d'onde élevées car l'énergie par photon est plus faible, l'absorption multiphotonique nécessite donc de plus en plus de photons lorsqu'on se décale vers l'infrarouge. La théorie d'ionisation de Keldysh est également valable pour un paramètre de Keldysh proche de l'unité. Le processus d'ionisation est alors dû à une combinaison d'absorption multiphotonique et d'effet tunnel. Pour un paramètre de Keldysh $\gamma = 1$ l'intensité correspondante est $I_{\gamma=1} = 1,9 \cdot 10^{13}$ W.cm⁻². L'intensité seuil pour le claquage optique dans le cas d'impulsions ultracourtes est du même ordre de grandeur.

L'ionisation par effet avalanche peut être décrite par le modèle de Drude [119,126,127,128] comme :

$$\eta_{av} = \frac{\sigma}{\epsilon_{crit}}$$

$$\sigma = \left(\frac{n}{c}\right) \left(\frac{e^2}{\epsilon_0 n^2 m^*}\right) \left(\frac{\tau_p}{1 + \omega^2 \tau_p^2}\right), \quad (3-15)$$

où σ est la section efficace dans le processus de Bremsstrahlung inverse [119] et m^* est la masse effective des quasi électrons libres. σ est déterminé à partir du temps caractéristique τ_p de collisions dans le plasma entre les électrons libres et les particules lourdes. Puisque les photons peuvent être absorbés directement uniquement lors des collisions car les lois de conservation de l'énergie et de la quantité de mouvement doivent être vérifiées simultanément, τ_p est directement relié à la vitesse d'ionisation par avalanche. Bloemberger a ainsi déterminé une valeur de $\tau_p = 1$ fs [127].

Le modèle de Drude prend en compte une contribution constante de l'énergie des électrons dans la bande de conduction. Le taux d'ionisation par avalanche est par conséquent proportionnel à la densité totale d'électrons libres ρ . Pour des impulsions ultracourtes, on surestime alors sans doute la contribution réelle de l'ionisation par avalanche puisque seule une petite fraction d'électrons libres atteint une énergie cinétique excédant ϵ_{crit} afin de pouvoir libérer d'autres électrons par collision. Plusieurs approches itératives prenant en compte la dynamique énergétique dans la bande de conduction [135,136,137,138] ont récemment permis de développer un modèle plus complet proposé par Rethfeld [139,140].

3.2.1.2. Propagation non-linéaire des impulsions

Compte tenu des intensités nécessaires à l'obtention du claquage optique, un grand nombre de phénomènes non-linéaires telles que l'autofocalisation, l'automodulation de phase, la génération de supercontinuum, de troisième harmonique, la défocalisation par le plasma, la filamentation ou encore la formation de stries peuvent se produire indépendamment ou simultanément. Ces interactions sont résumées sur la figure 26

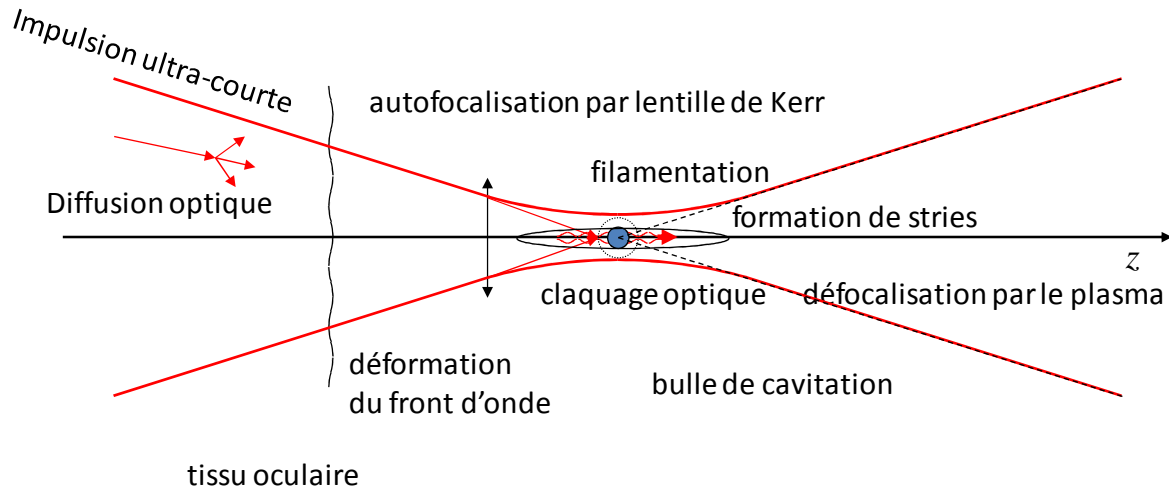


Figure 26 : Phénomènes physiques intervenant lors de la focalisation d'une impulsion ultra-courte dans le tissu oculaire

La nature exacte de l'interaction non-linéaire dépend de nombreux paramètres : l'intensité des impulsions, leur énergie, leur durée et les conditions de focalisation. Si les impulsions ne sont pas focalisées en surface, le claquage optique s'accompagne nécessairement d'effets secondaires collatéraux la plupart du temps indésirables. En particulier, dans le cas des faibles ouvertures numériques, des effets de filamentation [141,10] contribuent fortement à la modification du tissu en dehors de la zone de focalisation entraînant une désorganisation du collagène par effets thermiques ou même des effets de disruption en dehors du volume focal [143], ce qui limite fortement la précision optimale théorique [104].

La filamentation (à distinguer de la formation de stries décrite dans le paragraphe suivant) est généralement comprise comme la résultante d'un équilibre entre une première étape d'autofocalisation entraînant la création d'un plasma qui lui-même induit une défocalisation [141]. L'autofocalisation est due à l'effet Kerr : l'indice de réfraction n d'un milieu dépend au second ordre directement de l'intensité du champ du laser, $n = n_0 + n_2 I(r,t)$ [144], où n_0 et n_2 sont respectivement les indices de réfraction linéaire et non-linéaire du milieu. Ainsi, dans le cas d'un faisceau gaussien dont la répartition de l'intensité est inhomogène, la contribution non-linéaire de l'indice de réfraction devient non négligeable pour les hautes intensités alors proches de l'axe optique. La partie centrale de l'impulsion est donc retardée par un indice de réfraction plus élevé qu'aux « ailes », plus éloignées de l'axe optique. Le profil de phase est incurvé transversalement ce qui est équivalent à une lentille de focalisation appelée lentille de

Kerr. Le phénomène d'autofocalisation altère la propagation en profondeur des impulsions ultracourtes, dès que la puissance crête excède la puissance critique d'autofocalisation définie par [145,146] :

$$P_{crit} = \alpha \frac{\lambda^2}{8\pi n_0 n_2} ; \quad 3-16$$

α est un paramètre d'ordre 4 qui dépend de la géométrie du faisceau ($\alpha = 3,77$ pour un faisceau gaussien). Avec la diminution du diamètre du faisceau par autofocalisation, la lentille de Kerr s'amplifie jusqu'à confiner suffisamment l'énergie pour provoquer la création d'un plasma par ionisation non-linéaire. L'impulsion est alors absorbée et défocalisée. Suivant l'énergie et lorsque les conditions d'équilibre entre autofocalisation et défocalisation par le plasma sont remplies, la propagation par filamentation peut s'étendre sur des distances bien supérieures à la distance de Rayleigh, avec dans son sillage une succession d'altérations du tissu due au plasma. Dans l'air, sa portée peut atteindre plusieurs kilomètres. Dans les solides ou liquides, les effets de filamentation sont typiquement observés sur quelques dizaines de micromètres. L'intensité correspondant à cet équilibre est d'environ 10^{13}W.cm^{-2} dans l'eau [141]. La position du « point focal non-linéaire » peut-être fortement décalée par rapport à la position géométrique de focalisation [142]. Les densités de plasmas sont de l'ordre de $10^{18} - 10^{19} \text{W.cm}^{-2}$ [141], ce qui est bien en dessous de la densité critique pour le claquage optique. Il a été démontré que pour de faibles ouvertures numériques le phénomène de filamentation a plus de probabilité d'être obtenu que le claquage optique et plus on augmente l'ouverture numérique, plus le claquage optique devient le phénomène dominant [147,148,149], jusqu'à devenir le seul phénomène possible au-delà d'une ouverture numérique de 0,9 [125]. Dans des milieux denses, l'énergie requise pour la filamentation peut être relativement basse. Dans des conditions de laboratoire typiques ($\lambda=780 \text{ nm}$, $n_2=2.10^{-20} \text{ m}^2.\text{W}$) pour des milieux aqueux [120], la puissance critique est $P_{crit} = 3,4.10^6 \text{ W}$. Dans le cas d'impulsions femtoseconde, les puissances crêtes peuvent atteindre un tel niveau avec des énergies bien inférieures à $1 \mu\text{J}$.

Le second effet non-linéaire important qui rivalise avec le claquage optique est la formation de stries [5,123,142,143,150,151,66]. Cet effet est lié à la défocalisation par le plasma généré lors du claquage optique. La densité de plasma augmente rapidement au fur et à mesure de la propagation de l'impulsion. Par conséquent, la première partie de

l'impulsion n'est que très peu affectée par le plasma, tandis que la dernière partie subit une forte absorption suivie d'une forte défocalisation. Cette asymétrie temporelle et spatiale est à l'origine d'une distribution allongée du plasma (en forme de stries) entraînant une modification du collagène suivant la même géométrie. La défocalisation par le plasma engendre une distorsion du profil spatio-temporel de l'impulsion et influence largement la densité, la taille et la forme lors du claquage optique. Il en résulte un élargissement de la zone dont les propriétés peuvent être modifiées par l'interaction laser. Contrairement à la filamentation qui n'est constatée que pour de faibles ouvertures numériques, la formation de stries persiste même lorsque celle-ci augmente fortement. Cependant, à partir d'une ouverture numérique de 0,9, le claquage optique n'est quasiment plus accompagné d'autres effets non-linéaires.

La propagation non-linéaire dans le milieu peut également avoir des incidences sur le spectre de l'impulsion. Celui-ci peut être fortement élargi suite à un effet d'automodulation de phase. En plus de la filamentation, on peut observer la génération de supercontinuum et une séparation temporelle des impulsions due au fort élargissement spectral. Pour des impulsions extrêmement courtes, la dispersion dans le milieu peut également avoir des conséquences critiques sur la propagation linéaire. La distance z_D sur laquelle une impulsion limitée par transformée de Fourier est élargie d'un facteur $\sqrt{2}$ dans un milieu dispersif est donnée par la relation $z_D = \tau^2 / 4 \ln(2) k''$, où k'' correspond à la dispersion de vitesse de groupe.

3.2.1.3. Application au tissu biologique

Un certain nombre de considérations doivent être prises en compte pour appliquer le phénomène de claquage optique au tissu cornéen. Afin de minimiser les dommages collatéraux sur le tissu environnant générés par des actions mécaniques ou thermiques, il est préférable de minimiser autant que possible l'énergie et la densité d'énergie des impulsions. La durée des impulsions, la longueur d'onde et les conditions de focalisation sont autant de paramètres qui influencent la précision des incisions et l'ampleur des effets secondaires.

L'influence de la durée des impulsions sur le seuil de claquage optique a été décrite par différents auteurs [136,153-160]. Bien que les arguments divergent, les différentes études mettent toutes en évidence que la densité d'énergie nécessaire au

claquage optique baisse avec la réduction des durées d'impulsion. Cette diminution est faible entre 100 femtosecondes et 1 picoseconde. Par contre, au-delà de la picoseconde, la pente croît nettement plus rapidement. Les conditions de claquage optique et l'apparition d'effets secondaires sont très sensibles aux paramètres expérimentaux tels que le contraste de l'impulsion. Une pré-impulsion même faible peut fortement faire varier les mesures d'énergie. De même, les variations de tissus ou encore la qualité de surface modifient les résultats. Ce dernier point est particulièrement intéressant. Jusqu'à présent nous considérons le seuil de claquage en surface car il est plus facile à constater qu'en volume. Dès que l'on souhaite travailler en volume, la génération de plasma devient dépendante des conditions de propagation dans le milieu, ce qui augmente considérablement les paramètres et rend donc très difficile une mesure absolue.

La dépendance de la longueur d'onde sur le seuil de claquage optique n'a à ce jour pas été étudiée en grand détail que ce soit dans l'eau ou dans des milieux biologiques. On trouve cependant dans la littérature deux études dans lesquelles ce paramètre a été modifié : Vogel *et al.* ont mesuré le seuil de claquage optique en volume dans de l'eau à 1040 nm, 520 nm et 347 nm¹⁴ [161] et Olivié *et al.* l'ont mesuré à la surface d'une cornée en faisant varier la longueur d'onde entre 800 nm et 1450 nm [162]. Aucun d'eux n'a constaté de forte influence de la longueur d'onde sur le seuil. Par contre, une plage de longueur d'onde plus vaste a été étudiée dans la silice. Ces expériences ont permis de démontrer que le seuil de claquage augmente significativement lorsque l'on passe de l'UV au proche infrarouge ($\rightarrow 1 \mu\text{m}$). Au-delà, les variations deviennent faibles [163].

Il faut toutefois préciser un point lorsque l'on souhaite étudier l'influence de la longueur d'onde. En effet, il est nécessaire de prendre en compte les variations de tailles de la tâche focale et les différences de propriétés de propagation dans le milieu. La taille de la tâche focale et son volume varient respectivement avec le carré et le cube de la longueur d'onde. Cette considération d'échelle a donc un impact sur l'énergie par impulsion requise pour obtenir le claquage optique et sur l'étendue de la modification du tissu (entre autre la dimension de l'incision). Le seuil de claquage optique en surface devrait donc augmenter d'un facteur au moins quatre lorsque l'on double la longueur d'onde d'émission du laser. Par contre on peut s'attendre à ce que les effets dus à la propagation non-linéaire restent relativement semblable.

¹⁴ Respectivement la 2^{ème} et 3^{ème} harmonique de 1040 nm

Pour résumer ce chapitre on peut relever les points suivants :

- *La chirurgie de greffe de cornée par laser nécessite des impulsions subpicoseconde et des énergies de l'ordre du μJ . Les longueurs d'onde d'émission en usage sont centrées à 800 nm (laboratoire) ou à 1 μm (systèmes cliniques) ;*
- *Le phénomène physique permettant la découpe est appelé claquage optique ou disruption. Il se produit grâce à la création d'un plasma à des densités d'énergies de l'ordre de 1 à 2 J/cm^2 pour des durées d'impulsions entre 100 fs et 1 ps ;*
- *Ce processus est souvent accompagné d'effets secondaires indésirables : la filamentation et la formation de stries notamment. Ces paramètres peuvent être contrôlés ou fortement atténués par le choix judicieux des conditions de focalisation, des énergies, du contraste des impulsions...*
- *Le changement de longueur d'onde n'a pas a priori une influence importante sur une diminution ou une accentuation de ces effets.*

Chapitre 4 DÉVELOPPEMENT DE SOURCES OPTIMISÉES

Après la démonstration de l'influence de la diffusion de la lumière sur la chirurgie laser du segment antérieur et la détermination de la longueur d'onde optimale pour la pénétration du faisceau dans le volume du tissu qui devrait être a priori proche de $1,65\ \mu\text{m}$, il reste à étudier directement l'interaction laser tissu en fonction de la longueur d'onde. Pour rappel, pour couvrir l'ensemble des configurations expérimentales, les sources doivent pouvoir fournir une énergie d'environ $5\ \mu\text{J}$ à des taux de répétition entre $1\ \text{kHz}$ et quelques centaines de kHz et à des durées comprises entre $100\ \text{fs}$ et $1\ \text{ps}$. Compte tenu de ces paramètres, une grande partie de mon travail de thèse a consisté à développer des sources flexibles pour confirmer les conditions optimales de la chirurgie par laser femtoseconde de la cornée pathologique. Le meilleur moyen pour étudier l'influence de la longueur d'onde sur la qualité de la chirurgie laser réside en premier lieu dans l'obtention d'une source accordable appelée source paramétrique. Je vous présente donc dans ce chapitre les deux sources que j'ai développées. La première est basée sur la technologie éprouvée des amplificateurs paramétriques optiques pompés par une source titane:saphir. Elle offre une grande flexibilité notamment en termes d'accordabilité spectrale. La seconde bien qu'encore relativement flexible intègre les contraintes de robustesse et de compacités nécessaires à un dispositif utilisable dans des conditions cliniques et offre des performances énergétiques deux ordres de grandeur au dessus de l'état de l'art pour une technologie utilisant les propriétés de quasi accord de phase. Elle a la particularité d'être pompée par un laser émettant à $1\ \mu\text{m}$, ce qui est une configuration encore peu explorée. Enfin, une troisième source développée par nos partenaires de l'Institut d'Optique Graduate School et en particulier sujet du doctorat de Franck Morin[4], utilise la technologie erbium poussée à l'extrémité de sa bande de gain afin d'obtenir un laser femtoseconde dont la longueur d'onde d'émission est centrée proche de $1,6\ \mu\text{m}$ et atteint ainsi la fenêtre de transparence du tissu. Ainsi, après un rappel des concepts d'amplification paramétrique par accord de phase biréfringent et quasi accord de phase, je vous présente les résultats de ces développements qui nous ont permis d'étudier les applications chirurgicales de cette thèse.

Une démonstration plus complète de la physique sous-jacente est également disponible dans la thèse de doctorat de Nicolas Forget [164]

4.1. Principe de la conversion paramétrique

Les principes physiques permettant d'expliquer les phénomènes de conversion paramétrique font appel à des notions complexes pour les non spécialistes de l'optique non-linéaire. Le sujet de cette thèse étant pluridisciplinaire, je me limite ici au rappel des paramètres clefs qui caractérisent et différencient les choix technologiques que j'ai pu faire lors du développement des sources laser accordables ayant permis de réaliser les études chirurgicales sur la cornée. Le développement mathématique des équations permettant d'arriver à ces résultats est toutefois disponible en annexe 1.

La notion de conversion et d'amplification paramétrique fait appel au principe physique du mélange à trois ondes. Il consiste à focaliser un laser de pompe dans un milieu non-linéaire et à le faire interagir avec deux autres ondes. Dans notre cas, l'onde de pompe est obtenue soit à partir d'un laser titane:saphir, soit d'un laser dopé ytterbium. Une deuxième onde appelée onde signal est générée puis amplifiée par effets non-linéaires. Une troisième onde nommée onde complémentaire est automatiquement créée en même temps que l'onde signal et amplifiée afin de satisfaire aux principes de conservation de l'énergie et de la quantité de mouvement.

En première approximation, on peut dire que pour pouvoir amplifier une onde signal à partir d'une onde de pompe il faut que ces deux ondes se propagent dans une même direction, à une vitesse identique, dans un milieu catalyseur c'est-à-dire permettant de transférer l'énergie de la pompe vers le signal. Les cristaux non-linéaires utilisés à cette fin ont la particularité d'avoir un indice optique qui varie suivant l'axe cristallin. On appelle cette propriété la biréfringence : selon la propagation de l'onde lumineuse, le cristal a un indice ordinaire noté n_o et un indice extraordinaire noté n_e .

Le fait d'orienter le champ électrique des ondes (la polarisation) suivant l'axe ordinaire ou l'axe extraordinaire va permettre de varier leurs propriétés de propagation et donc de réunir les conditions d'un transfert d'énergie de l'onde de pompe vers l'onde signal.

On peut caractériser la physique du mélange à trois ondes dans un cas général par les paramètres suivants :

- Les conditions initiales des trois ondes en amplitude et en phase ;
- La longueur caractéristique L_{NL} ;
- La longueur de cohérence Λ_c .

La longueur caractéristique correspond à la longueur pour laquelle l'échange d'énergie est maximal. La longueur de cohérence est une mesure de la distance sur laquelle les ondes restent en phase.

Les conditions initiales correspondent à une énergie de l'onde de pompe élevée, à une énergie de l'onde signal très faible ou inexistante et à une énergie de l'onde complémentaire toujours nulle. Cette approximation est appelée *approximation paramétrique*. Pour simplifier la présentation du phénomène, nous nous limitons dans cette démonstration au cas des ondes planes (elles sont en réalité gaussiennes), quasi-monochromatiques, progressives et d'enveloppe lentement variable¹⁵. Nous supposons que les ondes se propagent dans la direction de l'axe z .

A partir de ces hypothèses, l'information principale caractérisant une source paramétrique se retrouve dans le calcul du gain G :

$$G = 1 + \frac{q^2}{\gamma^2} \sinh^2(\gamma z), \quad (4-1)$$

$$\gamma = \sqrt{|q|^2 - |\delta|^2}, \quad (4-2)$$

$$q = \frac{1}{L_{NL}} = 4\pi d_{eff} \sqrt{\frac{I_p(0)}{2\varepsilon_0 n_s n_c n_p c \lambda_s \lambda_c}}, \quad (4-3)$$

$$\delta = \frac{\Delta k}{2}, \quad (4-4)$$

où le terme q correspond au coefficient de couplage et est directement relié à l'efficacité de conversion non-linéaire (susceptibilité non-linéaire X^2 cf. annexe 1). Le terme δ est lié au désaccord de phase, c'est-à-dire au résidu de la différence de la phase de l'onde de pompe avec celle du signal et celle du complémentaire. Le terme ε_0 est une constante et est appelée permittivité du vide. Enfin n , λ et I sont respectivement l'indice de réfraction

¹⁵ La forme temporelle et spectrale de l'impulsion varie très peu au cours de sa propagation

linéaire, la longueur d'onde et l'intensité. Le sous-indice qui les accompagne fait référence au signal (s), au complémentaire (c) ou à la pompe (p).

Deux conditions doivent être vérifiées simultanément pour obtenir la conversion paramétrique :

$$\begin{cases} \omega_p = \omega_s + \omega_c & (\text{conservation de l'énergie}) \\ k(\omega_p) = k(\omega_s) + k(\omega_c) & (\text{accord de phase, conservation de la quantité de mouvement}) \end{cases} \quad (4-5)$$

Ces deux conditions sont équivalentes dans des milieux non dispersifs pour des vecteurs d'ondes colinéaires. Dans le cas qui nous intéresse où les milieux sont dispersifs, la condition d'accord de phase ne peut être satisfaite quelque soit la géométrie si la dispersion est normale¹⁶. Par conséquent, dès 1962 plusieurs méthodes ont été proposées notamment par Armstrong *et al.* [166]:

- l'accord de phase par biréfringence,
- le quasi accord de phase par domaines alternés

La première méthode elle utilise les propriétés de biréfringence de certains cristaux afin d'avoir $n_p < n_s, n_c$. Quant à la seconde, elle permet de compenser le déphasage en modulant périodiquement le coefficient non-linéaire.

Quatre autres techniques ont également été développées mais n'ont pas été utilisées durant ce doctorat :

- l'accord de phase par dispersion anormale [167],
- l'accord de phase modal [168],
- le quasi-accord de phase par radiation Čerenkov [169, 170],
- le quasi accord de phase par biréfringence de Fresnel [171, 172].

Deux géométries peuvent être utilisées pour obtenir l'accord de phase, l'accord de phase colinéaire ou non-colinéaire :

¹⁶ La dispersion est dite normale lorsque l'indice de réfraction du milieu est une fonction décroissante de la longueur d'onde, c'est-à-dire que les longueurs d'onde de fréquence élevées (ultraviolet) ont une vitesse de propagation plus lente que les longueurs d'onde de fréquence plus basses (infrarouge)

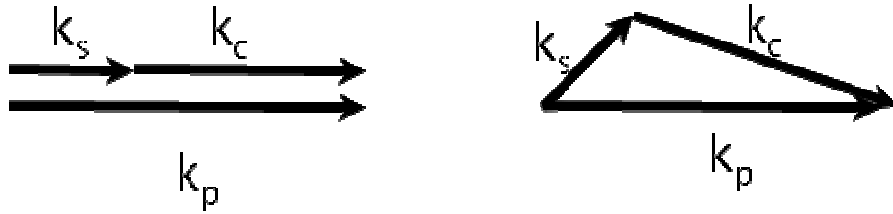


Figure 27 : Géométrie d'accord de phase colinéaire à gauche et non colinéaire à droite.

Cette représentation est une vue idéalisée des conditions de propagation des vecteurs d'ondes. La réalité admet un faible écart à ce modèle que l'on peut formaliser par le calcul de désaccord de phase qui contient un terme supplémentaire k_0 par rapport à l'équation 4-5 :

$$\Delta k = k_p - k_s - k_c - k_0 = 0, \quad (4-6)$$

c'est-à-dire que la différence entre la somme des vecteurs d'ondes $k_{p,s}$ et c et le terme k_0 doit donner un désaccord de phase nul. La conversion reste efficace tant que le terme k_0 reste négligeable.

Trois types d'accord de phase existent en fonction de la polarisation linéaire de la pompe, du signal et du complémentaire selon les axes de polarisation du cristal non-linéaire [173]

Type	Polarisation
Type 0	$P_s = P_c = P_p$
Type 1	$P_s = P_c \neq P_p$
Type 2	$P_s \neq P_c$

Tableau 7 : Types d'accord de phase en fonction de la polarisation de la pompe, du signal et du complémentaire.

Les accords de phase de types 1 et 2 peuvent être obtenus dans tous les cristaux non-linéaires tandis que le type 0 n'est possible que pour le quasi accord de phase.

La seconde technique mise en application dans cette thèse utilise ce principe de quasi accord de phase. Au lieu de varier la polarisation du signal par rapport à celle de la pompe, on fait varier celle du cristal. Pour schématiser, on peut dire que l'on assemble successivement des cristaux non-linéaires tels que ceux utilisés dans le cas de l'accord de phase par biréfringence comme si l'on souhaitait créer un réseau en transmission.

Chaque partie assemblée est positionnée successivement en effectuant une rotation de 180° par rapport à l'élément précédent. En réalité, cette modification périodique des propriétés non-linéaires des cristaux se fait en appliquant un champ électrique externe sur le cristal. La longueur de chaque période correspond à la longueur de cohérence, c'est-à-dire que l'on fait pivoter la polarisation dès que les ondes de pompe et du signal s'éloignent des conditions d'accord de phase. L'avantage réside alors dans le fait que l'on peut choisir l'axe du cristal offrant la plus grande susceptibilité non-linéaire et donc le meilleur gain. Pour mieux comprendre, on peut se référer à la figure 28 :

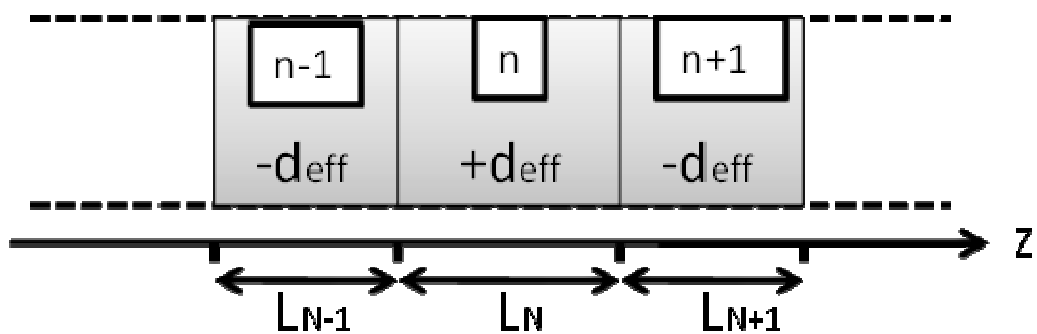


Figure 28 Schéma d'une portion de cristal polarisé périodiquement. d_{eff} est lié à l'efficacité de conversion non-linéaire.

Afin de distinguer les différences il est plus parlant de représenter les évolutions du gain selon que l'on se trouve dans une configuration d'accord de phase, de quasi accord de phase ou aucun des deux. Les courbes de gain sont représentées en figure 29 :

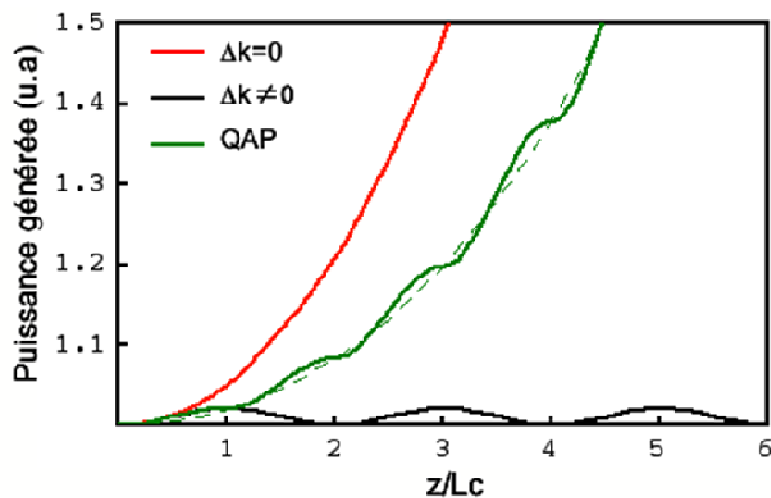


Figure 29 Évolution du gain selon que l'on utilise un phénomène d'accord de phase (en rouge), de quasi accord de phase (en vert) ou si l'on est loin de l'accord de phase (en noir) ($L_c = \Delta c$) [181]

On peut remarquer que le gain de l'onde signal augmente de façon exponentielle lorsqu'il y a accord de phase. Cette augmentation est plus saccadée puisque le gain subit des variations sur une période correspondant à la longueur de cohérence (= périodes du cristal). Elle reste toutefois globalement exponentielle. Enfin, si aucune de ces conditions n'est vérifiée, le gain oscille autour de 0 sur des périodes égales à deux fois la longueur de cohérence.

Les ordres de grandeur correspondants aux conditions expérimentales de nos systèmes sont les suivants :

- dans la configuration par accord de phase, la longueur caractéristique des cristaux que nous avons utilisés est comprise entre 2 mm et 3 mm,
- par contre dans la configuration de quasi-accord de phase et avec nos paramètres de pompe, les longueurs de cohérence sont de l'ordre de 30 μm .

4.2. Source accordable par accord de phase biréfringent

4.2.1. État de l'art des sources par accord de phase biréfringent

Les années 1990 ont été marquées par une grande évolution dans la technologie des lasers à impulsion ultra-brèves notamment grâce aux avancées dans le domaine des matériaux actifs à l'état solide tel que le titane:saphir (Ti:Sa) et au développement des méthodes puissantes de blocage de modes tel que l'utilisation de la lentille de Kerr [182]. Grâce à ces améliorations, les lasers à impulsions ultra-brèves ont grandement augmenté leurs performances en termes de facilité d'utilisation et de fiabilité, rendant possible un usage par des non spécialistes. Une seconde avancée est venue de la technique d'amplification par dérive de fréquence (CPA)[102,184] qui a permis de gagner trois ordres de grandeur dans les énergies disponibles (du μJ au mJ). Cela a permis d'accéder à un large champ de nouveaux phénomènes dans le domaine des

interactions non-linéaires. En parallèle, de nouveaux cristaux non-linéaires ont été découverts tel que le BBO (Bismuth Baryum Borate), aujourd'hui largement utilisé ou encore le lithium triborate (LBO) [185] et plus récemment le BiBO (Bismuth triBORate) [186,187]. Ces cristaux ont à la fois des coefficients non-linéaires élevés (de l'ordre de 2pm/V), des dispersions de vitesse de groupe faibles, une large acceptation spectrale et des seuils de dommages élevés.

Les lasers titane:saphir amplifiés par la technique CPA sont aujourd'hui très largement utilisés. Bien qu'ils offrent une accordabilité spectrale relativement large par rapport aux autres lasers (720-960 nm ou 360-480 par doublage de fréquence), ces plages demeurent faibles comparées aux possibilités des systèmes par Génération ou Amplification Paramétrique Optique (OPG-OPA pour *Optical Parametric Generation et Optical Parametric Amplification* respectivement). Les lasers titane:saphir amplifiés sont cependant adaptés pour pomper ces sources paramétriques qui requièrent des intensités de l'ordre du GW/cm² [188] pour être efficaces. Trois méthodes peuvent être exploitées pour réaliser un laser largement accordable.

- La technique OPO (Oscillateur Paramétrique Optique) qui consiste à placer le cristal non-linéaire dans une cavité résonnante, l'amplification se faisant alors suivant le même principe qu'un laser.
- La technique OPA consiste à initier la conversion paramétrique par l'injection d'un très faible signal (graine) comprenant la longueur d'onde que l'on souhaite obtenir puis à l'amplifier dans un ou plusieurs cristaux non-linéaires.
- La technique OPG que nous traitons dans la section suivante, où le signal est créé puis amplifié directement dans un seul et même cristal.

Pour compléter cette liste, nous pouvons également mentionner la technique OPCPA (Amplification paramétrique optique à dérive de fréquence pour *Optical Parametric Chirped Pulse Amplification*) qui est une variante de l'OPA.

Les OPO offrent l'avantage de pouvoir être pompés par des oscillateurs femtoseconde faiblement énergétiques, mais leur géométrie n'autorise que des taux de répétitions élevés de l'ordre de 100 MHz, ce qui est inapproprié pour notre application. De plus, les énergies fournies sont par conséquent très faibles (quelques nJ). Enfin, leur accordabilité est limitée par la largeur spectrale de la réflectivité des miroirs de cavités.

Les OPA nécessitent de fortes intensités de pompe : il faut disposer d'un laser amplifié opérant à des cadences modérées (du Hz à 100 kHz). Ils peuvent délivrer des énergies élevées (quelques 100 μ J), de très larges accordabilités (de l'ultraviolet à l'infrarouge moyen) et sont plus faciles à mettre en place. Les OPA pompés par des lasers titane:saphir sont aujourd'hui les sources accordables les plus largement utilisées mais l'encombrement et la complexité de leurs lasers de pompe limite l'utilisation aux seules laboratoires de recherche.

4.2.2. Le laser de pompe titane:saphir

L'OPA développé dans le cadre de cette thèse est pompé par un laser titane:saphir monté par le Laboratoire d'Optique Appliquée (Frédérique Auge-Rochereau). Il est composé d'un oscillateur délivrant des impulsions de quelques nanoJoules, d'une durée de quelques 10 fs à une cadence de 80 MHz (figure 30).

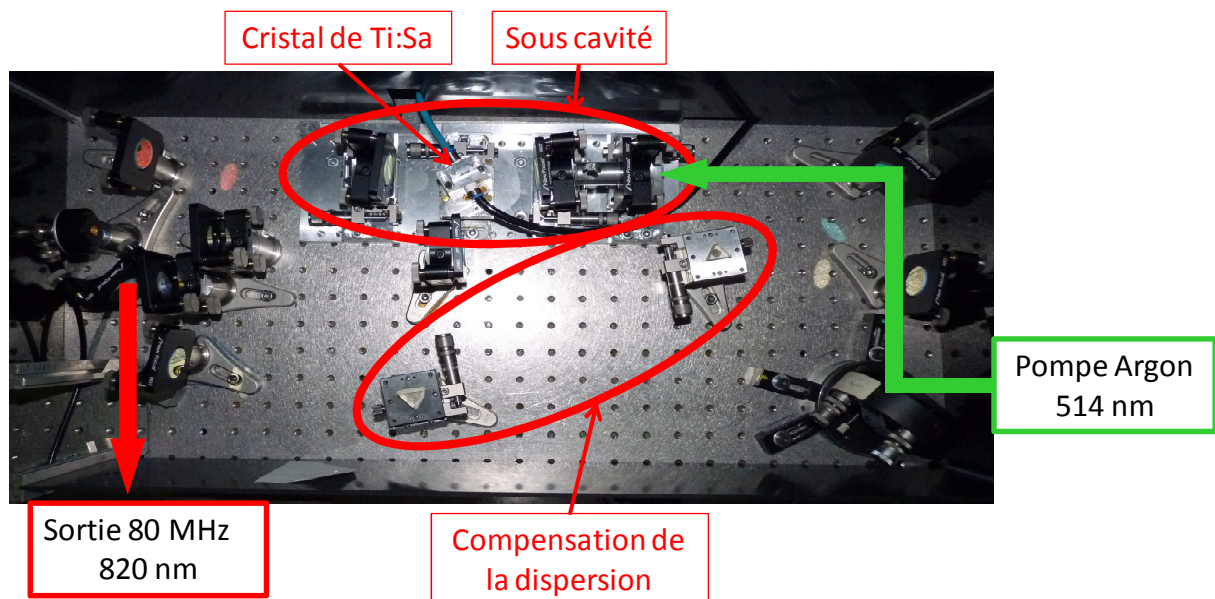


Figure 30 : photo de l'oscillateur Ti:Sa

Le faisceau ainsi créé est ensuite amplifié par la méthode CPA, par un amplificateur régénératif et un amplificateur 4 passages (appelé multipassage et présenté sur la figure 31) pour atteindre 4mJ et 40 fs (figure 32) à une cadence de 1 kHz et avec un contraste de 10^{-6} après recompression. Pour notre application, nous utilisons des impulsions ayant une énergie de 1,5 mJ.

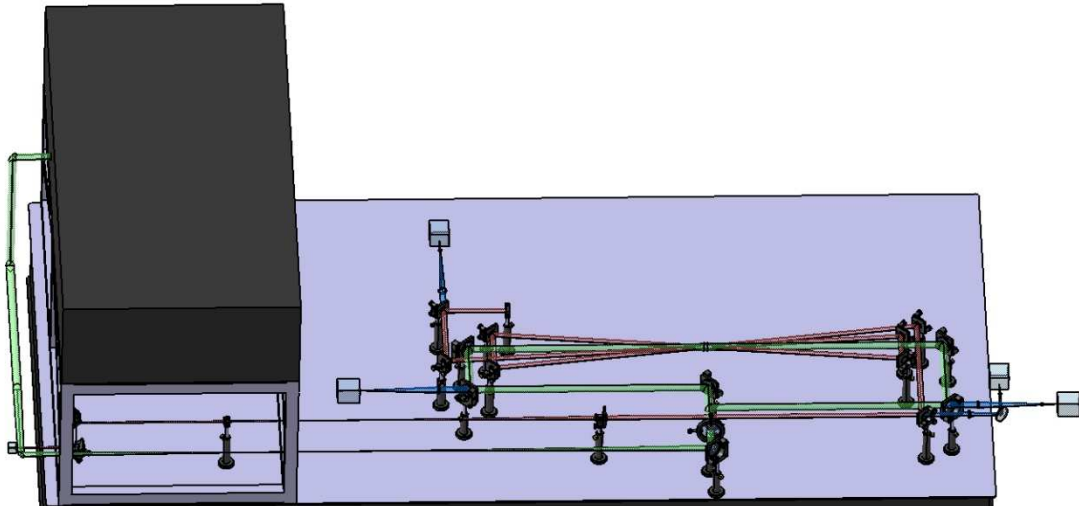


Figure 31 : Modélisation 3D de l'amplification multipassage du laser titane saphir avec (en verre) le laser de pompe et (en rouge) le laser titane saphir amplifié

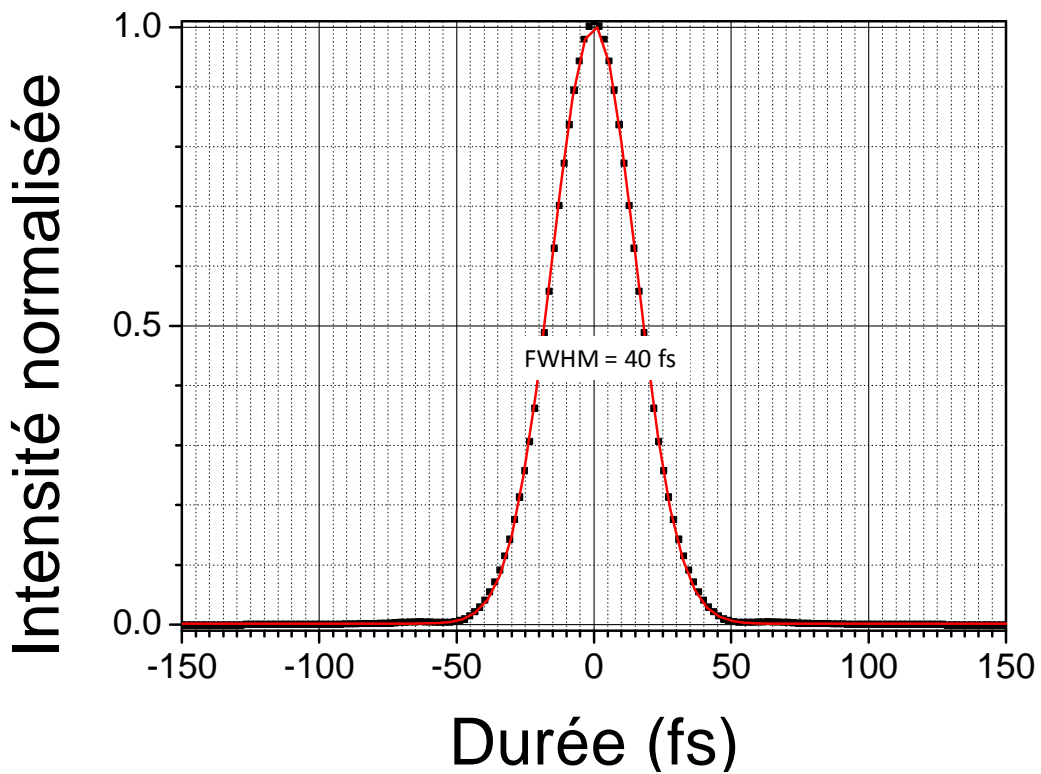


Figure 32 : Mesure par autocorrélation de la durée des impulsions du laser titane:saphir utilisé pour pompé notre dispositif OPA

Lors du développement de la source OPA, nos applications de chirurgie prévoyaient de créer une source centrée à 1600 nm, aux environs de l'émission du laser fibré et accordable autour de cette longueur d'onde pour étudier les meilleurs

compromis. Par conséquent, nous avons centré le laser de pompe autour de 810-820 nm (figure 33) : en considérant un signal amplifié à 1600 nm, on se retrouve ainsi en amont de la dégénérescence¹⁷ (située alors aux alentours de 1620 nm à 1640 nm).

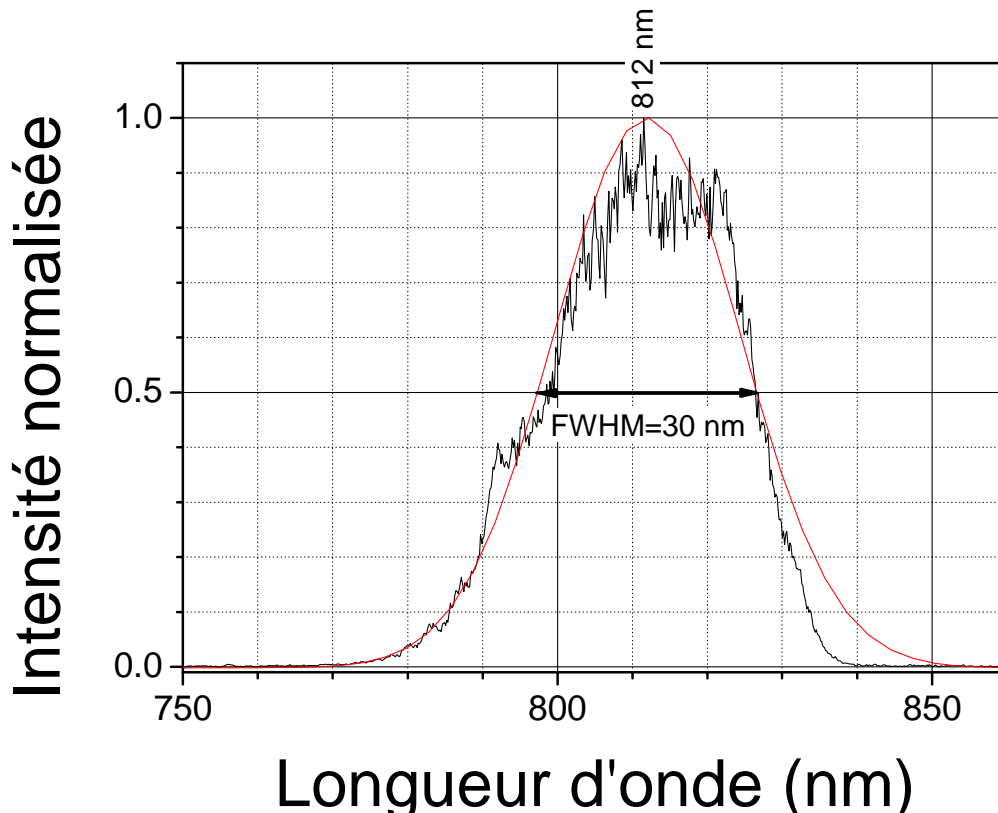


Figure 33 : Spectre du faisceau du laser titane:saphir centré à 812 nm et le résultat d'un ajustement numérique par une gaussienne

4.2.3. L'amplificateur paramétrique optique

Pour nos applications de chirurgie nous avons besoin d'un laser largement accordable afin d'étudier la profondeur de pénétration en fonction de la longueur d'onde en-dessous du pic d'absorption de l'eau centré à 1,45 μm , aux environs du pic d'absorption et au-delà, dans la zone de transparence relative centrée à 1650 nm. Ceci correspond à une plage d'accordabilité allant de 1200 nm à 1750 nm. De plus, cette source devait avoir une énergie de sortie la plus homogène possible sur toute cette

¹⁷ Zone correspondant au double de la longueur d'onde de pompe (800 nm \rightarrow 1600 nm). Cette conversion est donc en conflit avec la conversion inverse correspondant à la génération de seconde harmonique.

gamme afin de conserver des paramètres d'impulsions les plus semblables possibles sur l'ensemble des spectres pour maintenir les autres conditions initiales comparables lors des expériences de chirurgie.

Une partie de cette plage d'accordabilité inclue la zone appelée *zone de dégénérescence*. Nous avons donc choisi pour la conversion de longueurs d'onde, un cristal non-linéaire permettant de compenser cet effet. Il s'agit du cristal de BiBO qui offre dans certaines configurations un gain constant sur la totalité du spectre concerné, comme nous le verrons plus en détail en section 4.2.3.2. Par contre, l'utilisation de ce cristal, dans cette configuration, impose de sélectionner précisément la longueur d'onde que l'on souhaite amplifier avant de le traverser. Dans le cas de dispositifs comparables décrits dans la littérature, cette discrimination se fait typiquement par l'ajout de filtres ou d'un réseau de diffraction. Cependant l'utilisation de réseaux provoque une perte non négligeable d'énergie et l'utilisation de filtres complexifie le système car il faudrait un filtre par longueur d'onde à amplifier. L'idée originale de notre système réside dans le choix d'un autre cristal non-linéaire, le BBO pour effectuer le filtrage. Ce dernier est donc placé au premier étage d'amplification et le BiBO occupe le deuxième étage. Cette configuration permet d'obtenir dès le premier étage un gain intéressant et un filtrage par rotation du BBO lors de l'ajustement des conditions d'accord de phase entre la pompe et la longueur d'onde que l'on souhaite amplifier. Les premiers photons permettant de démarrer le processus sont créés par un supercontinuum de lumière blanche puis injectés dans le premier cristal. Un schéma de ce dispositif est présenté sur la figure 34.

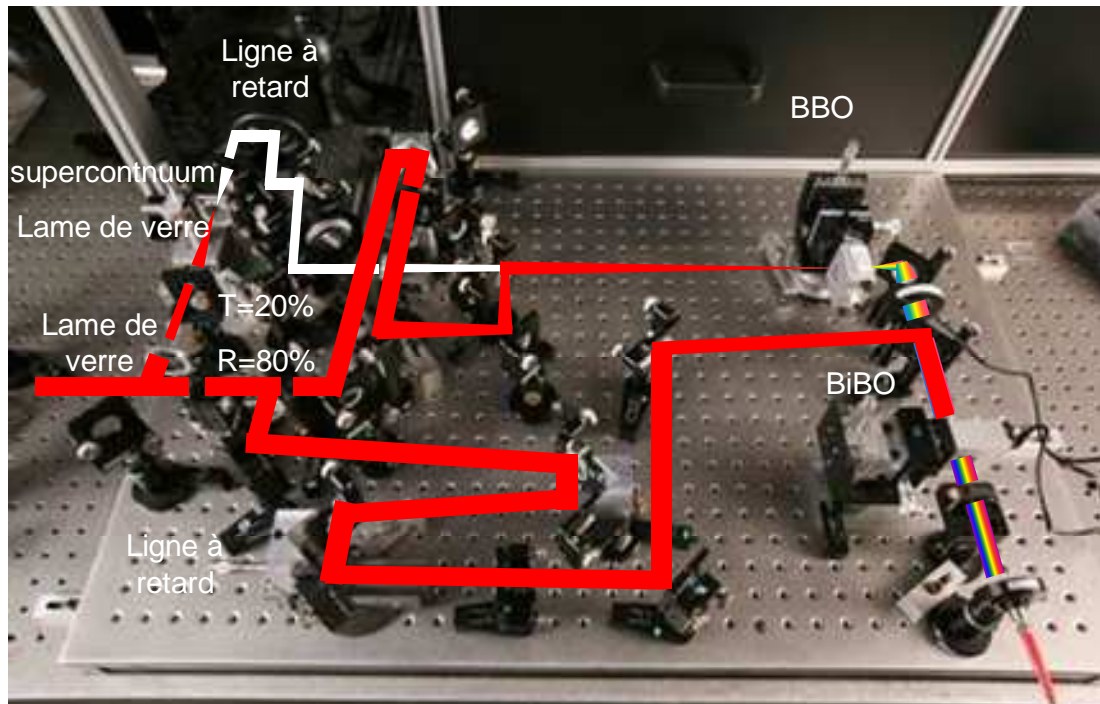


Figure 34 : Photo et parcours du faisceau de l'OPA

Nous avons choisi des cristaux de type 1 : les polarisations de la pompe et du signal sont donc perpendiculaires. Une lame à retard $\lambda/2$ est donc placée immédiatement après la lame prélevant 4% de l'énergie du faisceau de pompe pour la génération du supercontinuum. Elle permet de tourner de 90° la polarisation de la pompe et de passer ainsi de la polarisation s à la polarisation p ¹⁸. Un miroir séparateur permet ensuite de séparer la pompe en transmettant 20% (290 μ J) de celle-ci pour pomper le premier étage d'amplification et en réfléchissant 80 % (1.15 mJ) pour le pompage du deuxième étage. La majorité du gain se faisant sur le second étage, la plus grande partie de la pompe est donc conservée pour celui-ci. Cela permet également de fonctionner en régime de saturation du gain afin de minimiser les instabilités du signal.

4.2.3.1. L'injection par supercontinuum

La première étape du processus d'amplification consiste à créer les premiers photons du signal par génération d'un supercontinuum de lumière blanche contenant la totalité du spectre amplifiable. Il est obtenu en focalisant une petite partie du laser de pompe dans un milieu (4%) jusqu'à atteindre des densités d'énergie juste en-deçà du

¹⁸ s correspond à une polarisation perpendiculaire au plan d'incidence et p à une polarisation contenue dans le plan d'incidence.

seuil de création d'un plasma. Nous avons testé plusieurs milieux dans lesquels il est possible de générer un supercontinuum compatible avec notre application tel que l'eau, qui a l'inconvénient d'absorber aux mêmes endroits que la cornée ($1,45 \mu\text{m}$), des lames de saphir ou encore des lames de silice. Le saphir offre un gain important et permet d'obtenir un continuum homogène [189] : il est donc souvent choisi dans les systèmes présentés dans la littérature ou commercialisés. Nous avons retenu la solution utilisant une lame de silice car elle offrait le meilleur gain entre $1,6 \mu\text{m}$ et $1,75 \mu\text{m}$. De plus, nous avons choisi une lame d'un centimètre d'épaisseur, ce qui offre l'avantage d'allonger légèrement la durée des impulsions, facilitant ainsi la sélection de longueur d'onde au premier étage d'amplification (justement de la ligne à retard en plus de la sélectivité angulaire de l'accord de phase). Cette lame est placée dans un système afocal de grossissement $2/3$ et fixée sur un déplacement micrométrique : elle est pompée par une réflexion sur une lame de verre de 4% du faisceau de la pompe ($60\mu\text{J}$). Plusieurs effets non-linéaires sont à l'origine de la génération de supercontinuum, dont l'automodulation de phase [190], mais l'explication physique de ce phénomène demeure incomplète.

Pour conserver la cohérence du continuum, il est nécessaire de travailler très près du seuil. Un iris placé en amont permet de réguler l'énergie et le déplacement micrométrique permet de déplacer la lame par rapport au col du faisceau en évitant de les superposer.

Le continuum est ensuite collimaté, puis réfléchi par une ligne à retard réglable avec une précision sub-micrométrique afin de synchroniser les impulsions de pompe et du continuum au passage du cristal du premier étage. La première partie de la pompe et le continuum sont focalisés juste en amont de ce premier cristal.

Les énergies du continuum sont seulement de l'ordre de quelques nJ, c'est pourquoi il est ensuite nécessaire d'amplifier ce signal pour les expériences chirurgicales.

4.2.3.2. Propriété optique des cristaux non-linéaires de BBO et de BiBO

Les cristaux de BBO et de BiBO étant très semblables, je détaillerai dans cette section principalement le premier, plus largement connu. Je préciserai les quelques

points fondamentaux qui les distinguent lorsque cela sera nécessaire. Les détails du cristal de BiBO ont été décrits plus en détail par Petrov *et al.* [191]

Le cristal est uniaxe négatif : il offre une large biréfringence et une dispersion relativement faible. Sa transparence s'étend de 189 nm à 2600 nm [192,193]. Sa surface est sujette à détérioration du fait de l'humidité ambiante. Par conséquent, celui-ci est placé dans un four maintenant sa température à 50 °C. La dépendance de l'indice de réfraction en température entre 20 °C et 80 °C est donnée par la relation

$$\frac{dn_o}{dT} = -16,6 \cdot 10^{-6} / ^\circ C,$$

$$\frac{dn_e}{dT} = -9,3 \cdot 10^{-6} / ^\circ C.$$

Pour connaître les indices ordinaires et extraordinaires des cristaux afin d'optimiser la propagation de trois ondes, il suffit de se référer aux équations de Sellmeier [185,192,194,195,196] qui valent pour le BBO :

$$n_o^2 = 2,7405 + \frac{0,0184}{\lambda^2 - 0,0179} - 0,0155\lambda^2,$$

$$n_e^2 = 2,3730 + \frac{0,0128}{\lambda^2 - 0,0156} - 0,0044\lambda^2,$$

dans lesquelles λ est donnée en μm . Dans notre cas $n_o > n_e$.

L'accord de phase colinéaire est lié à l'angle (θ) entre l'axe optique et la direction de propagation des ondes définis selon z . Pour bien définir leurs directions de propagation dans l'espace x,y,z , il faut ajouter l'angle (σ) entre la projection de la direction de propagation dans le plan (x,y) et l'axe x (figure 35).

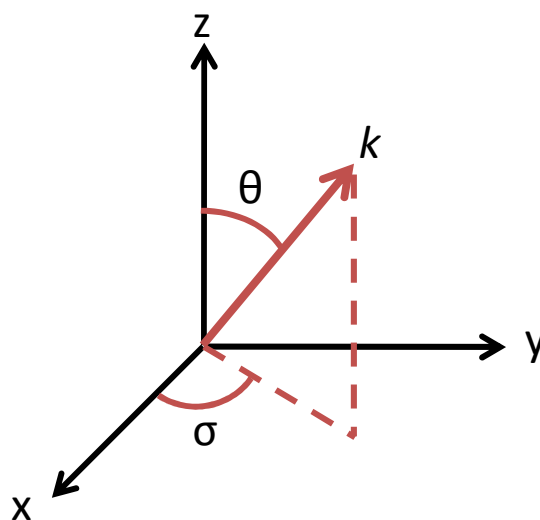


Figure 35 : Représentation d'un trièdre direct incluant les positions des angles θ et σ .

Ces deux angles sont choisis afin de maximiser le coefficient non-linéaire ou encore le d_{eff} qui pour un cristal de type I vaut en fonction de ces angles:

$$d_{eff}^{ooe} = d_{31}\sin\theta - d_{22}\sin3\sigma\cos\theta.$$

Cela correspond à un d_{eff} d'environ 2pm/V et $\sigma = 0^\circ$ pour les deux cristaux que nous avons utilisés et pour une pompe à 812 nm, un angle $\theta=19,8^\circ$ pour le BBO si le signal est centré à 1650 nm et à $\theta=11,4^\circ$ pour le BiBO sur toute la gamme entre 1400 nm et 1900 nm. La figure 36 représente l'évolution de cet angle sur notre plage d'intérêt.

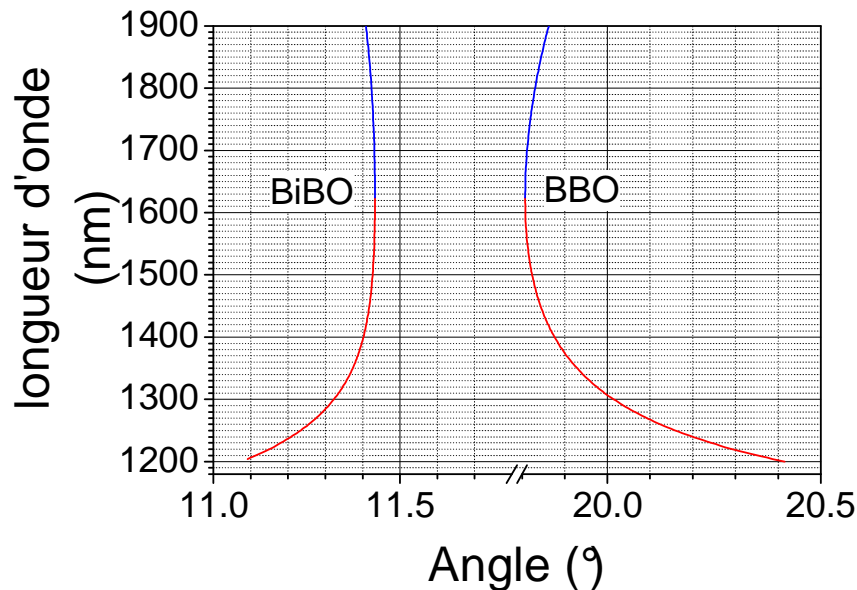


Figure 36 : angles d'accord de phase θ pour le BBO à droite et le BiBO à gauche dans le proche infrarouge pour une pompe à 812 nm (en rouge le signal et en bleu le complémentaire) obtenues à partir du logiciel SNLO.

Ces graphes montrent bien la possibilité de sélectionner la longueur d'onde du signal qui sera amplifiée, par rotation du cristal de BBO. D'autre part, la figure 37 décrivant le gain obtenu à partir d'un cristal de BiBO [191] est plus explicite quant à la pertinence du choix de ce cristal en 2^{ème} étage pour obtenir un gain fort et homogène sur toute la plage qui nous intéresse.

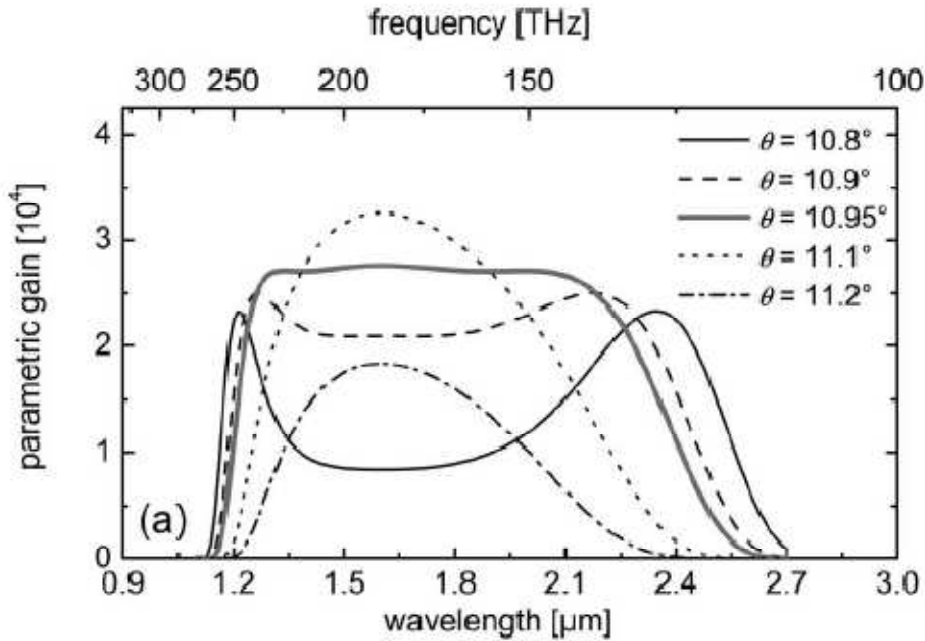


Figure 37 : Gain paramétrique pour un cristal de BiBO de 3 mm de long en configuration de type I, calculé pour différents angles d'accord de phase, incluant la dégénérescence, avec une pompe de 60 GW/cm² centrée autour de 800 nm [191]

4.2.4. Résultats

4.2.4.1. Énergies délivrées par l'OPA

L'énergie nécessaire pour notre application de greffe de cornée (1 μJ minimum à 5 μJ idéalement) est largement obtenue en sortie du premier étage d'amplification. Le maximum de conversion est en effet de 16,7%, soit environ 10 μJ. Cependant, cela reste insuffisant pour étendre les applications à d'autres tissus tels que la sclère ou le cristallin. De plus, la génération de continuum qui se fait par des phénomènes non linéaires d'ordre élevés étant très sensible aux variations de la pompe, l'amplification sur un seul étage hérite de ces fluctuations. Enfin, le gain en sortie du BBO est relativement inhomogène entre 1200 nm et 1750 nm. Le second étage permet donc de stabiliser l'impulsion en saturant le gain, d'homogénéiser l'énergie et de l'accroître puisqu'après le cristal de BiBO, l'énergie disponible atteint 300 μJ, soit 20 % de conversion totale.

Les fluctuations d'énergie des faisceaux signal et complémentaire sont quadratiques par rapport à celles du faisceau de pompe. Par conséquent, si celle-ci varie

de plus de 10 %, on se retrouve dans un régime « tout ou rien ». L'utilisation rigoureuse de l'OPA requiert donc de prendre un soin tout particulier à l'alignement de la pompe et aux conditions ambiantes.

4.2.4.2. Durée et phase spectrale des impulsions

La mesure de la durée des impulsions est un des points de contrôle les plus importants lorsque l'on travaille en régime femtoseconde. Bien que ce point ne soit pas critique pour l'application de chirurgie puisqu'il nous suffit de rester dans le domaine subpicoseconde, cela permet de caractériser le fonctionnement de l'amplification (nous nous attendons à des impulsions de 100 fs compte tenu de la dispersion des cristaux et des différents éléments optiques) et d'écartier l'éventualité d'une amplification de la fluorescence paramétrique générée dans les cristaux.

D'autre part, les systèmes OPA permettent d'obtenir un élargissement spectral potentiellement très intéressant pour obtenir des impulsions en dessous des 10 fs. Cette caractéristique n'est pas directement utile voire non souhaitable pour notre application, mais cette propriété reste intéressante dans la perspective d'une utilisation autre de cet outil. L'analyse de phase peut se faire simultanément avec la mesure de durée par l'utilisation d'un FROG (synchronisation optique résolue en fréquence en français pour *Frequency Resolved Optical Gating*) [197]. Dans le cas où cette phase ne comporte des perturbations qu'au 2^{ème} et 3^{ème} ordre, il devient possible de recomprimer cette impulsion par des éléments dispersifs tels que des prismes ou des réseaux de diffraction, pour s'approcher d'un spectre limité par transformée de Fourier (correspondant à la plus courte durée d'impulsion atteignable pour une largeur de spectre donnée).

Les résultats de cette mesure sont donnés sur les figures 38, 39 et 40 et confirment une durée d'environ 100 fs, ainsi qu'une phase spectrale variant essentiellement en $\varphi^{(2)}$ et $\varphi^{(3)}$ (3-11).

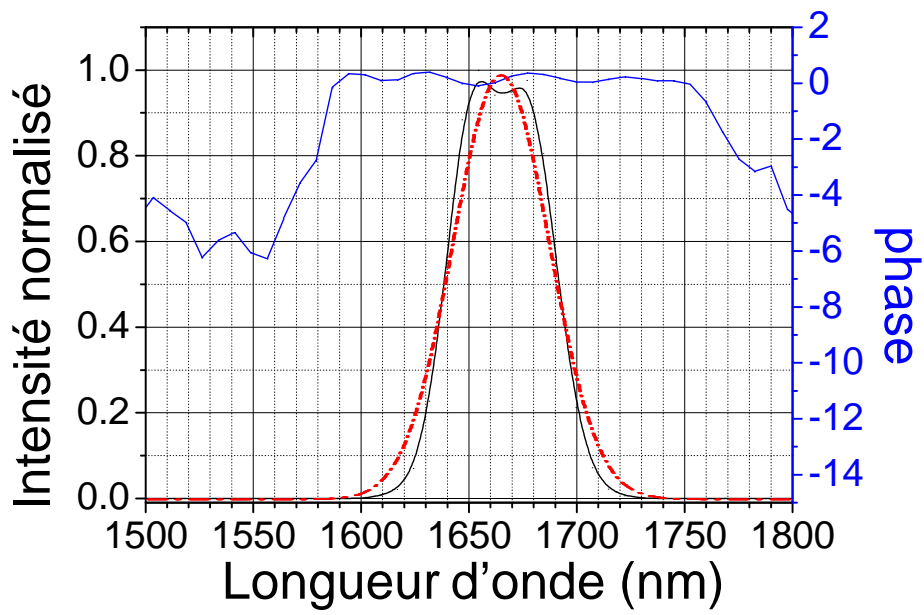


Figure 38 : Spectre (en noir) et phase spectrale (en bleu) de l'OPA mesurés avec un FROG¹⁹, ainsi que le résultat d'un ajustement numérique par une fonction gaussienne (en rouge)

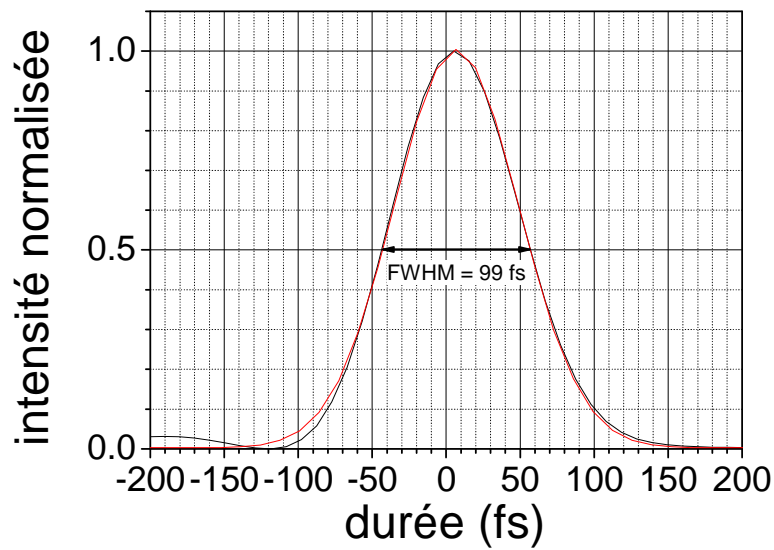


Figure 39 : Mesure de la durée du signal de l'OPA par un FROG et ajustement par une gaussienne, les rebonds sont dues à l'oscillation de la phase.

¹⁹ FROG APE

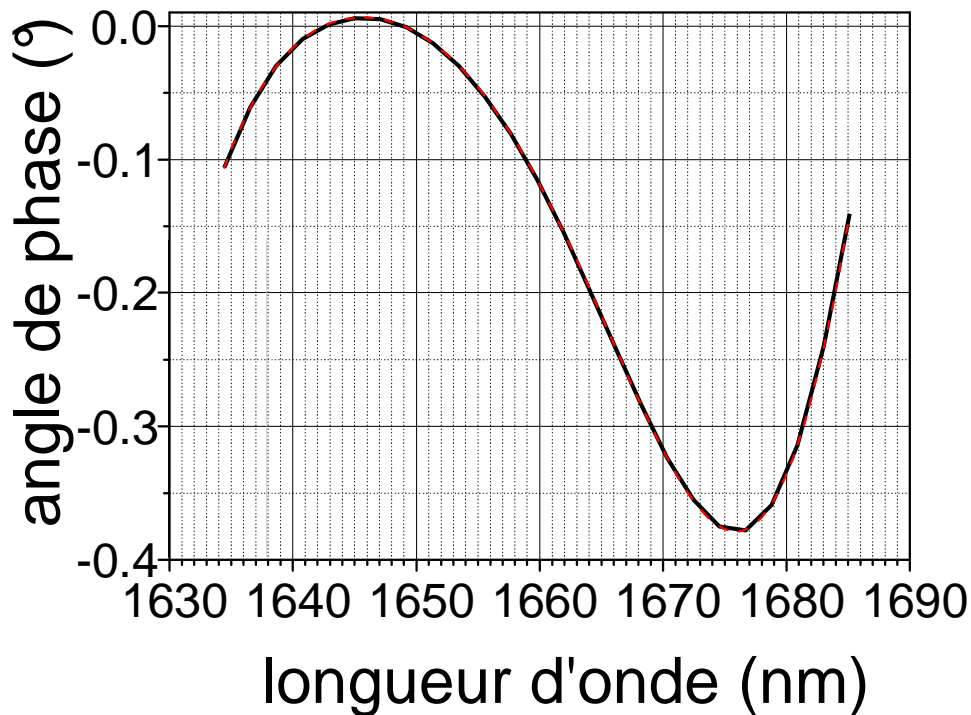


Figure 40 : Interpolation de la phase par une fonction polynomiale

Équation : $y=a_0+a_1x+a_2x^2+a_3x^3+...$					
$R^2 = 0,99$					
Coefficients	a0	a1	a2	a3	a4
valeurs	$1,15 \cdot 10^{11}$	$-3,73 \cdot 10^8$	$4,27 \cdot 10^5$	$-1,16 \cdot 10^2$	-0,17

Tableau 8 : Coefficients de la courbe polynomiale utilisée pour l'interpolation de la phase

4.2.5. Accordabilité de l'OPA

La plage d'accordabilité en longueur d'onde de l'OPA peut théoriquement s'étendre de 1200 nm à 2700 nm avec une pompe autour de 800 nm. Nous ne disposons pas de spectromètres capables de mesurer une telle étendue de spectres, cependant nous pouvons mesurer le signal. Par conséquent, en utilisant les relations développées plus haut, nous avons nécessairement le complémentaire correspondant. Les résultats présentés sur la figure 41 correspondent à la plage d'accordabilité nécessaire à notre application, c'est-à-dire qu'ils s'étendent de 1200 nm à 1750 nm. Les différents spectres ont été mesurés en effectuant uniquement une rotation du cristal de BBO. Ils ne sont pas normalisés afin de mettre en évidence la constance de l'intensité de sortie sur toute la

plage d'accordabilité incluant le double de la longueur d'onde de pompe (dégénérescence).

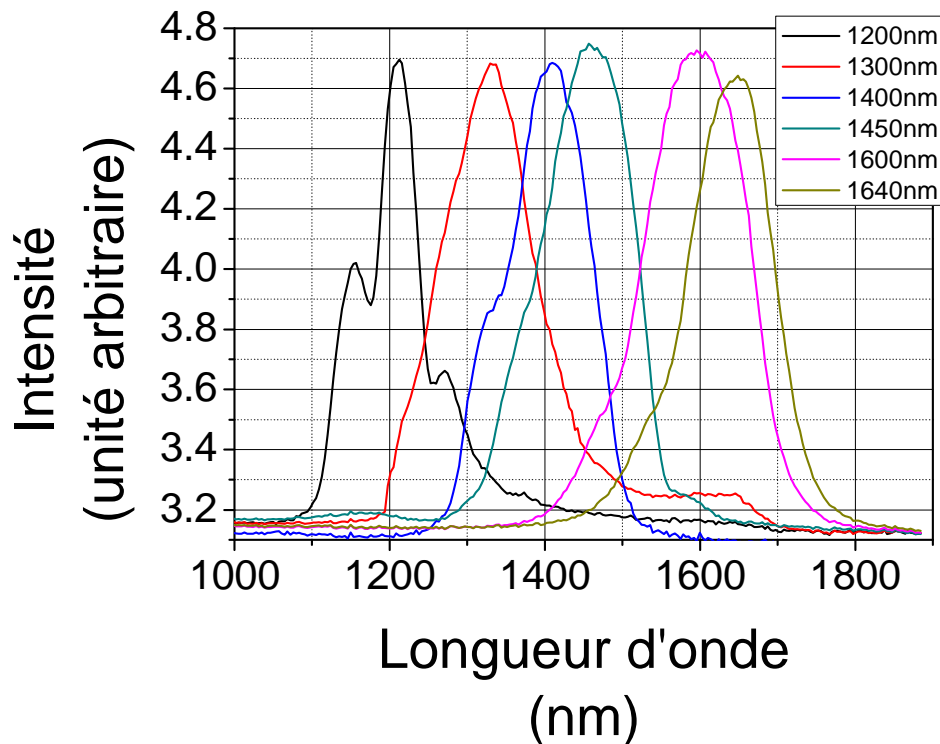


Figure 41 : Accordabilité spectrale de l'OPA entre 1200 nm et 1750 nm.

4.3. Source accordable par quasi-accord de phase

4.3.1. État de l'art des sources par quasi-accord de phase

L'historique du quasi-accord de phase est proche de celui de l'accord de phase. La physique qui les décrivent a d'ailleurs été développée par les mêmes équipes [166,199]. Pour apprécier l'apport de la source présentée ici, nous pouvons nous référer aux meilleures performances obtenues avec ce type de sources paramétriques utilisant des cristaux polarisés périodiquement. Ainsi, le résultat le plus remarquable et le plus proche de notre développement aujourd'hui publié est signé Galvanauskas *et al.* [198]

qui ont obtenu des efficacités de conversion d'environ 40 % et des énergies atteignant 80 nJ avec des cadences de 71 kHz, des durées d'impulsions de 300 fs et des longueurs d'onde signal comparables aux nôtres (1 μm à 3 μm). Les différences viennent donc de l'épaisseur moins importante des cristaux qu'ils ont utilisé (0,5 mm) ainsi que de l'énergie et de la longueur d'onde de la pompe utilisée (respectivement 220 nJ et 770 nm). Nos résultats correspondent donc à une augmentation de deux ordres de grandeurs de l'énergie par rapport aux meilleures performances publiées, à notre connaissance, ces résultats sont présentés dans la section 4.3.4.1. On peut remarquer également que la longueur d'onde de pompe vient d'un laser fibré erbium doublé en fréquence. Cela correspond cependant à un spectre qui peut être obtenu à partir d'une source laser titane:saphir. Compte tenu de la prédominance incontestable des sources de titane:saphir dans les laboratoires et de la relative nouveauté des sources à 1 μm pompées diodes, très peu de systèmes paramétriques ont été développés qui soient pompés à cette longueur d'onde, ce qui contribue à l'aspect novateur de cet OPG.

4.3.2. Le laser de pompe Yb :KYW

Le laser utilisé pour pomper l'OPG est de type DPSSL (laser à état solide pompé diode pour *Diode Pumped Solid State Laser*). Ces systèmes ayant été largement détaillés en section 3.1.2.1, je ne vais détailler ici que les spécificités qui nous concernent dans le cadre de l'OPG.

Il s'agit d'un laser commercial²⁰, composé d'un oscillateur et d'un amplificateur régénératif, délivrant des impulsions accordables en durée entre 500 fs et 1 ps, émettant à une longueur d'onde centrale de 1,028 μm avec une largeur spectrale à mi-hauteur de 5 nm. Sa cadence peut également être modifiée entre 1 kHz et 100 kHz, pour des énergies respectives allant de 1 mJ à 40 μJ . Enfin, le faisceau fait environ 3 mm de diamètre et sort avec une polarisation s.

²⁰ S-pulse HP, Amplitude-systèmes, Pessac, France

4.3.3. Le générateur paramétrique optique

4.3.3.1. Caractéristiques du cristal de PPMLN

Les propriétés physiques du cristal de PPMLN sont résumées dans l'annexe 1. Cette section précise les choix de paramètres effectués dans le cadre de notre application de greffe de cornée.

Les longueurs de cohérence et donc les longueurs des périodes du cristal sont très courtes loin de l'accord de phase. Ainsi, en utilisant une pompe centrée à $1,03 \mu\text{m}$ pour créer un signal aux alentours de $1,65 \mu\text{m}$, elles sont d'environ $30 \mu\text{m}$. On a alors accès à des plages d'accordabilités allant de 20 nm à 200 nm en fonction de la période et de la température du cristal. L'augmentation des plages spectrales correspond à un rapprochement du signal généré vers le double de la longueur d'onde de pompe et donc à un allongement de la longueur des périodes. Nous avons choisi un cristal²¹ comprenant 6 périodes juxtaposées de $29,37 \mu\text{m}$, $29,46 \mu\text{m}$, $29,86 \mu\text{m}$, $30,13 \mu\text{m}$, $30,46 \mu\text{m}$ et $30,84 \mu\text{m}$, ce qui correspond à une accordabilité théorique s'étendant de 1450 nm à 2060 nm pour le signal et de 2060 nm à 3560 nm pour le complémentaire en variant la température du cristal entre $50 \text{ }^\circ\text{C}$ et $167 \text{ }^\circ\text{C}$.

Chaque réseau a une ouverture utile de $2 \times 2 \text{ mm}^2$ pour une longueur totale de 5 mm , ce qui garantit un gain maximal puisque la dispersion de vitesse de groupe décale le recouvrement des impulsions du signal et de la pompe sur environ 3 mm .

4.3.3.2. Dispositif expérimental

Le cristal de PPMLN est placé sur un four permettant de faire varier sa température ou de le conserver en permanence à environ $50 \text{ }^\circ\text{C}$ car il est fortement hygroscopique²². Une lame à retard $\lambda/2$ permet au préalable d'ajuster la polarisation perpendiculairement au réseau du cristal. La pompe est ensuite focalisée avec une lentille de focale 1500 mm afin de maximiser la taille du col du faisceau soit un diamètre d'environ $1/3$ de l'ouverture utile. Il est de plus focalisé au centre du cristal afin de maximiser l'énergie de pompe injectée dans le cristal sans atteindre le seuil de dommage

²¹ PPMLN ($2 \times 2 \times 5 \text{ mm}^3$), HCPhotonics, Hsinchu, Taiwan

²² Il s'agit d'un sel par conséquent à l'air libre et à température ambiante il absorbe rapidement de l'eau et devient diffusant. On pourrait dire qu'il devient œdémateux.

de celui-ci. Cette configuration permet de générer des impulsions de l'onde signal les plus énergétiques possible. Une autre configuration consiste à placer le col du faisceau sur la face arrière du cristal, ce qui permet d'optimiser l'efficacité de conversion. Un schéma de ces deux options ainsi qu'une photo de l'OPG sont visibles sur la figure 42.

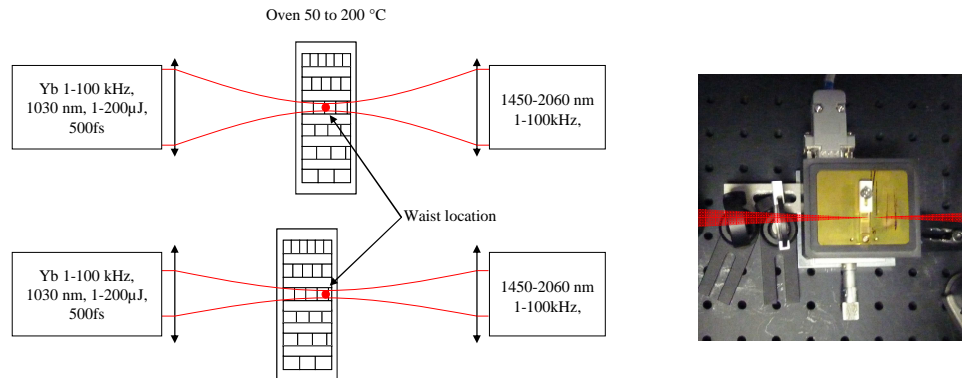


Figure 42 : Schéma des méthodes de focalisation dans les cristaux de PPLN à gauche et photo de l'OPG dans son four à droite

4.3.4. Résultats

4.3.4.1. Énergies délivrées par l'OPG

Les énergies en sortie de cette source paramétrique sont limitées par deux facteurs essentiels. Tout d'abord les cristaux adaptés au quasi accord de phase par retournement de domaine (ferroélectriques) ont des seuils de dommage beaucoup plus faibles que les cristaux utilisés pour des configurations par accord de phase. De plus, il n'est pas possible de contourner cette contrainte par un élargissement de la taille de cristaux, car la technologie ne permet pas de maintenir une bonne qualité optique au-delà de 2 à 3 mm d'épaisseur, en particulier si on dope le cristal à l'oxyde de magnésium comme c'est le cas ici. Ce dopage est toutefois réalisé car il augmente le seuil de dommage d'environ 2 ordres de grandeurs. Le seuil théorique de dommage n'est pas encore bien défini en régime femtoseconde. De plus, il n'est pas identique suivant la température du cristal, celui-ci étant photoréfractif²³. Il est de 10^9 W/cm^2 à $1 \mu\text{m}$ pour une impulsion nanoseconde au-delà de $50 \text{ }^\circ\text{C}$. Nous avons trouvé expérimentalement, avec nos impulsions femtoseconde, un seuil d'environ 4.10^8 W/cm^2 , avec un cristal

²³ Modification de l'indice de réfraction en fonction de l'intensité lumineuse qui induit une autofocalisation. Cette propriété peut être compensée en chauffant le cristal ce qui permet d'exciter les électrons et diminue cet effet

chauffé à une température de 100 °C. De plus, lorsque l'on s'approche du seuil de dommage, la formation d'une lentille de Kerr limite l'efficacité de conversion. En effet, les faisceaux de pompe, du signal et du complémentaire ne peuvent alors plus être considérés colinéaires au réseau de périodes, ce qui provoque un gradient de longueurs de cohérence (longueurs de période) parcouru par le faisceau et s'accompagne d'une baisse de sélectivité spectrale et donc d'une baisse de gain.

Un maximum d'énergie de 20 μJ a été obtenu avec des impulsions de pompe de 200 μJ , soit une efficacité de conversion de 10%. Le maximum de conversion était de 20% autour de 30 μJ de pompe avec 6 μJ de signal en sortie d'OPG.

4.3.4.2. Accordabilité et largeur spectrale des impulsions du signal

L'accordabilité mesurée avec ce dispositif est représentée en figure 43, où elle est comparée avec la théorie obtenue grâce au logiciel SNLO²⁴.

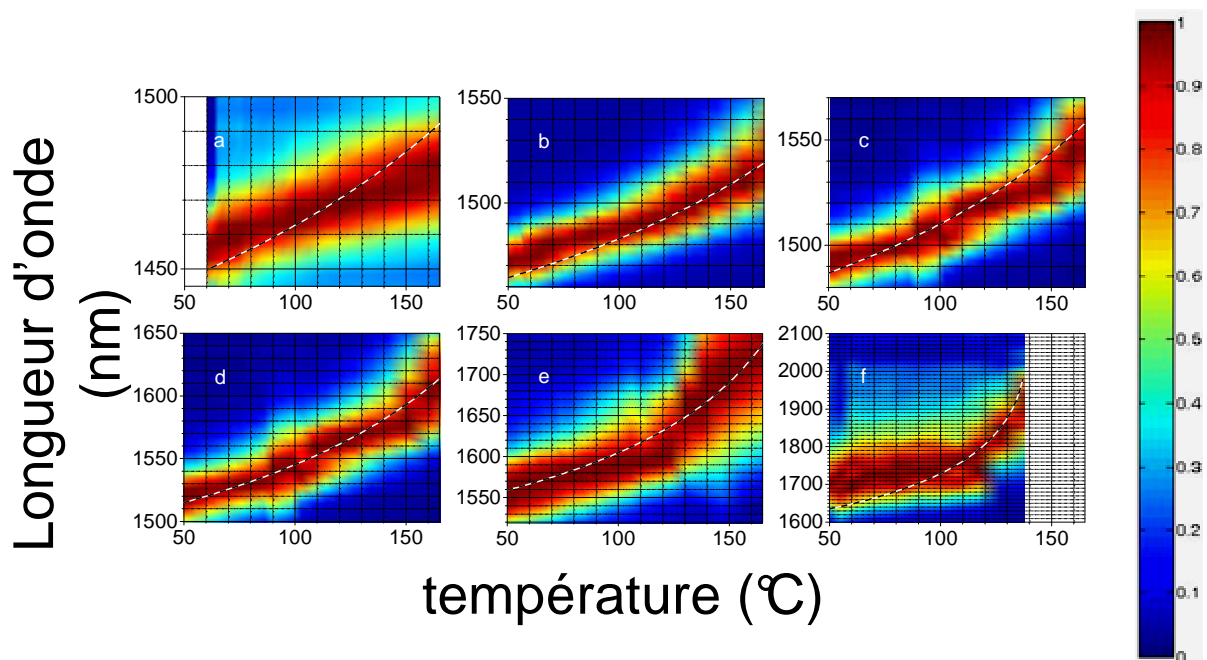


Figure 43 : Représentation en fausse couleur des mesures de spectres optiques en fonction de la température du cristal de PPLN, avec des impulsions de 30 μJ centrées à 1030 nm. Les lignes pointillées noir et blanche montrent les évolutions théoriques calculées à partir du logiciel SNLO. Les périodes de réseau sont (a) 29,37 μm , (b) 29,60 μm , (c) 29,86 μm , (d) 30,13 μm , (e) 30,46 μm , (f) 30,84 μm . (Les conditions de quasi-accord de phase ne sont pas vérifiées en dessous de 60° pour la période (a) et au dessus de 137 °C pour la période (f)).

²⁴ Arlee Smith au Sandia National laboratories, logiciel permettant de définir les paramètres de cristaux utilisés en physique des lasers

La plage d'accordabilité du signal augmente avec l'allongement des périodes des réseaux. En variant la température du cristal entre 50 °C et 167 °C, la première période couvre une plage spectrale de seulement 20 nm ce qui correspond à un signal allant de 1450 nm à 1470 nm, alors que la dernière de 30,84 μm permet de paramétrer le signal sur une plage de 200 nm pour une accordabilité allant de 1700 nm à 1900 nm en considérant la longueur d'onde centrale. L'accordabilité cumulée permet d'obtenir un signal entre 1450 nm et 1900 nm soit une accordabilité totale de 450 nm et un complémentaire entre 2250 nm à 3500 nm soit 1250 nm de plage spectrale. Le complémentaire est également utilisable car le cristal reste transparent sur toute cette zone excepté une bande spectrale étroite vers 2800 nm avec environ 50 % d'absorption ce qui correspond à un signal de 1630 nm. Pour illustrer ces propos les spectres des six périodes pris à 60 °C et les spectres de la deuxième période obtenus en variant la température entre 50 °C et 167 °C sont représentés sur la figure 44. Aucune donnée n'est représentée en dessous de 60 °C pour la première période et au-delà de 137 °C pour la dernière car ces températures correspondent à des longueurs de cohérence ne vérifiant pas les conditions de quasi accord de phase. Des effets non-linéaires apparaissent alors mais sans donner lieu à une conversion cohérente.

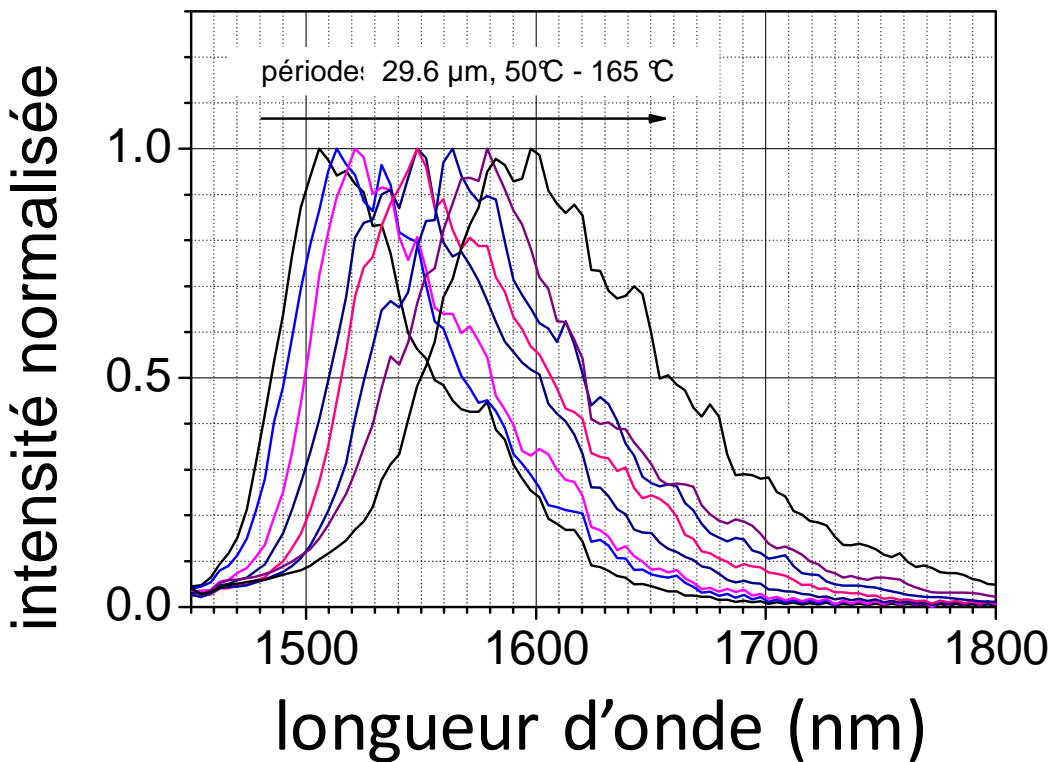
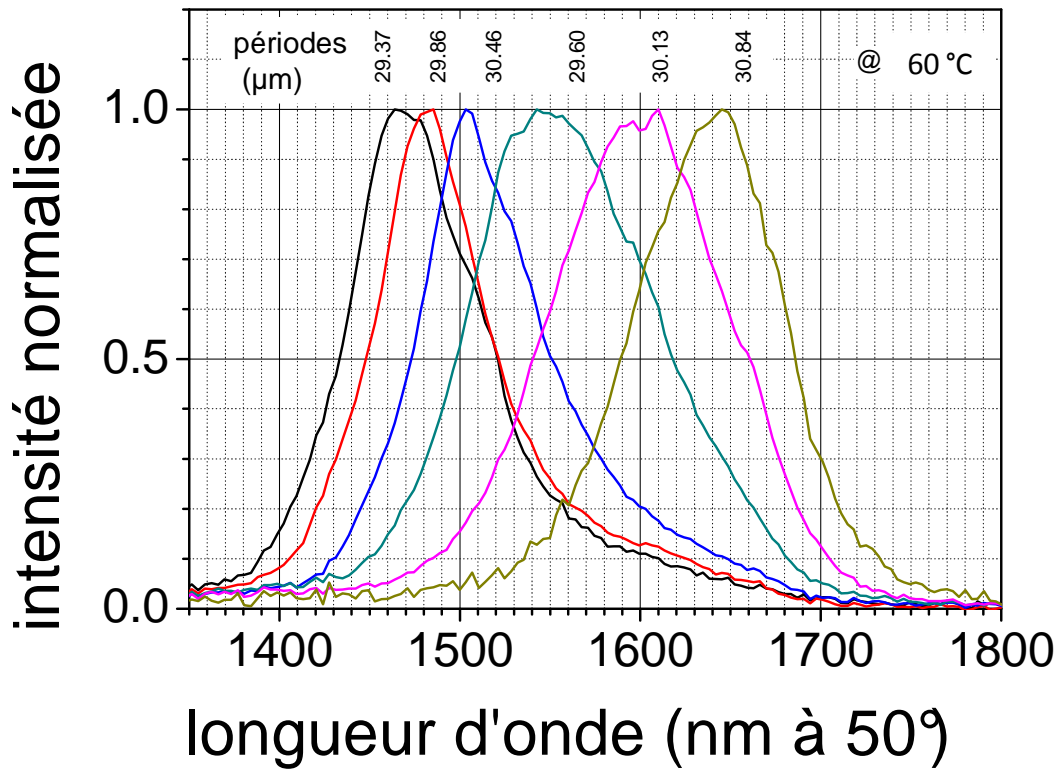


Figure 44 : En haut: spectres des 6 périodes à une température de 50 °C. En bas : évolution du spectre de la 2^{ème} période (29,60 μm) en fonction de la température.

Les mesures représentées ont été effectuées avec une énergie de pompe de 30 μJ , et donc avec un signal de 6 μJ à l'exception des longueurs d'onde les plus élevées (environ au-delà de 1800 nm) dont l'élargissement spectral provoque une baisse d'efficacité de conversion. Cet élargissement spectral est remarquable étant donné que la pompe n'est large que de 5 nm. Une représentation de la largeur totale à mi-hauteur (FWHM) des spectres de la figure 43 est montrée sur la figure 45. Le minimum d'élargissement spectral est observé sur les trois premières périodes au minimum de température, ce qui correspond au point le plus éloigné de la dégénérescence. Il est de 30 à 40 nm FWHM. À l'opposé, un spectre maximum de 180 nm FWHM a été mesuré pour la dernière période à 167 °C. On obtient donc un élargissement spectral de 6 à 36 fois la largeur de la pompe. Ceci s'explique physiquement par le fait que la longueur de cohérence entre le signal et la pompe converge lorsque l'on s'approche de la dégénérescence. Les incertitudes de production des cristaux peuvent entraîner des variations de $\pm 0,1 \mu\text{m}$ d'une période à l'autre, ce qui diminue la sélectivité spectrale en particulier lorsque l'on s'approche de la configuration où l'onde signal et l'onde complémentaire se confondant vers 2060 nm²⁵. En comparaison, un élargissement spectral qui serait dû aux conditions de focalisation est négligeable puisque les distances de Rayleigh (de l'ordre du mètre) sont bien supérieures à la longueur du cristal tant que la lentille Kerr est négligeable.

²⁵ Les variations de longueurs de cohérence d'une longueur d'onde signal à une autre diminuent à l'approche du double de la longueur d'onde du laser pompe.

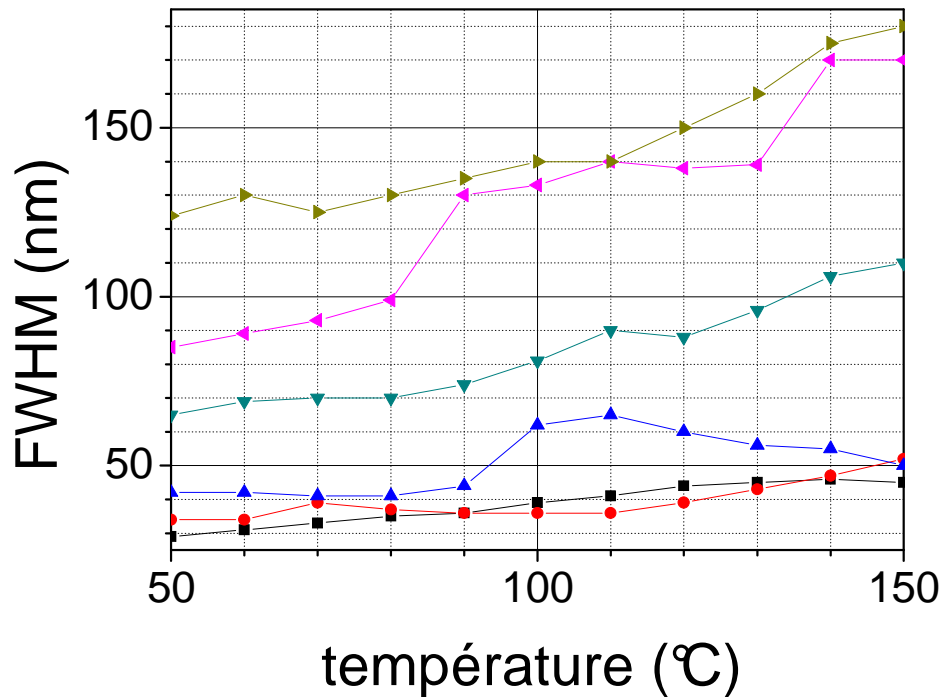


Figure 45 : Évolution de la largeur totale à mi-hauteur (FWHM) pour chaque période en fonction de la température à partir des spectres de la figure 43

4.3.4.3. Durée des impulsions

La mesure de durée des impulsions est rendue difficile par le fort élargissement spectral que nous avons décrit dans la section précédente. En effet, l'autocorrélateur²⁶, qui a servi aux mesures utilise des cristaux non-linéaires afin de doubler en fréquence l'onde signal et de pouvoir effectuer la mesure de durée. Or, la génération de seconde harmonique n'est pas efficace sur les 180 nm à mi-hauteur de l'élargissement maximal. Cette mesure a donc été effectuée sur les premières périodes et pour les températures les plus faibles. On peut toutefois concéder qu'elles demeurent relativement similaires sur toute la plage d'accordabilité puisque la dispersion reste faible en particulier pour cette échelle de durées d'impulsions. La figure d'autocorrélation est donc représentée sur la figure 46 et sa largeur à mi-hauteur correspond à une durée de 600 fs si on la mesure sur le résultat d'un ajustement numérique par une gaussienne.

²⁶ PulseCheck, APE, Berlin, Allemagne

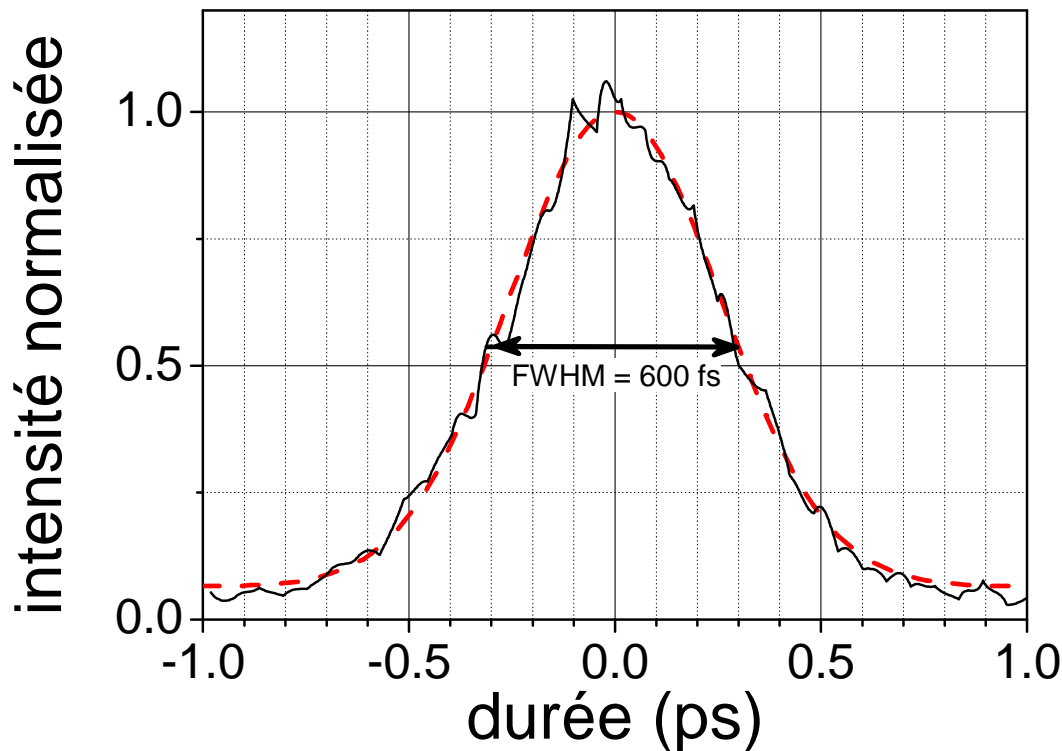


Figure 46 : Mesure typique de la figure d'autocorrélation de l'onde signal. La durée des impulsions varie peu d'une longueur d'onde à l'autre et d'une période à l'autre.

On peut remarquer que cette durée est similaire à celle de la pompe. Néanmoins, comme nous l'avons dit plus haut, les largeurs spectrales sont nettement supérieures à celles que l'on obtiendrait si le spectre restait limité par transformée de Fourier. Nous pouvons conclure que nous sommes très loin de ce régime et donc de la durée minimale théorique. En effet, si les impulsions étaient recomprimées dans des conditions idéales, cette largeur spectrale pourrait donner lieu à des impulsions inférieures à 10 fs encore plus courtes que celles atteignables avec l'OPA.

4.3.4.4. Discussion

Cet OPG est un outil potentiellement très bien adapté à une industrialisation et en particulier dans le cadre d'une application clinique de type greffe de cornée, opération du glaucome ou encore chirurgie de la cataracte. Cependant, un certain nombre d'études académiques et de valorisation doivent encore être menées pour l'optimiser.

- Il reste à évaluer précisément l'ampleur de la lentille thermique et les effets qu'elle engendre sur la cohérence spatiale et la sélectivité spectrale du faisceau signal.
- Le fort élargissement spectral permet d'envisager la possibilité de générer des impulsions ultracourtes, caractéristique très intéressante par exemple pour la génération d'harmoniques ou encore pour les applications de filamentation.
- Un deuxième étage d'amplification permettrait d'avoir une source gagnant jusqu'à un facteur 10 en énergie, devenant ainsi plus polyvalente notamment pour les applications de chirurgie du glaucome et de la cataracte.
- L'élargissement spectral est également lié à une baisse d'efficacité de conversion. L'ajout d'un second étage d'amplification incorporant un système de filtrage entre les deux étages devrait permettre de mieux contrôler le spectre. Une solution bien adaptée aux applications sur le tissu consisterait à placer une cuve d'eau entre les deux étages. Plus l'intensité des impulsions serait grande plus on pourrait augmenter l'épaisseur du filtre à eau et plus le spectre amplifié se rapprocherait du spectre de transparence du tissu autour de 1,65 μm .
- Les évolutions dans les techniques de croissance de cristaux permettent d'envisager la possibilité d'utiliser des cristaux plus épais dans un avenir proche puisqu'ils sont passés en 10 ans d'une épaisseur maximale de 0,5 mm à 3 mm, donnant ainsi la possibilité de pomper plus fort et donc d'obtenir un signal plus énergétique.
- De nouvelles recherches se concentrent également sur le potentiel de nouveaux cristaux tel que le PPSLT (tantalate de lithium stœchiométrique polarisé périodiquement) qui pourraient offrir soit des coefficients non linéaires plus élevés, et donc de meilleures efficacités de conversion, soit des seuils de dommages plus élevés et donc la possibilité de pomper plus fort, soit des méthodes de croissance plus simples à maîtriser et donc des cristaux plus épais.
- Enfin, les conditions optimales de focalisation restent à définir précisément. Jusqu'à présent, seule la configuration permettant de

maximiser le signal en énergie a été analysée. Il reste donc à déterminer quels seront les résultats en focalisant sur la face arrière du cristal. D'autant qu'une augmentation de l'efficacité de conversion permettrait de diminuer d'autant l'énergie du laser de pompe nécessaire et donc potentiellement son prix.

4.4. Le laser fibré dopé erbium

Une dernière solution étudiée dans le cadre du projet GRECO par nos partenaires de l'IOGS, concerne l'utilisation de la technologie des lasers fibrés dopés erbium [4]. En effet, cette technologie largement utilisée dans les applications de télécommunication offre un spectre naturel d'émission centré entre 1,55 μm et 1,58 μm . Le gain potentiel de cet élément également de la famille des terres rares décroît rapidement au-delà mais s'étend jusqu'à 1600 nm (correspondant à la bande L en langage de télécommunication). De plus, la grande maturité de cette technologie et la grande variété de fibres disponibles en font globalement une source potentiellement très compacte et économique. Cependant il n'existe aujourd'hui que des sources émettant aux environ de 1565 nm qui atteignent le μJ en régime femtoseconde [200,201]. Le gain étant environ 5 fois plus bas à 1600 nm, il est nécessaire d'employer des fibres beaucoup plus longues pour envisager de telles performances, ce qui engendre une forte augmentation des effets non-linéaires et réduit par la-même le maximum de puissance théoriquement atteignable.

Son développement a nécessité l'utilisation de fibres large cœur, ainsi qu'un contrôle actif de la distorsion non linéaire de la phase spectrale [202]. Ainsi, il a été possible d'optimiser la durée et l'énergie des impulsions et d'obtenir environ 600 fs et 2,5 μJ respectivement.

Le schéma du dispositif utilisé pour obtenir un laser centré autour de 1,6 μm est présenté sur la figure 47.

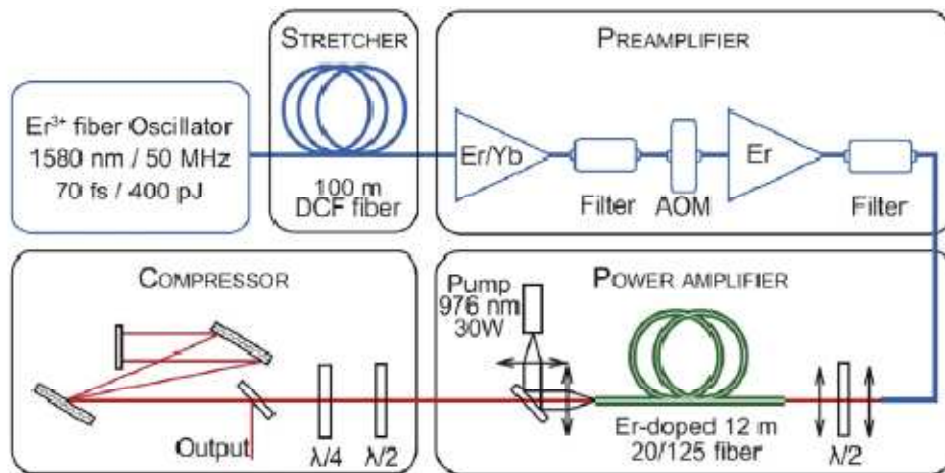


Figure 47 : Schéma du laser fibré dopé erbium développé par l'IOGS [4]

Le laser présente des performances énergétiques de 2 à 3 μJ , à une cadence de 100 à 400 kHz. Il est centré à 1,59 μm avec une largeur spectrale de 12 nm.

Une solution développée par le LCFIO devant permettre de limiter les problèmes non-linéaires propose d'effectuer un co-pompage de la fibre amplificatrice à 976 nm et directement au maximum de gain de l'erbium à 1555 nm afin de saturer le gain à cette longueur d'onde. Bien que les performances de ce laser soient encore légèrement inférieures aux énergies nécessaires pour une application à la greffe de cornée, on peut espérer que le développement des fibres large cœur au-delà d'un diamètre de 70 μm permettra d'augmenter la pompe et donc l'énergie de sortie dans un avenir relativement proche et ainsi d'en faire un candidat sérieux pour devenir la source laser des applications de chirurgie du segment antérieur de l'œil.

Trois sources laser femtoseconde ont été développées pour notre application de greffe de cornée dont les deux premières dans le cadre de cette thèse :

- *Une source par amplification paramétrique optique pompée par un laser de laboratoire titane:saphir. Elle est largement accordable et offre un spectre allant de 1200 nm à 1750 nm pour le signal. Les énergies disponibles atteignent 300 μJ . Son originalité vient de l'utilisation de deux cristaux d'amplification différents. Le premier permet de sélectionner le spectre et le second offre un gain important et homogène. Cette source très flexible est bien adaptée à une étude en laboratoire.*
- *Une seconde source par génération paramétrique optique pompée par un laser commercial dopé ytterbium, lui-même pompé par des diodes. Elle est accordable sur*

une plage de longueurs d'onde allant de 1450 nm à 2000 nm. Elle délivre des impulsions pouvant atteindre 20 μ J ce qui représente une amélioration de deux ordres de grandeur par rapport à l'état de l'art. Elle utilise un cristal de niobate de lithium dopé à l'oxyde de magnésium qui est polarisé périodiquement. Cette source est compacte et robuste. Elle intègre donc les contraintes liées à un usage clinique.

- *La troisième source a été développée par nos partenaires de l'Institut d'Optique Graduate School dans le cadre de la thèse de Frank Morin [4]. Il s'agit d'une source fibrée dopée erbium. Elle délivre jusqu'à 2,5 μ J et à un spectre d'émission centré à 1600 nm. Cette source est la plus compacte et ne nécessite pas de passer par un système de conversion non-linéaire. Les futures évolutions technologiques concernant les fibres optiques dopées erbium devraient permettre d'améliorer ses performances notamment concernant l'énergie des impulsions.*

Chapitre 5 CHIRURGIE CORNÉENNE PAR LASER OPTIMISÉ

Dans ce chapitre, nous présentons les résultats typiques des expériences de découpes par laser dans le volume de cornées pathologiques. Ces expériences ont été réalisées en faisant varier un certain nombre de paramètres et notamment la longueur d'onde d'émission des lasers. Les résultats sont présentés sous forme de photos des échantillons prises en histologie par microscopie optique et en ultrastructure par microscopie électronique en transmission puis analysés avec nos partenaires clinique de l'hôpital de l'Hôtel Dieu de Paris. Le but de ces études est d'évaluer les paramètres offrant les meilleures performances en termes de qualité de découpe et de profondeur de pénétration dans le tissu cornéen pathologique. Notamment, il restait à confirmer la validité des hypothèses de travail adoptées au début du projet GRECO et de cette thèse puis confortées par les mesures de transparence. Elles proposaient de décaler la longueur d'onde d'émission des lasers cliniques centrés autour de 1 μm vers l'infrarouge plus lointain et en particulier vers la fenêtre de relative transparence du tissu cornéen située entre 1600 nm et 1700 nm. Cela pour pouvoir considérablement augmenter les profondeurs de pénétration des faisceaux laser dans le tissu pathologique.

Dans un second temps, une série d'expériences permet de comparer les performances entre des découpes réalisées suivant les paramètres ayant permis d'obtenir les meilleurs résultats et ceux obtenus à partir d'une source laser équivalente à celles utilisées dans les systèmes cliniques typiques par des découpes effectuées simultanément sur un même tissu cornéen. Après une présentation du protocole expérimental, ces résultats sont décrits en détails et accompagnés d'une discussion comportant les principales conclusions.

5.1. Dispositif expérimental

5.1.1. Le dispositif d'expériences chirurgicales

Les trois sources laser développées et présentées dans le chapitre précédent ont été testées et utilisées dans le cadre des expériences chirurgicales. Pour rappel, il s'agit d'un amplificateur paramétrique optique (OPA pour *Optical Parametric Amplification*), d'un générateur paramétrique optique (OPG pour *Optical Parametric Generation*) et d'un laser fibré dopé erbium optimisé pour notre application. De plus, la source servant de pompe à l'OPG ayant des propriétés équivalentes à celles des sources cliniques, nous l'utilisons également à titre de comparaison:

- la source OPA pompée par un laser titane:saphir délivre des impulsions de 100 fs à une cadence de 1 kHz, accordables entre 1200 nm et 1750 nm (section 4.2.3). Sur les 300 μJ disponibles nous avons utilisé jusqu'à 2 μJ pour les expériences sur cornées. L'énergie de sortie est modulée par un atténuateur variable contrôlé par ordinateur ;
- la source OPG pompée par un laser solide dopé ytterbium délivre des impulsions de 500 fs à une cadence variable entre 1 et 100 kHz mais est typiquement utilisée pour nos expériences avec un taux de répétition de 10 kHz. Elle est accordable entre 1450 nm et 2000 nm (section 4.3.3) et à ces longueurs d'onde, jusqu'à 20 μJ sont disponibles. Nous utilisons typiquement 0,25 μJ à 2 μJ pour les découpes sur cornée. L'énergie de sortie est directement contrôlée par l'énergie de la pompe injectée ;
- la source fibrée erbium délivre des impulsions de 700 fs à 1 ps, à une cadence de 200 kHz. Elle est centrée à 1594 nm et délivre une énergie allant jusqu'à 1,8 μJ sur tissu. L'énergie peut être modulée par l'utilisation d'un atténuateur variable manuel, par modification de la puissance de pompe ou par rotation de la polarisation par une lame à retard $\lambda/2$ située en entrée de compresseur (section 4.4) [4].

- La source Yb²⁷ délivre des impulsions de 500 fs à 1 ps, à une cadence de 1 kHz à 100 kHz, ce qui correspond à des énergies respectives de 1 mJ à 40 µJ et elle est centrée à 1028 nm. L'énergie de sortie est contrôlée soit par l'utilisation d'une lame à retard $\lambda/2$ placé devant une lame de Brewster, soit par contrôle direct du temps d'extraction dans la cavité de l'amplificateur régénératif.

Deux systèmes de contrôle placés à la sortie des sources et accessibles par un miroir basculant ou par réflexion sur une lame de verre permettent de contrôler le spectre et la durée de l'impulsion. Les spectromètres utilisés sont soit un système de la société Avantes²⁸ ayant un détecteur InGaAs dont la plage d'utilisation s'étend de 1 µm à 1,75 µm, soit un système de la société Ocean Optics²⁹ utilisant également un détecteur InGaAs mais refroidi par effet Peltier, sensible de 900 nm à 2,5 µm. La mesure de durée se fait par un autocorrélateur développé au laboratoire ou par un autocorrélateur utilisable également en système FROG³⁰ (*Frequency Resolved Optical Gating*).

Un système de télescope variable en fonction du laser est ensuite installé afin d'obtenir un faisceau dont le diamètre couvre l'ouverture utile des optiques de focalisation utilisées pour les expériences de découpes sur les échantillons.

Un obturateur pilotable par ordinateur permet ensuite de contrôler la délivrance ou non du laser.

Les éléments suivants, sur le parcours optique, sont les optiques de focalisation. Elles sont montées sur un microscope optique inversé qui permet de contrôler précisément leur distance à l'échantillon. Une sortie optique et une autre numérique permettent de visualiser directement ou sur un écran la surface de l'échantillon. Trois objectifs de microscope et une lentille sur mesure peuvent être utilisés pour nos expériences. Leurs différentes caractéristiques sont présentées dans le tableau 9. Elles servent à focaliser le faisceau sur la cornée.

²⁷ Spulse-HP, Amplitude-Systèmes, Pessac, France

²⁸ Avaspec-NIR256-1.7, Avantes, Eerbeek, Pays-Bas

²⁹ NIRQuest512-2.5, Ocean Optics, Dunedin, Floride, États-unis

³⁰ Pulse check autocorelator, APE, Berlin, Allemagne

Optique de focalisation	Correction couvre-objet	Ouverture Numérique	Diamètre théorique de la tâche d'Airy $\lambda = 1,03$	Diamètre théorique de la tâche d'Airy $\lambda = 1,60$	Plage d'utilisation en longueur d'onde
Objectif REFLX Cassegrain Edmund Optics 15×	0	0,28	4,48 μm	6,97 μm	T>95% 800 nm - 10 μm
Objectif de microscope Zeiss LD Plan-Neofluar 20×/corr	0 à 1,5 mm	0,4	3,14 μm	4,88 μm	T>70% 400 nm - 1000 nm
Objectif de microscope Nacet Plan-Apochromatiques 40×	0	0,55	2,28 μm	3,55 μm	Optimisé 600 nm - 1800 nm
Lentille f-thêta sur mesure Wavelength-Technology	0	0,3	4,19 μm	6,51 μm	Optimisée 1600 nm - 1700 nm

Tableau 9 : Caractéristiques des différentes optiques de focalisation utilisées pour les expériences chirurgicales.

Compte tenu des fortes ouvertures numériques, du nombre élevé des lentilles qui composent ces objectifs et de la gamme spectrale inhabituelle, les taux de transmission sont inférieurs aux performances typiques d'objectifs standard optimisés pour le visible. Elles varient de 30 % à 70 % suivant l'objectif et la longueur d'onde utilisée. Seuls les deux derniers objectifs du tableau 9 sont optimisés pour fonctionner dans la plage infrarouge entre 1600 nm et 1700 nm. L'objectif Zeiss à la plus faible transmission dans cette zone, mais permet de corriger les aberrations optiques sur une épaisseur de couvre-objet allant de 0 mm à 1,5 mm. Enfin l'objectif Cassegrain utilise le concept que son nom indique : il n'est pas composé de lentilles mais de deux miroirs sphériques traités or. Le premier à un petit diamètre, qui correspond à l'ouverture utile, il est divergent. Le second beaucoup plus grand est convergent. Cet objectif offre l'avantage de

n'engendrer aucune aberration chromatique sur toute la plage de longueurs d'onde, mais la perte du centre du faisceau est très coûteuse en énergie pour un faisceau gaussien.

Le schéma du dispositif complet est présenté sur la figure 48.

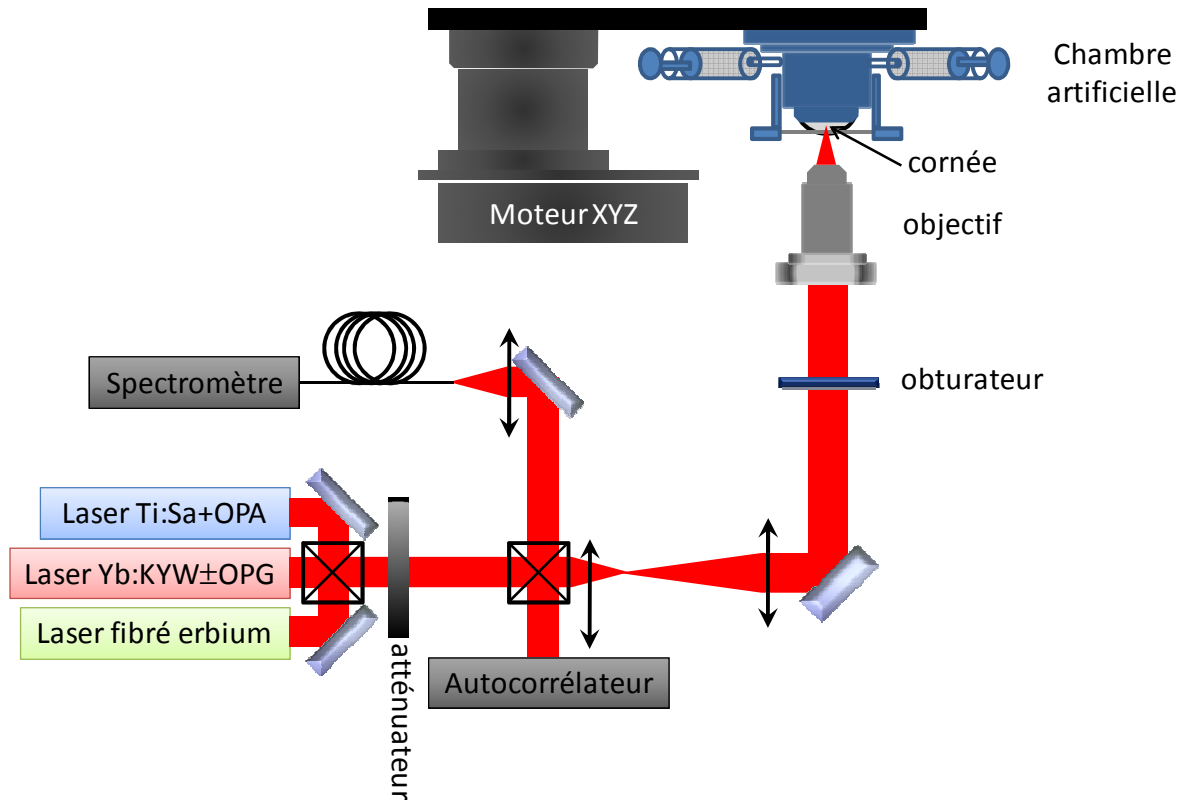


Figure 48 : Schéma du dispositif expérimental utilisé pour les expériences chirurgicales

Pour les expériences sur cornée, celle-ci est placée sur une chambre artificielle spécialement conçue pour respecter sa courbure naturelle et pour reproduire le plus exactement possible son environnement naturel.

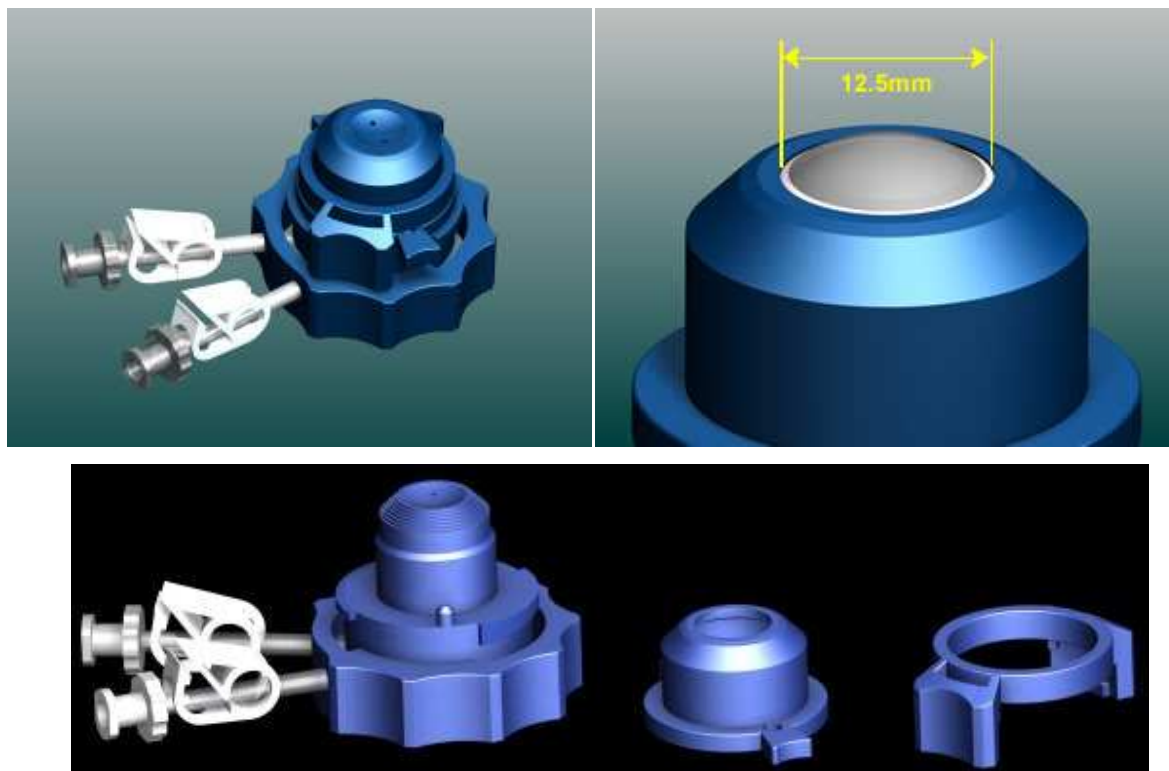


Figure 49 : Chambre artificielle dans laquelle est placée la cornée afin de recréer les conditions de pression et d'environnement naturels [203]

Les deux entrées permettent de remplir la chambre avec une solution saline de bicarbonate (BBS) afin de maintenir un contact avec l'endothélium ainsi qu'une pression constante. De plus, cela permet de s'assurer qu'aucune bulle d'air ne reste au contact de la cornée.

Le porte échantillon est ensuite relié à un déplacement motorisé à trois axes en mode pas à pas ou continu, qui permet de le positionner puis de le déplacer dans les 3 dimensions de l'espace avec une résolution de ± 50 nm. La vitesse de déplacement peut également être contrôlée en fonction de l'ouverture numérique de l'optique de focalisation et de la longueur d'onde.

5.1.2. Préparation des échantillons

Toutes les expériences ont été réalisées sur des cornées humaines obtenues auprès de la banque française des yeux conformément aux règles en vigueur. Les échantillons nous parviennent après environ trois semaines pendant lesquels ils sont

conservés dans un milieu de culture CorneaMax®³¹ à température ambiante. Nous maintenons les cornées dans ces conditions jusqu'à ce qu'elles soient placées dans la chambre antérieure au moment de l'expérience. Ces cornées sont retirées du circuit des greffes par la banque française des yeux lorsqu'elles ne peuvent être transposées, le plus souvent pour cause de mauvaise qualité endothéliale (<2000cellules/mm²). Par conséquent, leur séjour dans le milieu de culture favorise la formation de l'œdème, ce qui les conditionne de façon appropriée à nos études d'optimisation de la chirurgie sur cornée pathologique. Afin de comparer les résultats avec ceux d'une cornée saine, certaines sont d'abord mises en déturgescence 24 h avant l'expérience (section 2.2.1).

Au préalable des expériences par laser, nous retirons l'épithélium des cornées à l'aide d'un coton-tige une fois que celle-ci est placée dans la chambre artificielle. Cette couche de cellules est très fragile lorsque la partie antérieure de l'œil a été retirée de son environnement naturel : si on la laissait en place, les diverses manipulations effectuées sur les cornées pourraient provoquer des irrégularités de surface préjudiciables à la propagation de faisceaux optiques. Une lame de verre de 170 µm faisant office de couvre-objet est ensuite appliquée sur la cornée afin de travailler avec une surface de référence plane sur tout le champ d'expérimentation.

Une fois la procédure laser achevée, les cornées ou la sclère sont replacées quelques heures dans le milieu de culture, le temps que la majorité des bulles de cavitation migrent de la zone de découpe ou se résorbent. Pour l'étude en histologie et en ultrastructure, elles sont ensuite immergées dans une solution de glutaraldéhyde diluée à 2,5% dans du tampon cacodylate de sodium (0,1 molaire ; pH 7,4) pendant environ 3 heures. Après rinçage dans le tampon, elles sont post-fixées dans du tetroxyde d'osmium puis déshydratées dans de l'éthanol à degrés d'alcool croissant. L'étape suivante consiste à les imprégner dans un mélange d'oxyde de propylène et de résine en augmentant progressivement la concentration en résine. Après 12h dans de la résine pure, on procède à l'orientation des échantillons (étape essentielle pour l'étude). On les polymérise enfin dans une étuve à 60° pendant 48 heures. Des coupes semi fines d'environ 1 µm d'épaisseur sont réalisées à l'aide d'un ultramicrotome³², puis colorées au bleu de toluidine. Elles sont alors observées avec un microscope optique³³ (coupes histologiques). De la même façon, des coupes ultra-fines de 100 nm sont préparées et

³¹ Eurobio, courtabœuf, France

³² Reichert OmU2, Autriche

³³ Zeiss Phomi2

contrastées avec une solution d'acétate d'uranyle. Elles sont ensuite analysées avec un microscope électronique en transmission³⁴ (ultrastructure)³⁵.

5.2. Dissection par laser femtoseconde

5.2.1. Introduction

Comme nous l'avons dit en début de cette thèse, la chirurgie par laser femtoseconde a connu un fort essor avec l'introduction de cette technologie dans la première étape de LASIK. Depuis, au moins trois des systèmes cliniques proposent également une option de greffe de cornée. Néanmoins, la plupart des indications de greffe de cornée étant liées à une dégradation des propriétés optiques de ce tissu, l'utilisation de ces routines se heurte aux problèmes de diffusion inhérents aux cornées œdémateuses. Notre solution propose donc d'atténuer cet effet par une augmentation de la longueur d'onde des lasers. Bien que les études de transparence de cornée montrent que le compromis entre l'augmentation de l'absorption et la baisse de la diffusion soit optimal vers 1650 nm pour maximiser la profondeur de pénétration, il restait à démontrer expérimentalement qu'effectivement les avantages de ce décalage justifiaient le développement de sources émettant à ces longueurs d'onde. En effet, deux possibilités ne nécessitant pas de développement de sources existent si l'on souhaite décaler la longueur d'onde d'émission des lasers femtoseconde vers l'infrarouge moyen :

- les lasers chrome:forstérite émettent autour de 1,26 μm , c'est-à-dire juste avant la bande d'absorption de l'eau centrée à 1,45 μm ,
- les lasers de télécommunication dopés erbium ont un gain centré autour d'une longueur d'onde d'émission de 1,55 μm , c'est à dire en fin de cette même bande d'absorption.

Les sources paramétriques couvrant la globalité de ces plages spectrales ont donc permis d'étudier les profondeurs de pénétration autour de ces longueurs d'onde et de comparer les efficacités avec des découpes à 1030 nm.

³⁴ Philips CM10, résolution 0,5 nm

³⁵ Michèle Savoldelli, Hôtel Dieu Paris, France

5.2.2. Méthode

Afin d'évaluer la profondeur de pénétration des faisceaux dans le tissu nous avons effectué des découpes laser dites transfixiantes. La cornée est placée dans sa chambre artificielle, son épaisseur est alors mesurée avec un pachymètre ultrasonore³⁶. Elle est ensuite fixée au support relié aux moteurs de déplacement, puis positionnée au niveau du point focal du laser. Afin de déterminer la position « 0 » qui correspond au point de focalisation du laser au niveau de l'interface air-cornée, la cornée est déplacée le long de l'axe optique du laser (verticalement lorsque nous travaillons sur le microscope inversé). Lorsque le laser est focalisé dans la lame de verre qui sert de couvre-objet, le plasma alors créé émet de la lumière visible. Il suffit alors de déplacer la cornée en direction du laser jusqu'à ce que cet effet disparaisse pour savoir que nous sommes à l'interface verre-tissu. Le laser est ensuite bloqué et la cornée est avancée en sens inverse de l'axe optique d'une distance équivalente à son épaisseur plus environ 200 μm pour prendre en compte les incertitudes de mesures et les variations d'épaisseur entre le centre et la périphérie de la cornée. L'obturateur libère le faisceau laser dès que la procédure de découpe démarre.

Pour nos expériences, la procédure dite transfixiante consiste à réaliser une incision de 1 à 2 mm de longueur en partant de la partie postérieure de l'échantillon (l'endothélium), vers la partie antérieure (épithélium). Les déplacements horizontaux sont calculés à partir du rayon de la tâche d'Airy ρ , défini en fonction de l'ouverture numérique ON de l'optique de focalisation comme :

$$\rho = 1,22 \frac{\lambda}{2ON} ,$$

de façon à ce que chaque tâche focale se juxtapose en se chevauchant légèrement aux extrémités.

Le pas et la vitesse de déplacement sont directement calculés par le programme de pilotage des moteurs en fonction de la longueur d'onde utilisée et de l'ouverture numérique des objectifs. Bien qu'aux ouvertures numériques de nos objectifs, le volume du point focal soit plus important dans l'axe optique, nous conservons les mêmes tailles de pas et la même vitesse de déplacement dans cet axe. Le chevauchement est donc plus important, mais cela permet de diminuer les risques de subsistance de ponts tissulaire

³⁶ Pocket II, Quantel medical, Clermont-Ferrand, France

(parties de tissu non coupées par le laser) et n'engendre théoriquement aucun effet secondaire. En effet, aux cadences laser utilisées aucun effet cumulatif sur plusieurs impulsions n'est à prévoir en deçà de quelques MHz. Un schéma de ce protocole est présenté sur la figure 50. Entre deux découpes, un espacement d'au moins 200 μm est respecté afin de ne pas risquer de modifier les résultats lors des prélèvements de coupes semi fines et ultra fines par ultramicrotome. De plus, l'ensemble des découpes ne peut pas dépasser 2,5 mm car cela correspond à la taille des blocs de résines dans lesquels les échantillons sont fixés. Ce protocole est similaire quelque soit le laser utilisé et quelque soient la nature et l'état du tissu.

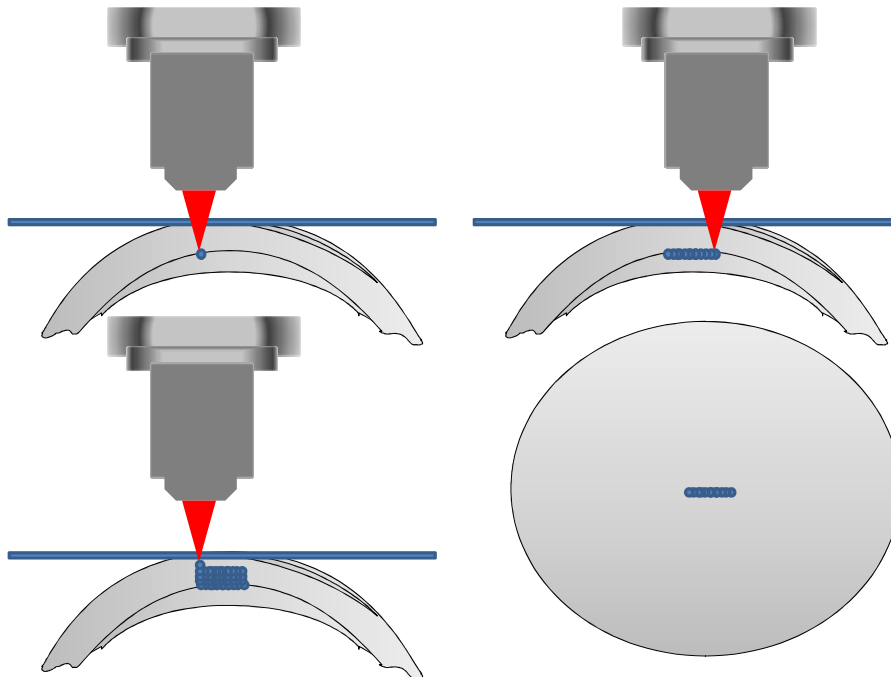


Figure 50 : Schéma décrivant le protocole de découpe transfixiante par laser dans le volume du tissu cornéen

5.2.3. Seuil de claquage optique

Pour des impulsions femtoseconde, on trouve dans la littérature un seuil de claquage optique pour des densités d'énergie légèrement inférieures à $2 \text{ J}/\text{cm}^2$ [156,204, 205]. Ce seuil ne dépend *a priori* que peu de la longueur d'onde. Il est de plus mesuré en surface des échantillons : il ne tient donc pas compte des effets supplémentaires qui peuvent le faire varier, ou qui peuvent modifier la surface du point focal dans le volume si l'on considère notamment l'absorption, la diffusion ou encore les aberrations sphériques. Pour mesurer ce seuil, différentes conventions ont été adoptées :

- énergie de l'impulsion divisée par la surface définie à $1/e^2$ du rayon w de la tâche focale d'un faisceau gaussien :

$$w = 0,32 \frac{\lambda}{n \sin \theta},$$

où n est l'indice de réfraction du tissu et θ est le demi-angle d'ouverture de l'optique de focalisation ;

- énergie totale de l'impulsion divisée par la surface de la tâche d'Airy dont on redonne le rayon ρ .

$$\rho = 0,61 \frac{\lambda}{n \sin \theta},$$

exprimé en fonction de l'ouverture numérique de l'optique de focalisation $n \sin \theta$;

- éclairement moyen de la tâche d'Airy ;
- intensité crête du pic gaussien ;
- intensité crête de la tâche d'Airy.

Pour nos expériences, nous avons travaillé à partir de la seconde définition. Les deux dernières sont rarement utilisées pour parler des résultats expérimentaux. Cependant, il faut calculer la valeur crête du profil du point focal pour pouvoir évaluer les énergies en entrée d'objectifs par rapport au seuil théorique au point focal. Pour un faisceau limité par diffraction comme c'est le cas lorsque l'on couvre la pupille de l'objectif, cela équivaut à une énergie mesurée en sortie d'objectif environ quatre fois supérieure à la moyenne sur la tâche d'Airy.

Nous avons postulé que les seuils devaient être relativement semblables sur l'ensemble de la plage de longueur d'onde étudiée et sommes donc partis de l'étude réalisée par Valeria Nuzzo durant sa thèse, dont les résultats sont présentés dans le tableau 10 [3].

Pour évaluer expérimentalement ce seuil de claquage optique, des incisions laser ont été effectuées proche de la surface du tissu en augmentant progressivement l'énergie du laser. Dès que des bulles nettes et régulières étaient formées sur le trajet effectué par le laser, le seuil de claquage était considéré comme étant juste atteint.

Optique de focalisation	Ouverture numérique	Seuil			
		théorique $\lambda_1=800$ nm /1,03 μm	Seuil expérimental $\lambda_1=800$ nm	Seuil théorique $\lambda_2=1,3$ μm	Seuil théorique $\lambda_3=1,6$ μm
Objectif cassegarin	0,28	$\cong 190$ nJ /315 nJ	$\cong 290$ nJ	$\cong 500$ nJ	$\cong 765$ nJ
Objectif Zeiss $\times 20$	0,4	$\cong 94$ nJ /155 nJ	$\cong 200$ nJ	$\cong 250$ nJ	$\cong 375$ nJ
Objectif Nachtet $\times 40$	0,55	$\cong 50$ nJ /80 nJ	$\cong 100$ nJ	$\cong 130$ nJ	$\cong 200$ nJ

Tableau 10 : Énergie du seuil de claquage optique dans la cornée en fonction de l'optique de focalisation pour un seuil de claquage théorique de $2\text{J}/\text{cm}^2$ [5,68]

L'ensemble de ces données nous renseigne sur l'ordre de grandeur de l'énergie théoriquement nécessaire pour obtenir une incision propre dans un milieu parfaitement transparent et non diffusant. Les énergies permettant d'atteindre le seuil de claquage en volume varient avec la longueur d'onde car les dimensions du point focal varient avec la longueur d'onde. En effet, on peut déduire de ces chiffres qu'il faut théoriquement utiliser au minimum 4 fois plus d'énergie à 1600 nm qu'à 800 nm ($2^2=1600^2/800^2$) et 2,4 fois plus à 1600 nm qu'à 1030 nm ($1600^2/1030^2$), avec une même optique de focalisation pour atteindre le seuil de claquage, car les surfaces de focalisation augmentent avec le carré des longueurs d'ondes. Nous verrons dans les résultats que cette logique n'est plus respectée en volume. Cela s'explique essentiellement par la meilleure conservation de la fonction d'appareil du faisceau avec la baisse de la diffusion lorsque l'on augmente la longueur d'onde d'émission des lasers. On peut donc dire que si à même énergie le résultat est identique à 1030 nm et à 1650 nm, la propagation du faisceau dans le volume du tissu a été nettement moins perturbée à 1650 nm qu'à 1030 nm. En effet, l'élargissement de la fonction d'appareil causé par la diffusion est nettement plus fort que celui due à l'augmentation de la longueur d'onde (convolution d'une fonction étroite (tâche d'Airy) par une fonction plus large (diffusion)).

5.2.4. Résultats

5.2.4.1. Étude de l'influence de la longueur d'onde sur les découpes

5.2.4.1.1. Résultats avec la source OPA

Les premières découpes ont été réalisées avec l'objectif Zeiss d'ouverture numérique 0,4 à des énergies d'environ 1 μJ , en utilisant la source OPA avec une cadence d'impulsions de 1 kHz. Ces découpes ont été effectuées suivant un protocole transfixiant (laser focalisé sur la partie postérieure et remontant progressivement vers la surface), en variant la longueur d'onde tous les 100 nm entre 1200 nm et 1600 nm. Elles ont donc permis d'évaluer la profondeur de pénétration et la qualité des découpes aux longueurs d'onde inférieures au pic d'absorption de l'eau centré à 1450 nm, situées au niveau de ce pic et supérieures à ce pic. La figure 51 montre les résultats obtenus sur une cornée d'environ 800 μm d'épaisseur à 1200 nm, 1300 nm et 1400 nm. La découpe à 1600 nm effectuée sur cette même cornée est présentée en plus grand détails en ultrastructure sur la figure 52. L'énergie n'est que de $3 \times$ le seuil théorique à 1600 nm et monte jusqu'à environ $4 \times$ ce seuil vers 1200-1300 nm. Malgré la faible énergie, l'incision est régulière et de qualité constante sur toute la profondeur de découpe lorsque le tissu reste relativement peu absorbant. Par contre, à 1400 nm, outre le fait que l'absorption diminue fortement la profondeur de pénétration, on observe déjà une légère augmentation du contraste en bordure des incisions. Si l'on compare les profondeurs de pénétration, on remarque que mise à part l'incision effectuée dans la zone d'absorption à 1400 nm et qui atteint 180 μm de profondeur. Les profondeurs augmentent bien avec la longueur d'onde avec un maximum local à 1600 nm. On obtient donc à 1200 nm une profondeur de découpe de 335 μm , à 1300 nm un résultat équivalent mais légèrement supérieur avec 345 μm , et à 1600 nm un optimum avec 445 μm . Ces mesures sont résumés dans le tableau 11. On peut également observer que les découpes n'atteignent pas la surface de la cornée. Ceci est intentionnel, nous avons interrompu le traitement laser à une faible distance avant la surface afin d'éviter d'usiner le verre, ce qui peut ensuite détériorer les découpes car de petits fragments peuvent ainsi se déposer sur le tissu [3]. Ces résultats mettent en valeur l'intérêt d'une source centrée entre 1600 nm et

1700 nm donc au-delà du pic d'absorption plutôt que juste avant ce pic à 1200 nm ou 1300 nm.

Tableau 11 : Paramètres des incisions de la figure 51

Incision	A	B	C
Longueur d'onde (μm)	1,20	1,30	1,40
Profondeur de pénétration (μm)	435	470	210

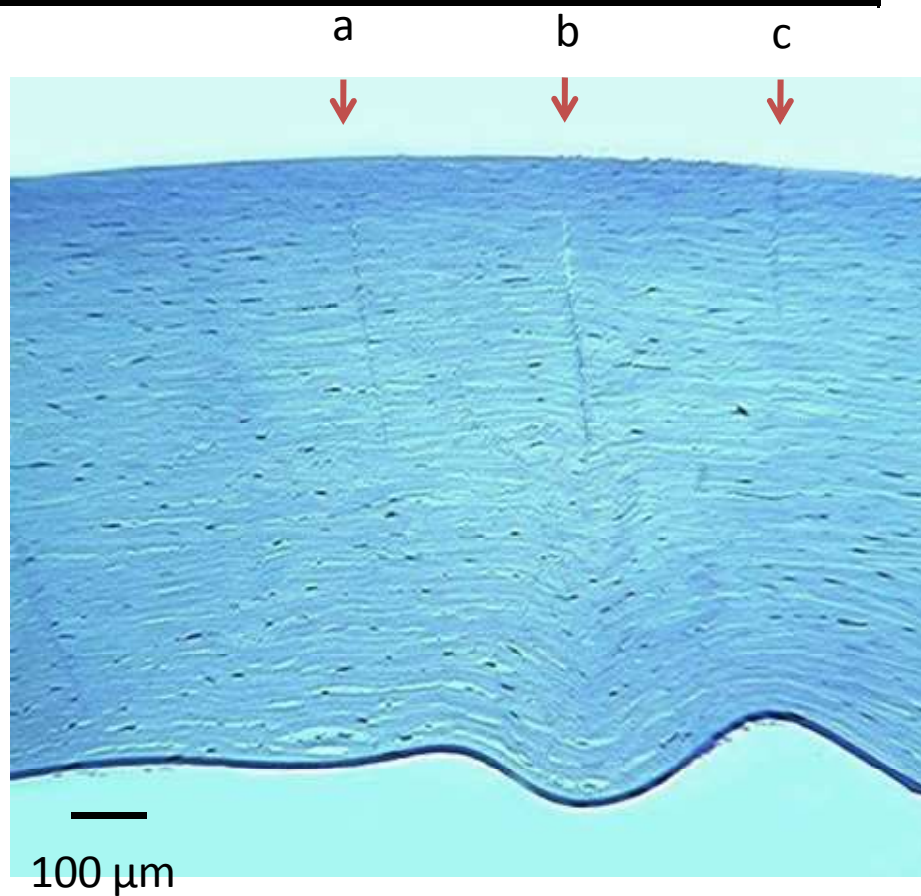


Figure 51 : Coupe histologique des incisions réalisées sur une cornée humaine œdémateuse de 800 μm avec la source OPA, à 1,2 μm (a), 1,3 μm (b) et 1,4 μm (c). L'ouverture numérique était de 0,4 et l'énergie d'environ 1 μJ .

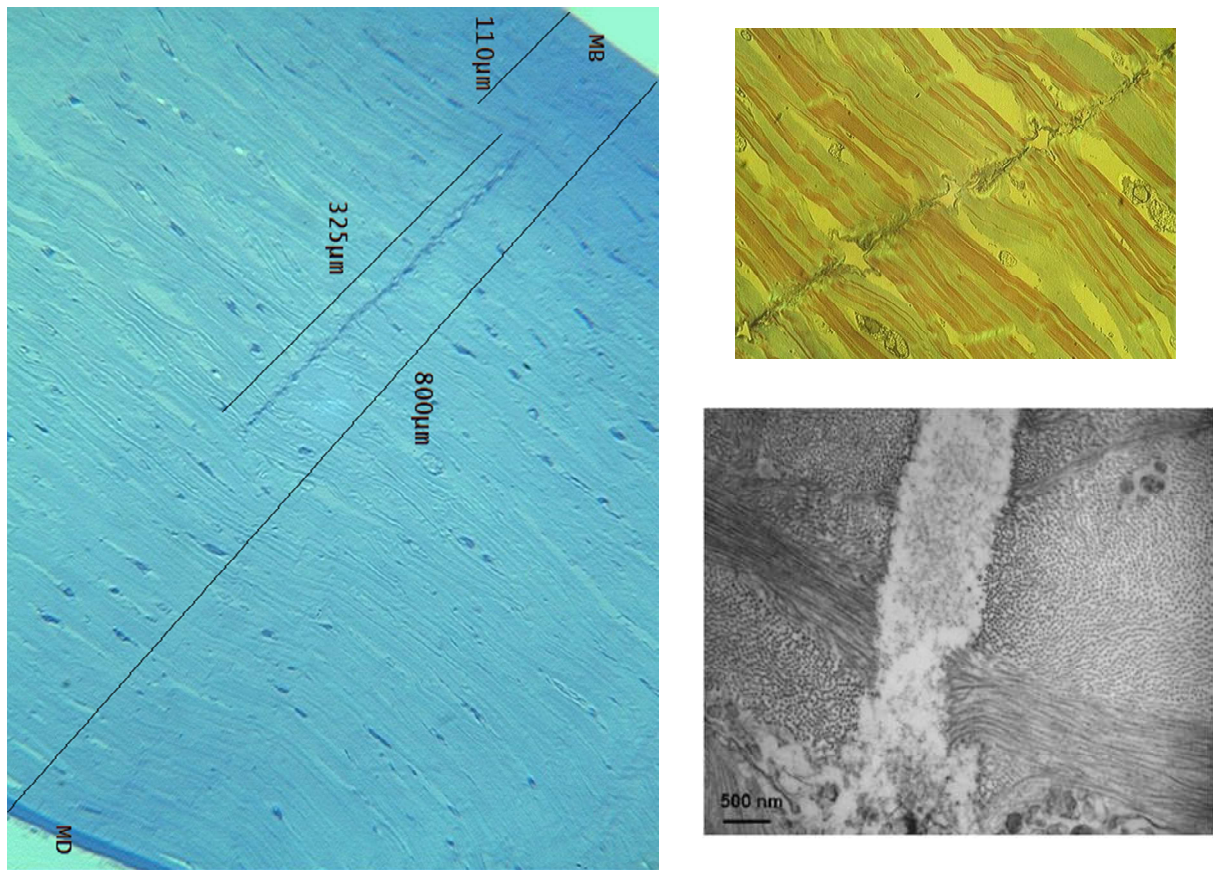


Figure 52 : Coupe histologique de l'incision réalisée sur une cornée humaine œdémateuse de 800 µm avec la source OPA à 1600 nm. L'ouverture numérique était de 0,4 et l'énergie d'environ 1 µJ. Une photo à plus fort grossissement réalisée en polarisation est également présentée (en haut à droite). Une photo d'ultrastructure permet de se rendre compte de la qualité de la découpe (en bas à droite)

5.2.4.1.2. Résultats avec la source OPG

Les découpes réalisées avec la source OPG ont été effectuées avec l'objectif Nacet, d'ouverture numérique 0,55, à des énergies d'environ 2 µJ et un taux de répétition de 10 kHz. Ces découpes ont été effectuées suivant un protocole transfixiant, en variant la longueur d'onde tous les 50 nm entre 1450 nm et 1700 nm. À titre de comparaison, une découpe a également été effectuée sur cette même cornée à 1030 nm. Le but de ces expériences était quadruple :

- confirmation de la longueur d'onde optimale et validation sur cornée œdémateuse ;
- confirmation des effets secondaires à l'absorption ;
- étude de la profondeur de pénétration à la longueur d'onde télécom 1,55 µm ;

- comparaison avec la longueur d'onde clinique 1,03 μm .

La figure 53 montre les résultats de ces incisions en histologie et la figure 54 ceux en ultrastructure. Il s'agissait d'une cornée très œdémateuse d'environ 1 mm d'épaisseur. Sept incisions y ont été réalisées à 1030 nm, 1450 nm, 1500 nm, 1550 nm, 1600 nm, 1650 nm et 1700 nm. Compte tenu de l'état fortement avancé de l'œdème, nous avons utilisé une énergie correspondant à environ 10 fois le seuil théorique de claquage en surface entre 1450 nm et 1700 nm et environ 25 fois ce seuil vers 1030 nm. Ces paramètres et les profondeurs de pénétration associées sont résumés dans le tableau 12.

L'incision effectuée au maximum d'absorption vers 1450 nm présente de forts effets secondaires, avec une partie importante de débris de tissu sur les bords de l'incision, ainsi qu'une membrane apparaissant noircie. Elle se caractérise par une très faible profondeur de pénétration. Bien qu'apparaissant moins nettement sur la figure 53, ce phénomène reste semblable à 1500 nm avec une profondeur de pénétration équivalente.

Les découpes à 1550 nm présentent également de nombreux débris de collagène en bordure de découpe ainsi qu'une membrane beaucoup plus contrastée que le collagène sain. La profondeur de pénétration a environ doublé mais reste faible. Une augmentation de l'énergie entraînerait encore plus d'effets secondaires sans garantir une nette amélioration de la profondeur de pénétration.

De même, à 1600 nm on constate une augmentation de contraste membranaire en bordure de découpe et une profondeur de pénétration environ équivalente. Ce résultat peut sembler contradictoire avec ceux obtenus avec la source OPA. Cependant, il faut prendre en compte les fortes différences de largeurs spectrales : le spectre de la source OPG fait à cette longueur d'onde environ 100 nm de largeur contre deux fois moins pour la source OPA et environ dix fois moins pour la source fibrée. Par conséquent une grande partie du spectre demeure dans la zone d'absorption du tissu lorsque l'on effectue des découpes centrées à 1600 nm avec cette source.

Les découpes à 1030 nm, 1650 nm et 1700 nm sont régulières, avec une qualité constante dans le volume, malgré quelques débris de collagène dans la partie antérieure de la découpe à 1650 nm qui suggère que l'énergie utilisée est alors trop importante.

Aucun pont tissulaire n'est observé en partie antérieure de l'incision. La partie la plus postérieure reste également de bonne qualité malgré quelques rares ponts tissulaires.

L'incision à 1650 nm est indéniablement optimale en considérant la profondeur de pénétration puisque l'on atteint 900 μm , ce qui valide ce choix de longueurs d'onde pour réaliser des greffes dans la quasi-totalité des cornées pathologiques d'un patient. En effet, chez un patient dont la pathologie serait déjà très avancée, les épaisseurs atteignent généralement 800 μm et au maximum 850 μm .

Tableau 12 : Paramètres des découpes de la figure 53

Incision	A	B	C	D	E	F	G
Longueur d'onde (μm)	1,70	1,65	1,60	1,55	1,50	1,45	1,03
Profondeur de pénétration (μm)	500 a	900 b	275 c	350 d	90 e	125 f	550 g

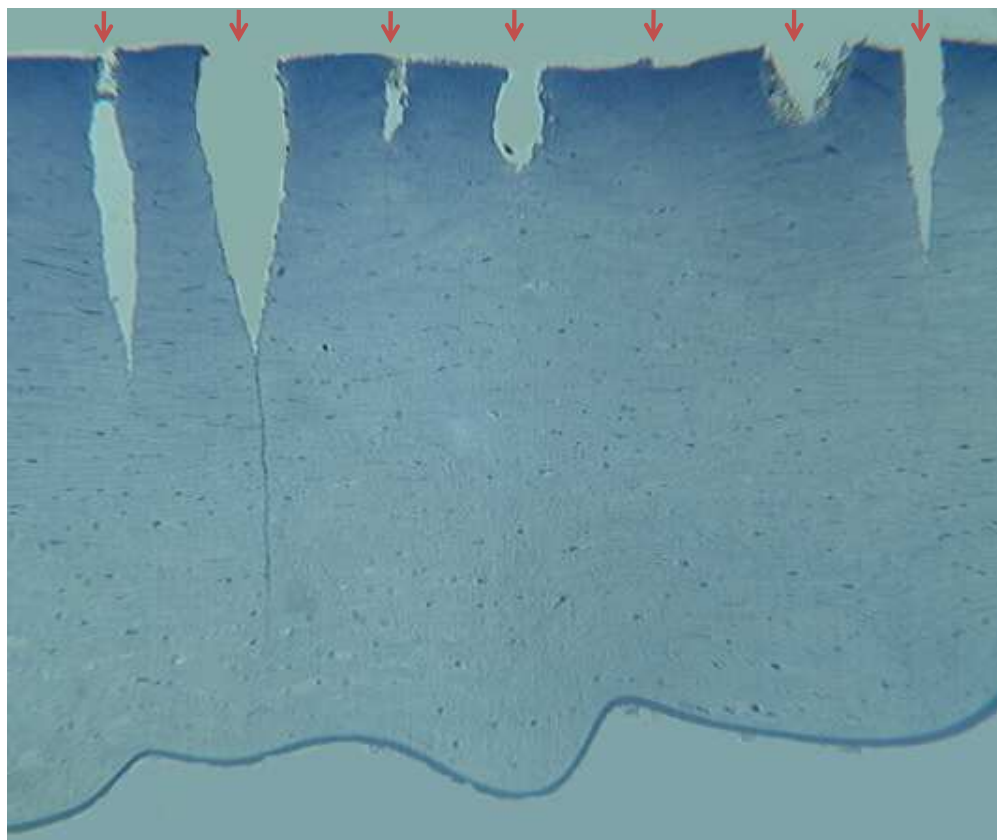


Figure 53 : Coupe histologique des incisions réalisées sur une cornée humaine œdémateuse de 1 mm avec la source OPG à, 1030 nm, 1450 nm, 1500 nm, 1550 nm, 1600 nm, 1650 nm et 1700 nm. L'ouverture numérique était de 0,55 et l'énergie d'environ 2 μJ .

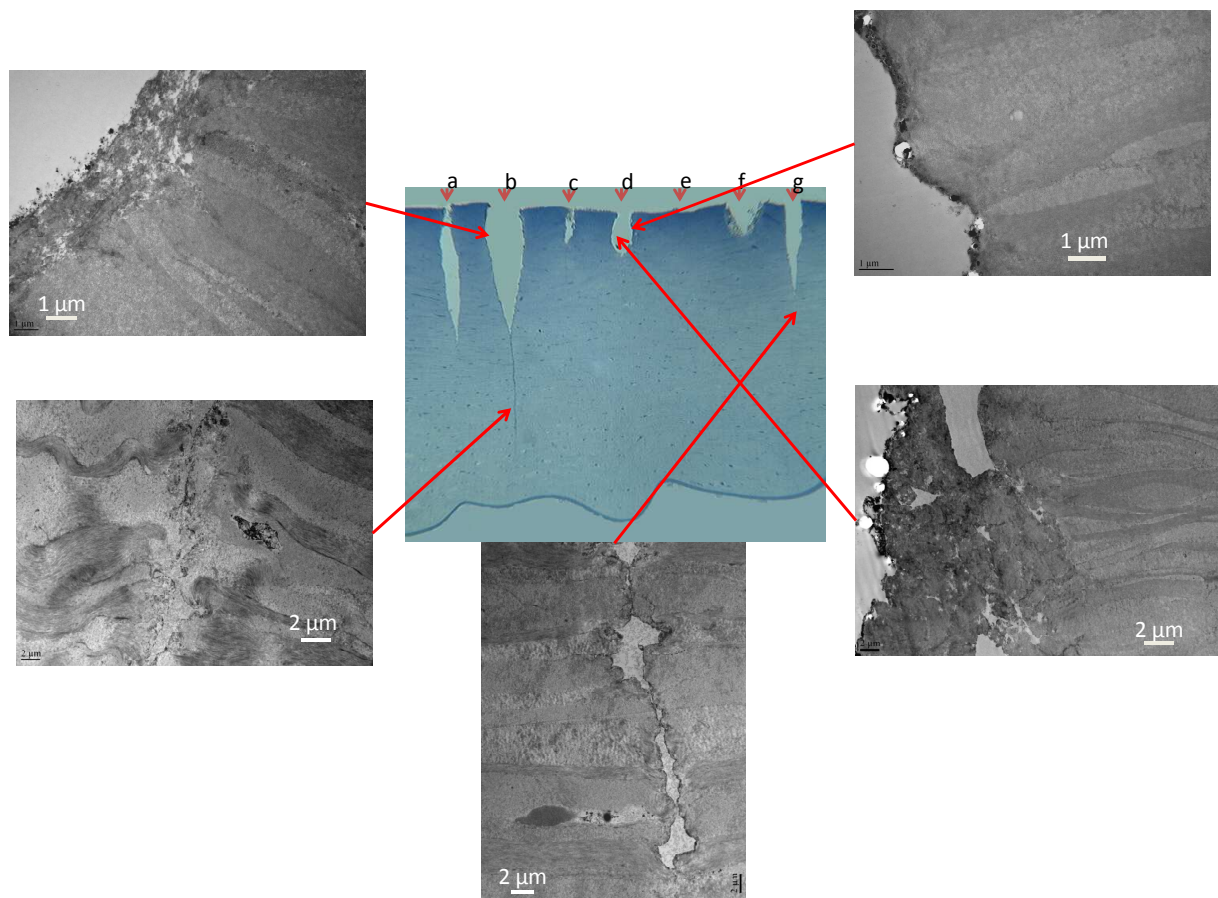


Figure 54 : Ultrastructure des incisions réalisées sur une cornée humaine œdémateuse de 1 mm avec la source OPG à 1030 nm, 1450 nm, 1500 nm, 1550 nm, 1600 nm, 1650 nm et 1700 nm. L'ouverture numérique était de 0,55 et l'énergie d'environ 2 μ J.

5.2.4.2. Dissection avec le laser fibré dopé erbium

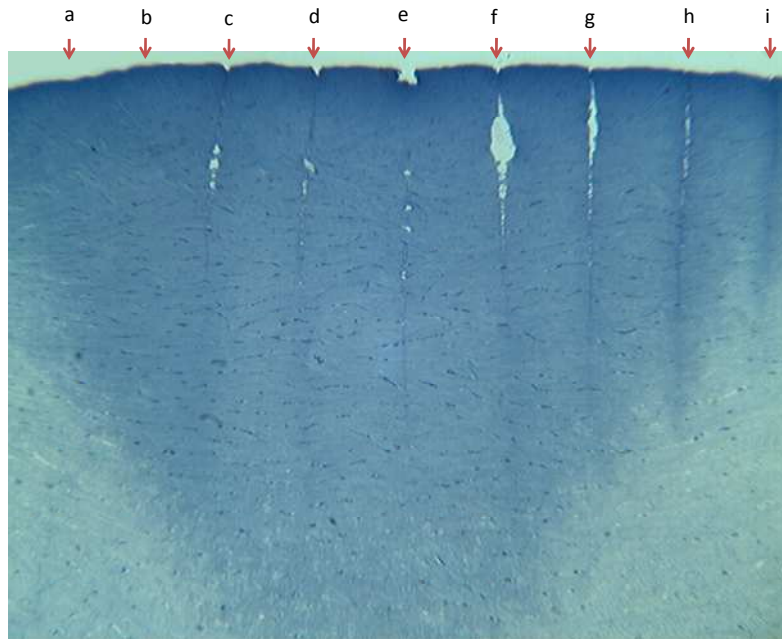
Les expériences de découpe à partir de la source fibré erbium centré à 1594 nm ont également été réalisées avec l'objectif Nacet, d'ouverture numérique 0,55. Plusieurs études de profondeur de pénétration en fonction de l'énergie ont été menées.

Les figures 55, 56 et 57 montrent trois séries d'expériences représentées en histologie. Les résultats de la figure 55 sont également présentés en ultrastructure sur la figure 58. Pour ces découpes, nous avons fait varier l'énergie du laser de pompe suivant les énergies décrites dans le tableau 13:

Incision	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Figure 55 E(μ)	1,6	1,8	1,8	1,6	1,37	1,14	1	0,840	0,760	0,760
Figure 56 E(μ)	1,6	1,6	1,37	1,37	1,14	1,14	1	1	0,760	0,760
Figure 57 E(μ)	1,4	1,4	1,4	1,14	1	760	-	-	-	-

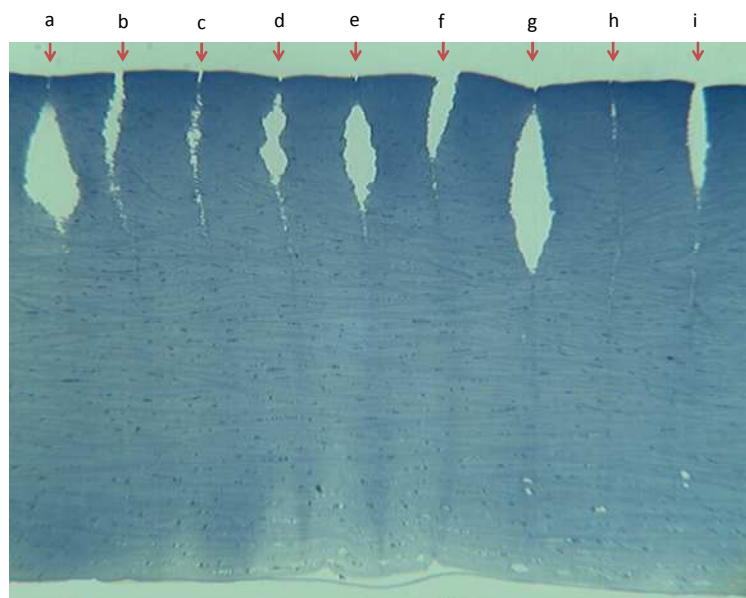
Tableau 13 : Paramètres énergétiques en μ J des incisions des figures 55, 56 et 57

Parmi l'ensemble des expériences réalisées dont les résultats présentés avec ce laser, il est difficile de déduire une tendance, ou de conclure sur les performances du laser, compte tenu de la grande diversité des résultats obtenus. On remarque de façon générale que la découpe est de qualité variable dans le volume du tissu, avec de nombreux effets secondaires. Bien que ces effets atteignent de forte profondeur de pénétration, la découpe effective reste à des profondeurs moyennes. Dans tous les cas, on observe, avec plus ou moins d'ampleur, d'importantes variations de contraste sur les photos d'histologie. Ces variations s'étendent sur de larges zones et ne sont pas confinées aux bordures des coupes. Lorsque l'on étudie ces zones en ultrastructure, on se rend compte que le collagène est fortement déstructuré, ce qui apparaît comme un effet flouté à l'échelle micrométrique (en ultrastructure). Il est encore difficile d'expliquer l'origine de cette modification du collagène. Nous attribuons pour l'instant ce phénomène à des effets photochimiques.



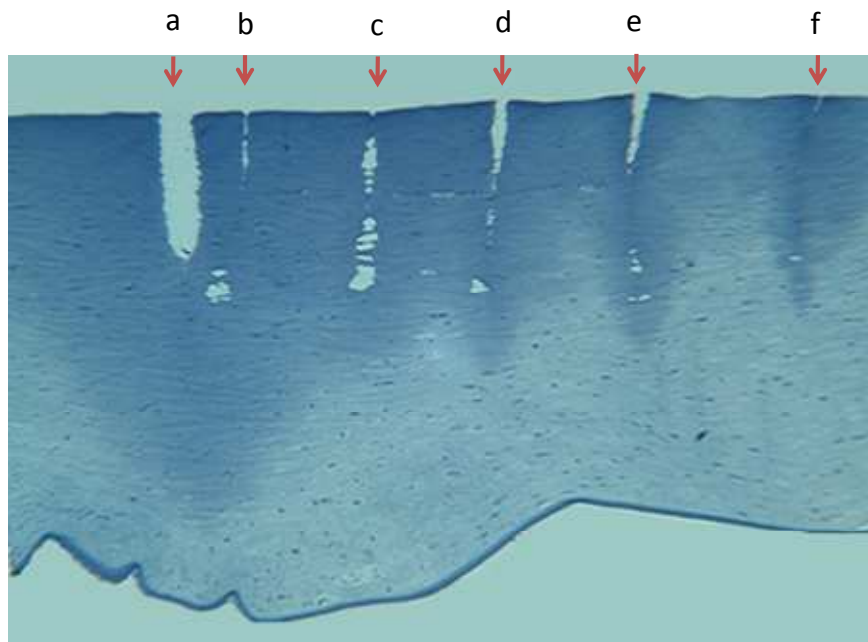
Incision	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Figure 55	1,6	1,8	1,8	1,6	1,37	1,14	1	0,840	0,760

Figure 55 : Coupe histologique des incisions réalisées sur une cornée humaine œdémateuse d'environ 1 mm avec la source fibrée erbium à 1594 nm. L'ouverture numérique était de 0,55 et l'énergie a été variée entre 760 nJ et 1,8 μ J.



Incision	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Figure 56	1,6	1,6	1,37	1,37	1,14	1,14	1	1	0,760	0,760

Figure 56 : Coupe histologique des incisions réalisées sur une cornée humaine œdémateuse d'environ 1 mm avec la source fibrée erbium à 1594 nm. L'ouverture numérique était de 0,55 et l'énergie a été variée entre 250 nJ et 1,5 μ J.



Incision	A	B	C	D	E	F
Figure 57	1,4	1,4	1,4	1,14	1	760

Figure 57 : Coupe histologique des incisions réalisées sur une cornée humaine œdémateuse d'environ 1 mm avec la source fibrée erbium à 1594 nm. L'ouverture numérique était de 0,55 et l'énergie a été variée entre 760 nJ et 1,4 µJ.

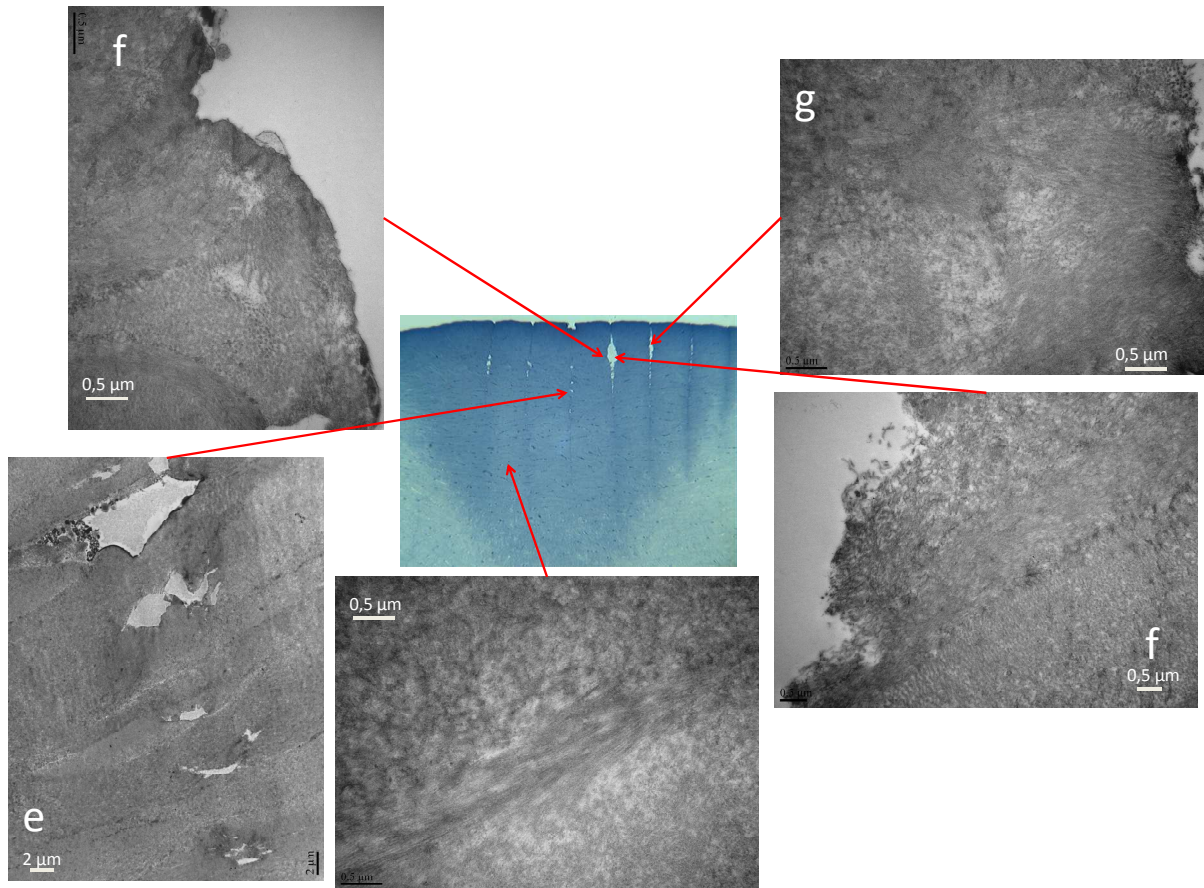


Figure 58 : Ultrastructure des incisions réalisées sur une cornée humaine œdémateuse d'environ 1 mm avec la source fibrée erbium à 1594 nm. L'ouverture numérique était de 0,55 et l'énergie a été variée entre 0,76 μ J et 1,80 μ J.

Deux hypothèses peuvent en partie expliquer ces effets secondaires en dehors du point focal.

- Tout d'abord, un contraste insuffisant du laser et en particulier la présence d'une pré-impulsion suppicoseconde pourrait engendrer ces modifications du collagène. Les appareils de mesure dont nous disposons n'étant pas sensibles à ce phénomène, nous n'avons pour l'instant pas pu vérifier cette hypothèse.
- D'autre part, la cadence étant plus élevée que sur les sources accordables, ces phénomènes pourraient peut-être venir d'un effet cumulatif sur un train d'impulsions. Des expériences en diminuant la cadence devront être réalisées pour le vérifier.

Dès que l'origine de ces résultats sera identifiée, les paramètres du laser pourront être adaptés et la source fibrée deviendra *a priori* la solution la plus avantageuse dans le cadre d'une application clinique de greffe de cornée. En effet, elle propose les meilleures caractéristiques en termes de compacité, de robustesse et surtout de coût.

5.2.4.3. Comparaison des incisions à 1030 nm vs. à 1650 nm

Les expériences effectuées en variant la longueur d'onde ont permis de démontrer que le maximum de profondeur de pénétration du faisceau dans le tissu œdémateux est obtenu à 1650 nm. Afin d'évaluer les différences entre les sources cliniques centrées à 1030 nm et notre source OPG configurée pour être centrée à 1650 nm, deux séries d'expériences supplémentaires ont été réalisées avec l'objectif Nacet d'ouverture numérique 0,55 en variant l'énergie entre 250 nJ et 2 μ J et en alternant ces deux longueurs d'onde sur une cornée saine et sur une cornée œdémateuse.

La figure 59 montre les résultats en histologie et la figure 60 en ultrastructure sur une cornée saine d'environ 600 μ m d'épaisseur. Les paramètres de découpe sont résumés dans le tableau 14. On peut remarquer que lorsqu'on utilise une énergie de 250 nJ juste au dessus du seuil théorique à 1650 nm et 3 \times au dessus du seuil théorique à 1030 nm, on observe une très nette différence de profondeur de pénétration entre les deux longueurs d'onde puisque l'incision à 1650 nm est transfixiante contre seulement 45 μ m de profondeur pour celle effectuée à 1030 nm. On observe également qu'à partir de 1 μ J soit 5 fois le seuil à 1650 nm, la découpe est transfixiante ou quasi-transfixiante aux 2 longueurs d'ondes. Toutes les découpes sont régulières et de qualités constantes dans le volume de la cornée et ne présentent pas d'effets secondaires particulier notamment nous n'observons pas de déstructuration du collagène. Une fine membrane plus contrasté en bordure de découpe reste cependant visible quelque soit la longueur d'onde. Par conséquent, la baisse de diffusion avec l'augmentation de longueur d'onde permet une meilleure propagation même sur une cornée saine comparativement aux lasers cliniques. Il est donc possible d'effectuer les mêmes interventions à 1650 nm qu'à 1030 nm avec des impulsions d'énergie très inférieures et obtenir une découpe profonde et de qualité. Cela prouve également qu'il serait possible d'effectuer les interventions de type LASIK avec une source femtoseconde centrée à 1650 nm, d'autant

que le faisceau étant en partie absorbé à 1650 nm, les risques de lésions dans le reste de l'œil et en particulier sur la rétine sont fortement diminués.

Tableau 14 : Paramètres de découpes de la figure 59

Incision	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Longueur d'onde (μm)	1,65	1,03	1,65	1,03	1,65	1,03	1,65	1,03	1,65	1,03
Énergie (μJ)	0,25	0,25	0,5	0,5	0,75	0,75	1	1	2	2
Profondeur de pénétration (μm)	transfixiant	45	420	330	525	270	transfixiant	546	465	tranfixiant

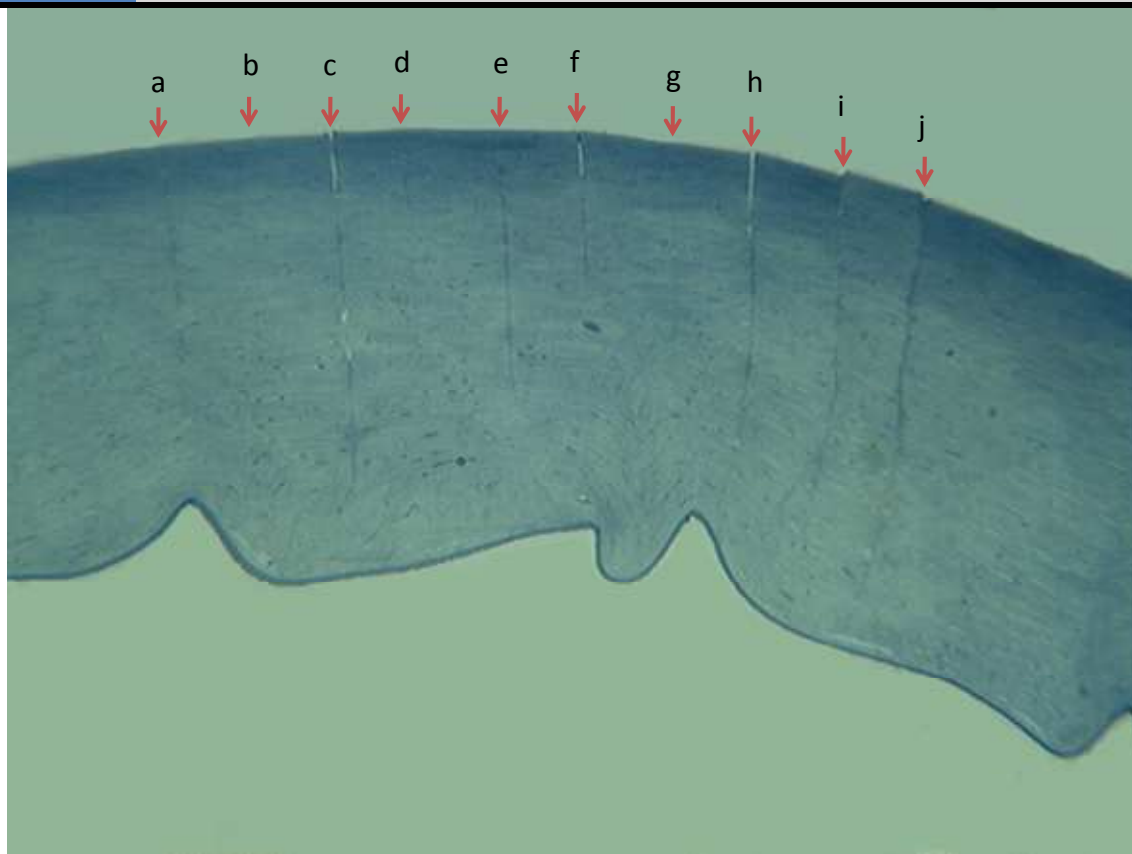


Figure 59 : Coupe histologique des incisions réalisées sur une cornée humaine saine de 600 μm , en alternant la source à 1,03 μm et la source OPG centrée à 1,65 μm et en variant l'énergie entre 250 nJ et 2 μJ . L'ouverture numérique était de 0,55 et le taux de répétition de 10 kHz.

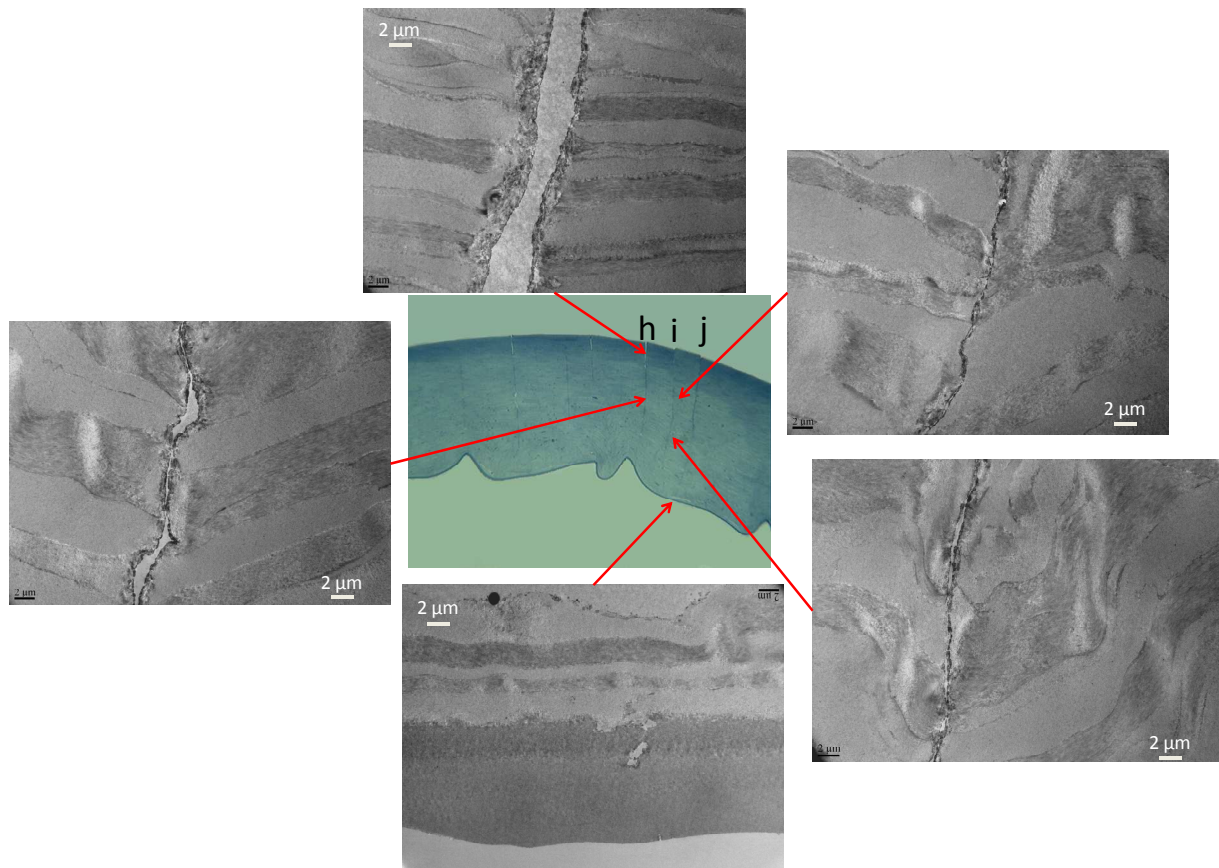


Figure 60 : Ultrastructure des incisions réalisées sur une cornée humaine saine de 600 µm, en alternant la source à 1,03 µm et la source OPG centrée à 1,65 µm et en variant l'énergie entre 250 nJ et 2 µJ. L'ouverture numérique était de 0,55 et le taux de répétition de 10 kHz.

Le même protocole expérimental a été reproduit sur une cornée œdémateuse d'environ 850 µm d'épaisseur. Ces résultats sont présentés sur la figure 61 en histologie et sur la figure 62 en ultrastructure. Les paramètres de découpes sont résumés dans le tableau 15. On observe alors aux deux longueurs d'onde une augmentation progressive de la profondeur de pénétration. Pour des énergies d'environ 250 nJ, l'effet à 1650 nm est peu prononcé et se manifeste uniquement en surface, ce qui prouve que nous sommes alors environ au seuil de claquage dans une cornée œdémateuse. La profondeur de pénétration augmente par contre beaucoup plus rapidement à 1650 nm qu'à 1030 nm puisque des effets jusqu'à la membrane de Descemet sont observables dès 1 µJ à 1650 nm, alors qu'avec 2 µJ, la découpe à 1030 nm atteint 500 µm. Les découpes sont de très bonne qualité et dans l'ensemble très homogènes. Toutefois, à 2 µJ, on observe un dépôt de débris de collagène sur les parois antérieures dans le cas d'une cornée œdémateuse comme dans le cas des cornées saines, alors que sur la partie postérieure, toujours à 2 µJ, la découpe est très propre et ne présente que de rares ponts tissulaire.

Par contre, toujours à 1650 nm avec une énergie de 1 μ J, la découpe est d'excellente qualité sur toute la profondeur.

Tableau 15 : Paramètres des découpes de la figure 61

Incision	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Longueur d'onde (μ m)	1,65	1,03	1,65	1,03	1,65	1,03	1,65	1,03	1,65
Énergie (μ J)	0,25	0,5	0,5	0,75	0,75	1	1	2	2
Profondeur de pénétration (μ m)	-	50	350	400	700	450	835	500	transfixiant

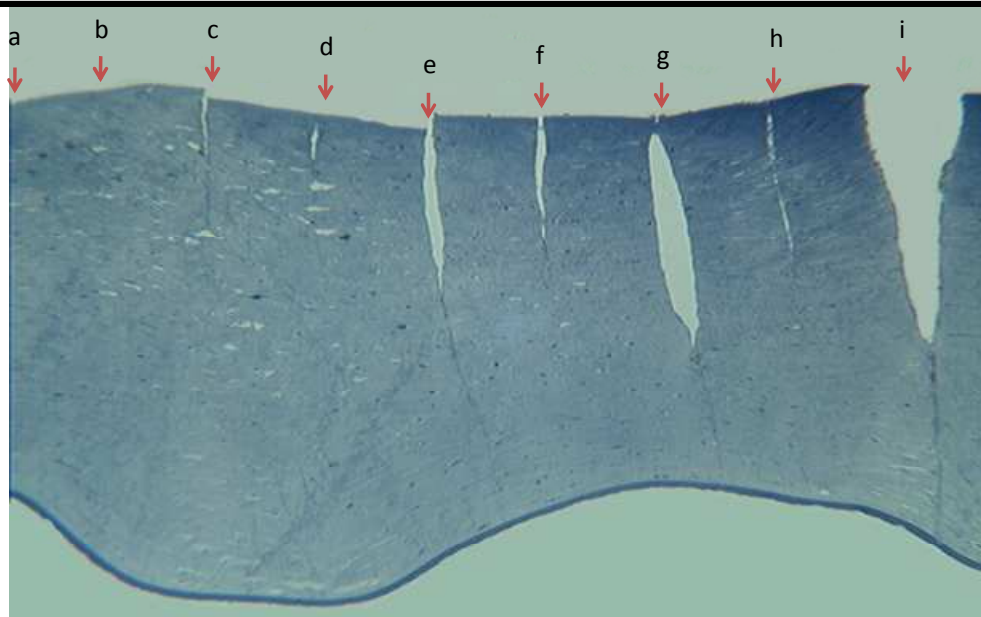


Figure 61 : Coupe histologique des incisions réalisées sur une cornée œdémateuse de 850 μ m, en alternant la source à 1,03 μ m et la source OPG centrée à 1,65 μ m et en variant l'énergie entre 250 nJ et 2 μ J. L'ouverture numérique était de 0,55 et le taux de répétition de 10 kHz.

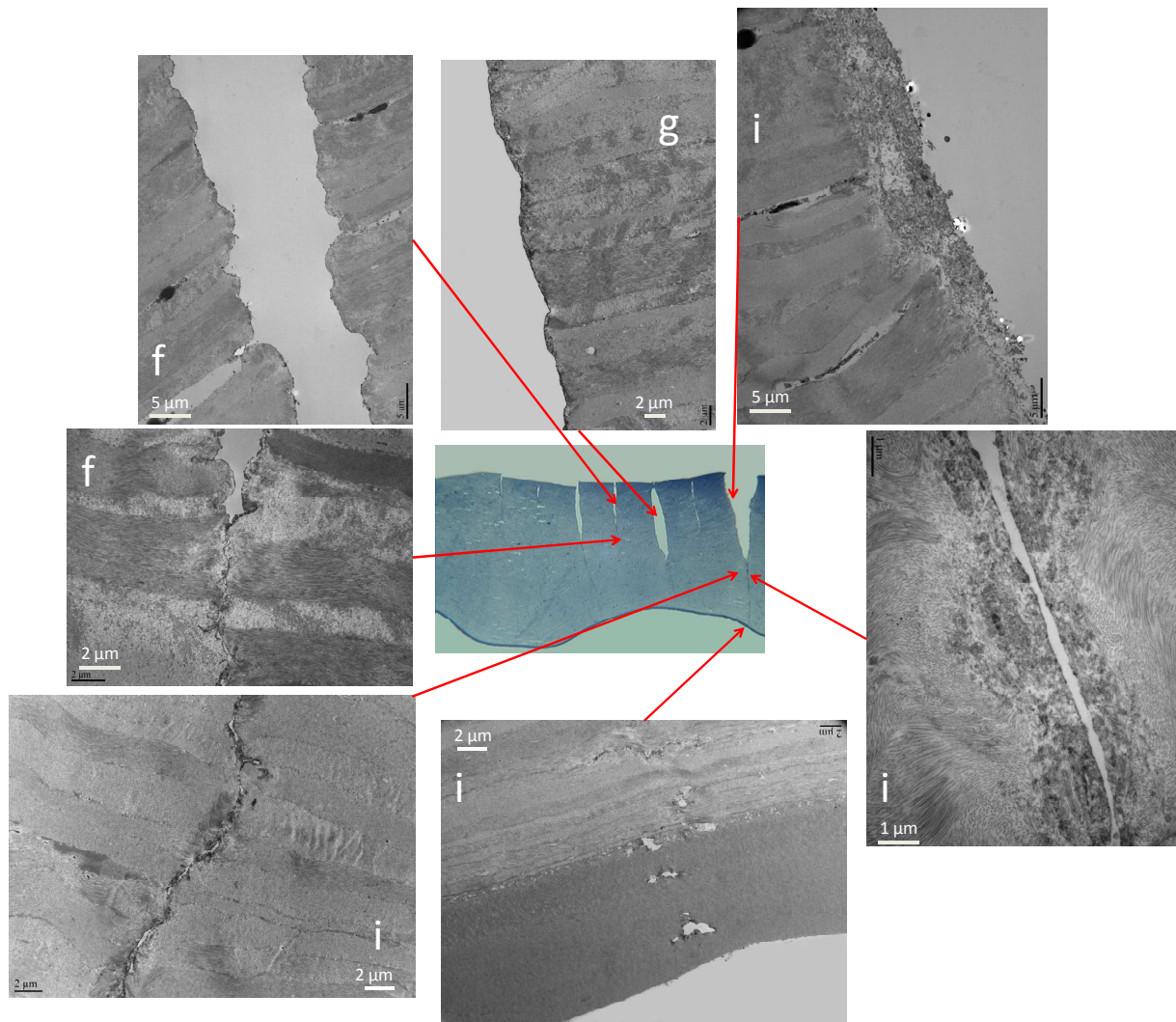


Figure 62 : Ultrastructure des incisions réalisées sur une cornée œdémateuse de 850 µm, en alternant la source à 1,03 µm et la source OPG centrée à 1,65 µm et en variant l'énergie entre 250 nJ et 2 µJ. L'ouverture numérique était de 0,55 et le taux de répétition de 10 kHz.

5.3. Conclusion

Les résultats sur l'étude de l'optimisation de la longueur d'onde en chirurgie de la cornée sont très positifs et confirment les hypothèses de départ.

- La profondeur de pénétration du faisceau laser dans le tissu sain et œdémateux dépend très fortement de la longueur d'onde. En particulier, le phénomène de diffusion de la lumière décroît rapidement avec la longueur d'onde.

- Par contre, la profondeur de pénétration est faible et des effets secondaires sont fréquents et importants entre 1400 nm et 1600 nm. Cette plage de longueur d'onde correspond à la bande d'absorption de l'eau présente dans le tissu.
- La profondeur de pénétration est maximale à 1650 nm. Cette longueur d'onde correspond à un minimum local de l'absorption optique de l'eau et de la cornée. De plus, la diffusion baisse d'un facteur trois à 1650 par rapport à 1030 nm. Par conséquent, l'usage d'une source émettant à 1650 nm correspond de fait au meilleur compromis possible entre diffusion et absorption pour obtenir des découpes propres et constantes sur toute la profondeur des cornées même pathologiques.

Lorsque le tissu est absorbant, des effets secondaires apparaissent rapidement avec l'augmentation de l'énergie. Par conséquent, l'usage d'une source erbium classique émettant autour de 1,55 μm n'est pas envisageable pour la chirurgie de greffe de cornée par laser.

Les avantages d'une source émettant à 1650 nm ont été démontrés puisque conformément aux études de transmission et plus précisément de section efficace de diffusion (section 2.2.2.2), on observe en moyenne une augmentation d'environ un facteur trois de la profondeur de pénétration en comparaison de celle obtenue avec une source émettant à 1,03 μm équivalente à celles utilisées cliniquement. Les découpes à 1650 nm atteignent jusqu'à 900 μm de profondeur en conservant des paramètres énergétiques suffisamment bas pour ne pas engendrer d'effets secondaires trop importants. Si de plus on considère qu'une cornée pathologique atteint dans la plupart des cas un maximum de 850 μm chez un patient, on peut conclure que cet outil rassemble les conditions nécessaires à une chirurgie de greffe de cornée efficace dans la grande majorité des cas cliniques.

On peut ajouter un dernier avantage à ce changement de longueur d'onde : la sécurité de l'intervention est largement améliorée si l'on utilise une source centrée à 1650 nm car les milieux oculaire situés sur le chemin du faisceau, derrière la cornée absorbes autour de cette longueur d'onde. L'énergie du faisceau est donc très fortement atténuée avant que le laser n'atteigne la rétine.

Chapitre 6 LE DISPOSITIF

DÉMONSTRATEUR DE GREFFE DE CORNÉE

6.1. Introduction

Le projet ANR GRECO³⁷ avait pour objectif final le développement d'un dispositif démonstrateur permettant de réaliser des expériences automatisées de greffes de cornées selon des géométries complexes favorisant le maintien du greffon. Ce démonstrateur comprend une des sources laser développées à la longueur d'onde optimisée, le dispositif de correction du front d'onde et le système de délivrance du faisceau. Nous avons opté pour une architecture modulaire comprenant trois éléments pouvant être installés ou retirés indépendamment. Comme nous l'avons décrit dans le Chapitre 4, trois sources ont été développées au cours du projet GRECO (deux dans le cadre de cette thèse et une autre par notre partenaire de projet, l'Institut d'Optique Graduate School), dont deux sont *a priori* compatibles avec une application clinique. Le premier module comprend donc soit la source fibré erbium, soit la source ytterbium suivie de l'OPG. Le second module comprend le système de correction du front d'onde composé d'un miroir déformable et d'un analyseur de front d'onde. Le dernier module permet la délivrance du faisceau sur la cornée grâce à un système de balayage du faisceau et contient les éléments d'imagerie de l'échantillon et de diagnostic de la qualité de focalisation en volume par seconde harmonique.

Le projet GRECO reposait sur l'idée qu'utiliser un laser décalé en longueur d'onde plus un système d'optique adaptative permettra de développer un nouvel outil chirurgical qui soit opérationnel sur des cornées pathologiques. Au cours de nos expériences, il s'est avéré que l'usage de l'optique adaptative en tant que paramètre actif de correction du front d'onde en temps réel lors de la découpe n'était pas indispensable, l'effet bénéfique du décalage en longueur d'onde étant bien plus prononcé que prévu, il permet à lui seul d'atteindre les profondeurs de pénétration nécessaires tout en maintenant une qualité des découpes excellentes. L'utilisation de ce module dans le

³⁷ ANR-06-TecSan-025 (durée : 3 ans ½)

dispositif démonstrateur permettra néanmoins de corriger les aberrations du système optique tout le long du parcours du faisceau et en particulier celles induites par l'optique de focalisation. Cela présente l'avantage de mieux disposer d'un démonstrateur avec des performances plus proches de celles d'un prototype. Cependant, un contrôle actif demeure possible et a été développé, il est détaillé dans la partie 6.3. Le troisième module contient le dispositif de balayage. Il a nécessité une étude détaillée comprenant le développement d'une optique spécifique afin d'obtenir le meilleur compromis possible entre le champ de balayage couvert, l'ouverture numérique, la qualité du faisceau, la rapidité du balayage et le coût. Ces études sont détaillées dans la partie 6.2

Un dispositif démonstrateur doit permettre de prouver les hypothèses de travail du projet et de démontrer le principe de fonctionnement d'un tel outil. Il n'est pas nécessaire de prendre d'ores et déjà en compte les contraintes liées aux normes de productions, indispensables à l'obtention du marquage CE (Europe), ou l'accord de la FDA (États-Unis), comme dans le cas du développement d'un prototype.

6.2. Étude des dispositifs de balayage et de focalisation

Le dispositif expérimental utilisé pour les expériences d'incisions laser décrites au Chapitre 5 est basé sur le déplacement des cornées dans les trois dimensions grâce à des moteurs linéaires³⁸ assemblés dans une configuration à trois axes. Il est évident qu'une telle géométrie ne peut pas être utilisée pour un système démonstrateur censé démontrer les possibilités d'un système réel opérant sur un patient devant rester immobile tout au long de l'intervention.

Les conditions devant satisfaire aux contraintes de géométrie du tissu, tout en conservant une bonne qualité de découpes, donc minimisant les effets secondaires et maximisant la profondeur de pénétration sont décrites dans ce cahier des charges :

- balayage du laser dans le volume des cornées humaines :
 - 8 à 10 mm de diamètre ;
 - 1 mm de profondeur ;

³⁸ GTS70, GTS150 et GTS 30V, Newport, Irvine, Californie, États-Unis

- ouverture numérique comprise entre 0,3 et 0,5 afin de garder une précision micrométrique tout en limitant les aberrations et les effets secondaires (filamentation) ;
- durée d'intervention inférieures à la minute pour diminuer les risques liés aux mouvements du patient formation de stries...);
- optique adaptée à la longueur d'onde 1650 nm.

Pour permettre un balayage couvrant la surface de la cornée, deux méthodes (plus quelques spécificités) ont essentiellement été utilisés pour les systèmes cliniques existants. Soit ils balayent le faisceau avec des miroirs galvanométriques, soit ils déplacent des optiques par rapport à l'axe optique. L'ensemble de ces possibilités est décrit dans le tableau 16 (les dispositifs proposés sont agrandis sur la figure 63) :

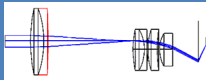
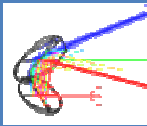
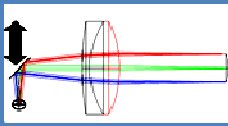
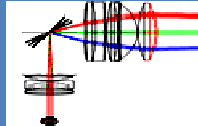
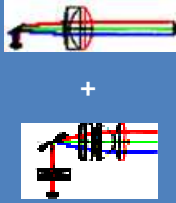
					
Principe	2 lentilles ou plus sont déplacés en x et en y	2 miroirs galvanométriques rotatifs	2 miroirs déplacés linéairement selon x et y	1 miroir galvanométrique θ imagé sur un second Φ	Combinaison des solutions 3 et 4
Avantages	- Optique standard - Image de l'intervention - Faible coût	- Facile à piloter - Faible coût - rapide	- Peut d'aberrations - Faible coût	- Peut d'aberrations - Rapide - Image de l'intervention	- Très peu d'aberrations - Très rapide
Inconvénients	- Fortes aberrations - Assez lent - Grandes optiques	- Fortes aberrations - Grande optique de type f-thêta	- Très lent - Optique télécentrique	- Très coûteux - Grand nombre d'optiques	- Très coûteux - Grand nombre d'optiques

Tableau 16 : Principes de balayages du faisceau laser proposés

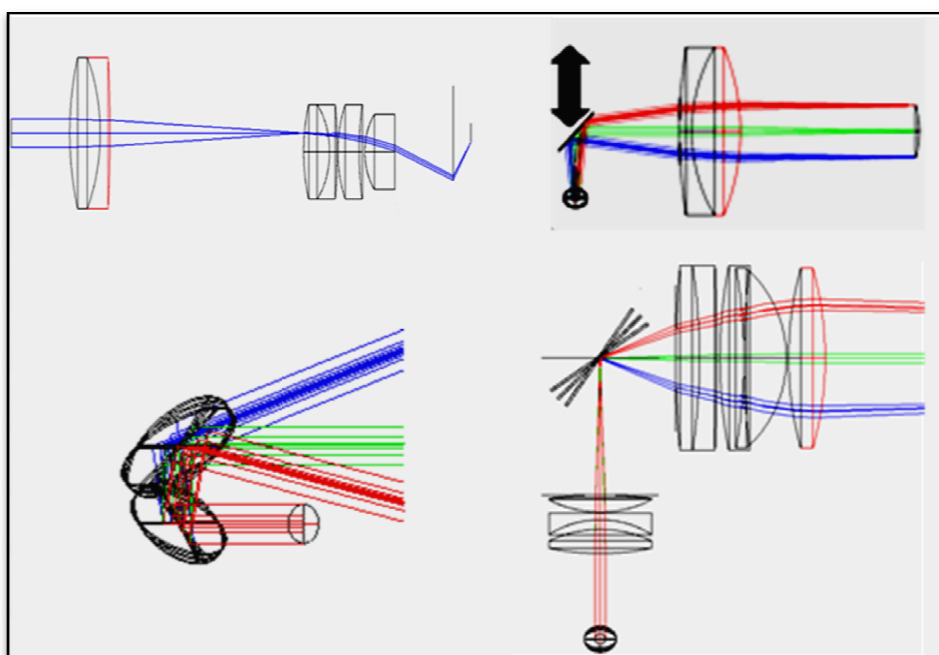


Figure 63 : Agrandissement des systèmes de balayage proposés pour le démonstrateur de greffe de cornée

Compte tenu des contraintes financières du projet et puisqu'une partie de l'optimisation optique peut être assurée par le module de correction du front d'onde, nous avons privilégié la seconde approche qui offrait les meilleurs compromis. Cette méthode permet un balayage rapide (20 s à 40 s) avec des éléments optiques fixes, le champ couvert est d'environ 12 mm de diamètre tout en conservant une focalisation suffisante d'ouverture numérique 0,3. Ces caractéristiques ont été atteintes grâce à l'utilisation d'un élément optique de focalisation conçu sur mesure de type f-thêta. Une modélisation de ce système est présentée en figure 64.

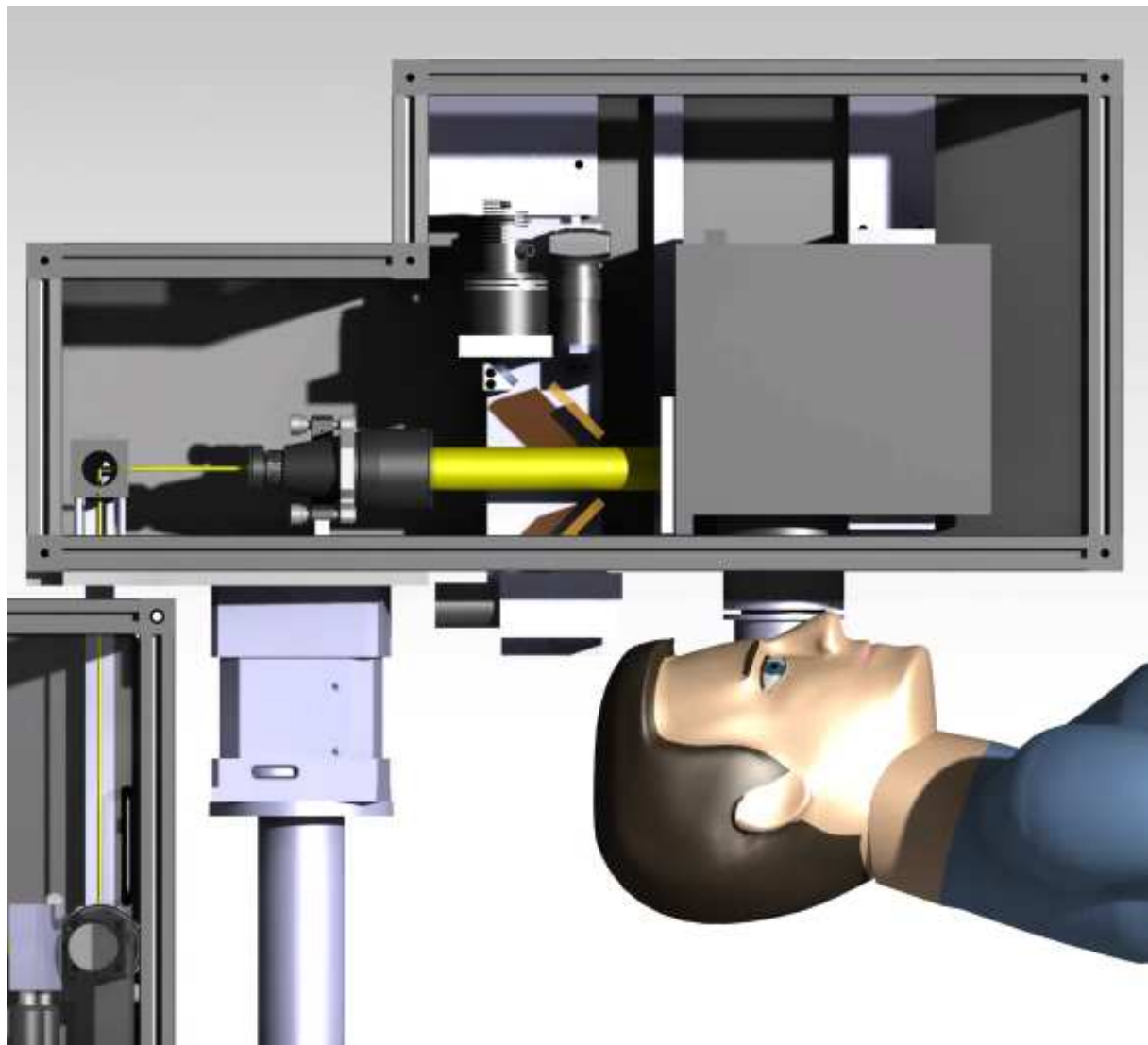


Figure 64 : Conception assisté par ordinateur du diapositif de délivrance du faisceau

6.3. Le système de correction du front d'onde

Le système initialement proposé dans le projet GRECO prévoyait d'utiliser l'optique adaptative pour corriger en temps réel, au cours de l'intervention les aberrations basses fréquences dues à la propagation du faisceau dans le volume des cornées. Cette correction peut se faire grâce à une mesure de l'émission de seconde harmonique générée au point focal dans le volume de la cornée et rétro-émise ou rétro-diffusée. L'énergie de seconde harmonique est proportionnelle au carré de la densité d'énergie au point focal. Sa mesure nous permet donc de disposer d'un facteur de mérite directement lié au confinement de la tâche focale. Un algorithme génétique permettant de tester différentes positions du miroir déformable suivant ce facteur de mérite sert à optimiser le front d'onde pour obtenir la meilleure découpe possible. Le module de correction du front d'onde est présenté sur la figure 65.

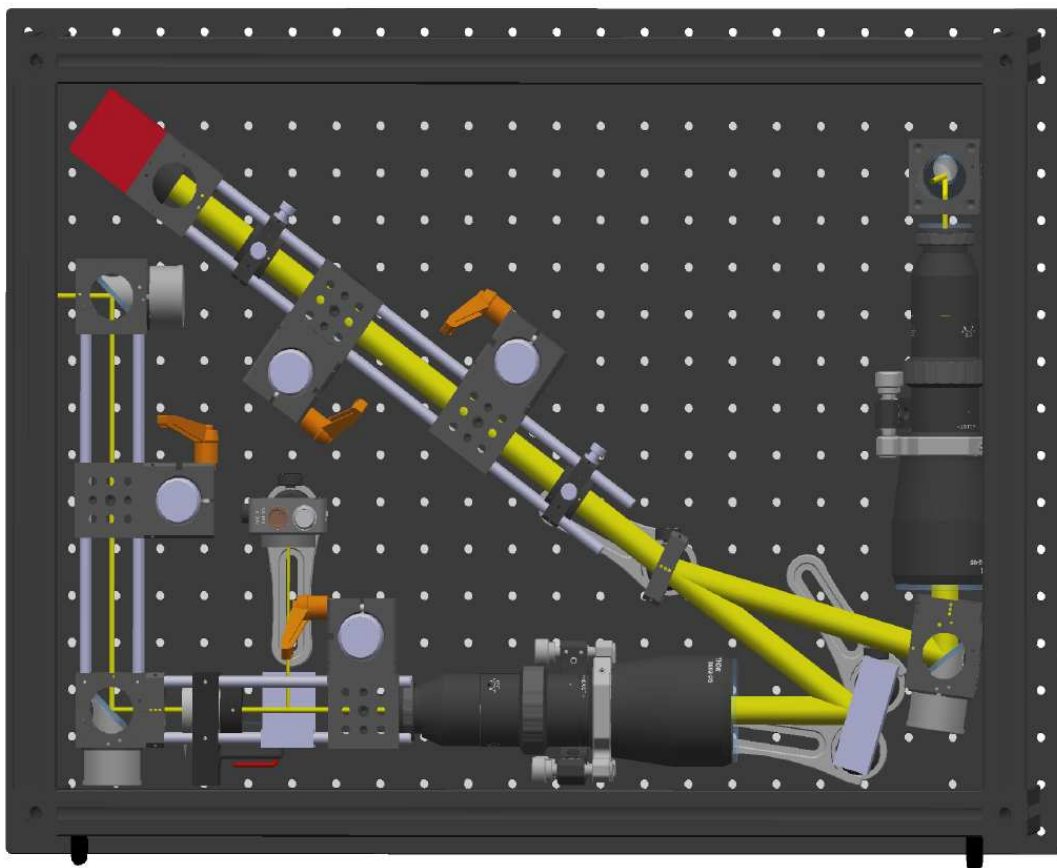


Figure 65 : Conception assistée par ordinateur du module de correction du front d'onde

Un miroir dichroïque placé juste avant le système de balayage permet de transmettre le laser et de réfléchir la seconde harmonique rétrodiffusée. L'énergie de seconde harmonique est ensuite mesurée avec un photomultiplicateur relié à l'ordinateur et placé après la réflexion du signal sur un miroir dichroïque (figure 66). De plus, analyseur de front d'onde permet de vérifier le front d'onde du laser utilisé pour l'intervention et doublé en fréquence à partir de la fuite du miroir placé immédiatement après le miroir déformable. Ce contrôle permet de faciliter la convergence de l'algorithme génétique correspondant à une position de miroir déformable optimale en évitant notamment que celui-ci prenne des positions trop éloignées de la configuration idéale, pouvant par exemple dévier le faisceau du parcours optique. Bien que permettant d'optimiser la qualité de la découpe, cette méthode nécessite d'effectuer un premier balayage de la cornée pour définir les positions du miroir déformable, elle ralentit donc l'intervention chirurgicale puisque la dynamique du miroir déformable est beaucoup plus lente que le système de balayage. De plus, les découpes sont de bonnes qualités et ont une profondeur de pénétration suffisante sans avoir recours à ce dispositif. Par conséquent, le module d'optique adaptative sera essentiellement utilisé pour corriger les aberrations induites par l'ensemble des optiques du démonstrateur et en particulier celles provoquées par le système de balayage et l'optique de focalisation.

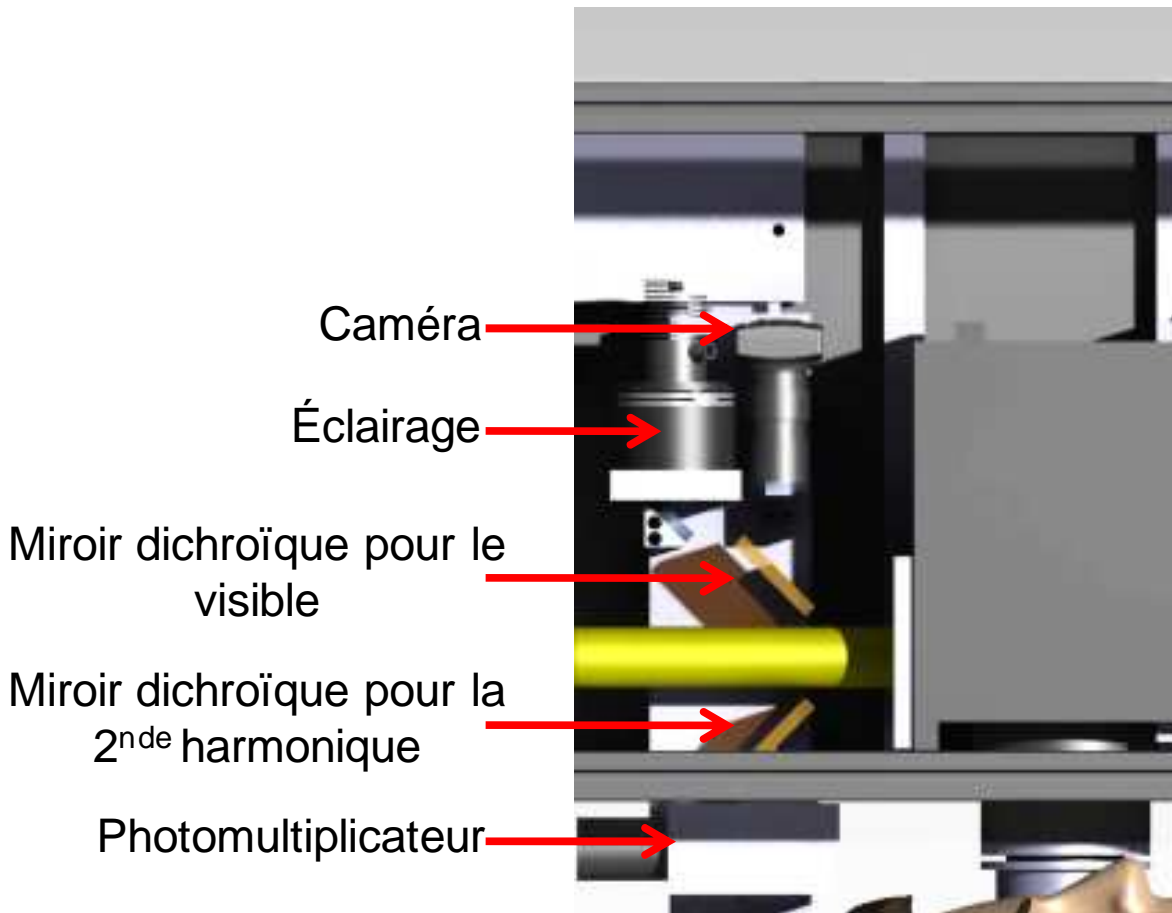


Figure 66 : Système sur rail permettant soit la mesure de l'énergie de la seconde harmonique vers l'arrière, soit l'éclairage et la visualisation de la surface de la cornée

6.4. Le dispositif démonstrateur

L'ensemble du démonstrateur est composé de trois modules automatisés et pilotés par ordinateur. L'ensemble des optiques sont reliées par un système tubulaire garantissant un bon maintien de l'alignement et une bonne rigidité dans le temps. Deux miroirs de renvoi situés en début et en fin de parcours optique de chaque module garantissent un ajustement rapide du passage du faisceau d'un module à l'autre. Le contrôle de l'énergie se fait par la succession d'une lame à retard $\lambda/2$ montée sur un moteur rotatif et d'une lame de Brewster dont l'énergie réfléchie est mesurée par une photodiode (figure 67).

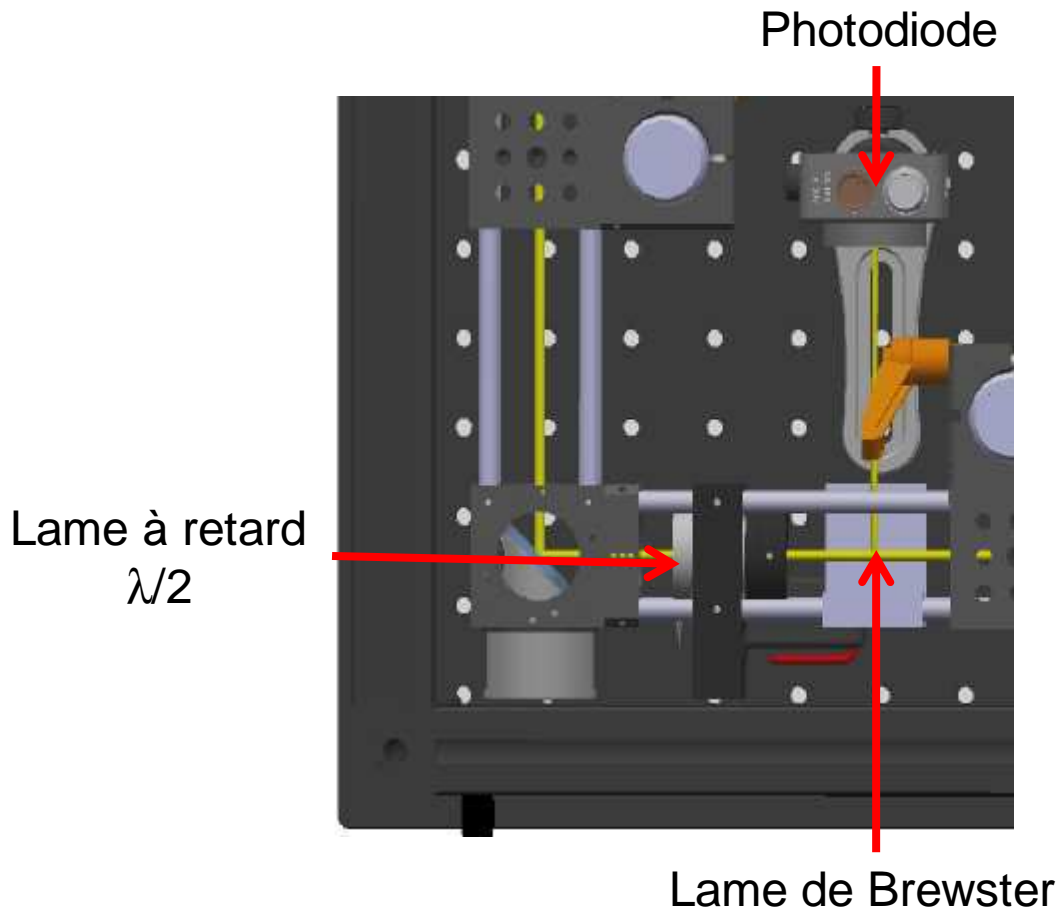


Figure 67 : Système de contrôle de l'énergie

Le miroir déformable est également piloté par ordinateur, qu'on utilise l'algorithme génétique couplé au diagnostic de seconde harmonique, ou qu'on l'utilise pour corriger les aberrations du système optique. Le déplacement dans le volume de la cornée est effectué par un moteur linéaire de course verticale, entraînant l'ensemble du module de délivrance du faisceau. Le même logiciel permet de déplacer les miroirs galvanométriques. Ce programme permet de réaliser les découpes représentées sur la figure 68:

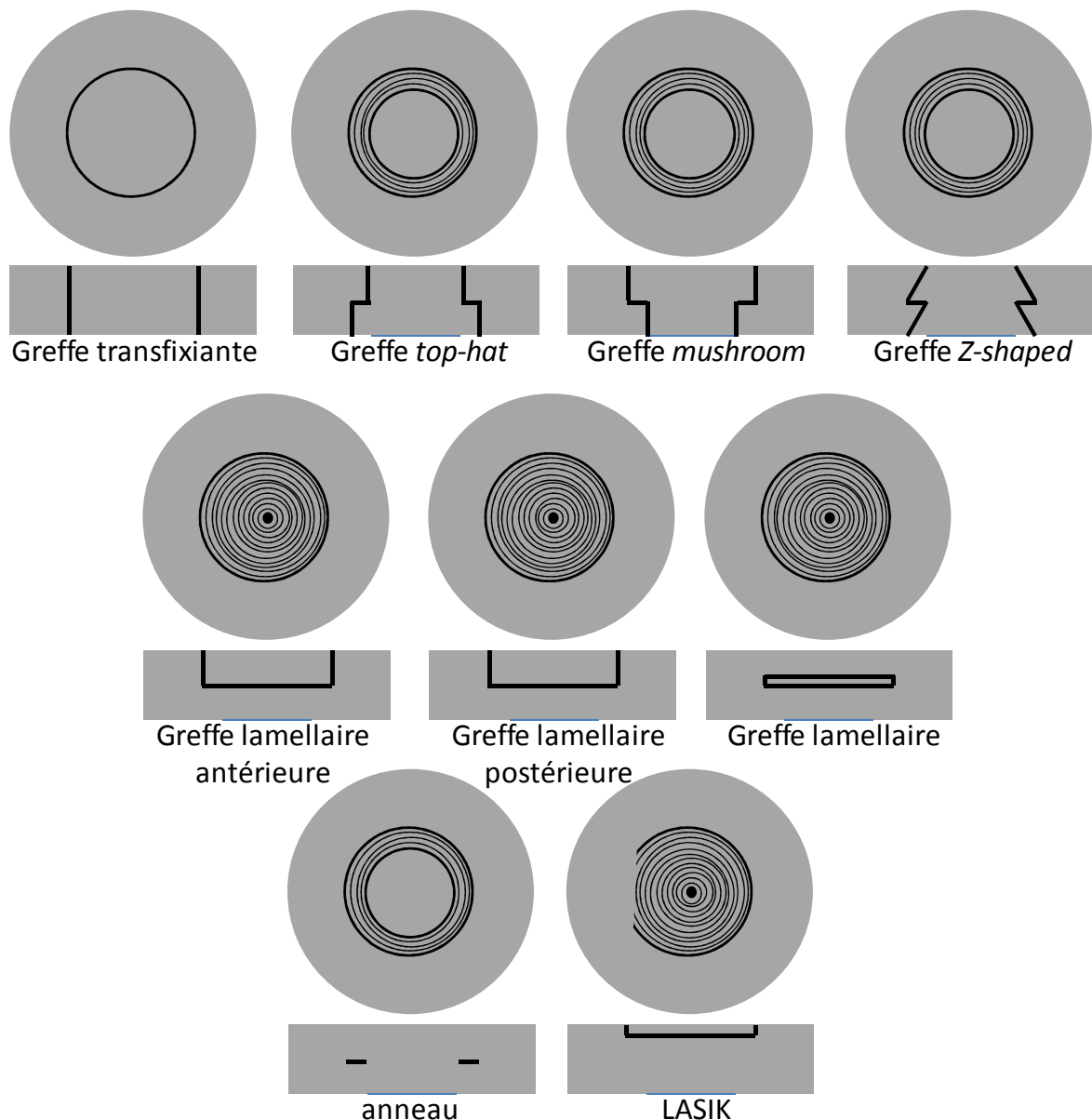


Figure 68 : Schéma des différentes coupes réalisables avec le démonstrateur GRECO

Le laser est focalisé dans la cornée à une distance de 5 mm après la sortie de la lentille f-thêta. La délivrance du faisceau est verticale et dans la direction du sol, ce qui permettrait à un patient de s'allonger en dessous du module pendant l'intervention comme sur les systèmes cliniques. Un cône d'aplanation monté sur ressort est fixé à la lentille de focalisation afin de ne pas suivre le mouvement de balayage. Une lame transparente fixée à son extrémité permet de déterminer la position de référence correspondant à la position du point de focalisation du laser lorsque le système est au repos et d'aplanir la cornée afin de travailler sur une surface plane. Nous avons choisi une lame en saphir car son seuil de claquage optique est supérieur au verre et à la

cornée, ce qui permet d'éviter l'usinage de cette lame par le laser et donc le dépôt de fragments dans la cornée [68]. Juste avant les miroirs galvanométriques, un rail permet de placer dans le trajet du faisceau soit un miroir dichroïque permettant de collecter la seconde harmonique, soit un autre miroir dichroïque réfléchissant dans le visible et permettant d'éclairer et d'imager la cornée. Le système de délivrance du faisceau permet de réaliser toutes les procédures actuellement utilisées cliniquement avec des durées d'intervention de 20 s à 40 s. Sur la figure 69 est présentée le schéma de l'ensemble du démonstrateur contenant le laser fibré, le module de correction du front d'onde et le système de délivrance du faisceau dessiné avec un logiciel de conception assistée par ordinateur³⁹. L'interface utilisateur du logiciel permettant de piloter l'ensemble des procédures est disponible sur la figure 70. Il permet de lancer les diagnostics en seconde harmonique et l'intervention chirurgicale et de suivre son avancement. Nous l'avons programmé à partir du logiciel Labview⁴⁰. Il reprend l'ensemble des procédures disponibles actuellement sur les systèmes cliniques excepté l'option de correction de la presbytie. Le choix de la procédure de découpe se fait en cliquant sur l'onglet correspondant en haut de l'interface utilisateur. Un voyant rond apparaissant en verre sur la figure 70 permet d'alerter le chirurgien dès que la procédure est prête à être lancée. Une fois que le chirurgien a défini les paramètres liés à la cornée et à l'énergie nécessaire pour l'intervention, celui-ci peut choisir de lancer directement la procédure de découpe ou de passer par le diagnostic en seconde harmonique. Un dernier interrupteur permet de stopper à tout moment l'intervention et d'obturer le passage laser.

³⁹ CATIA (Conception Assistée Tridimensionnelle Interactive Appliquée), Dassault Aviation, Vélizy-Villacoublay, France.

⁴⁰ Labview 2009, National Instruments, Austin, Texas, États-Unis.

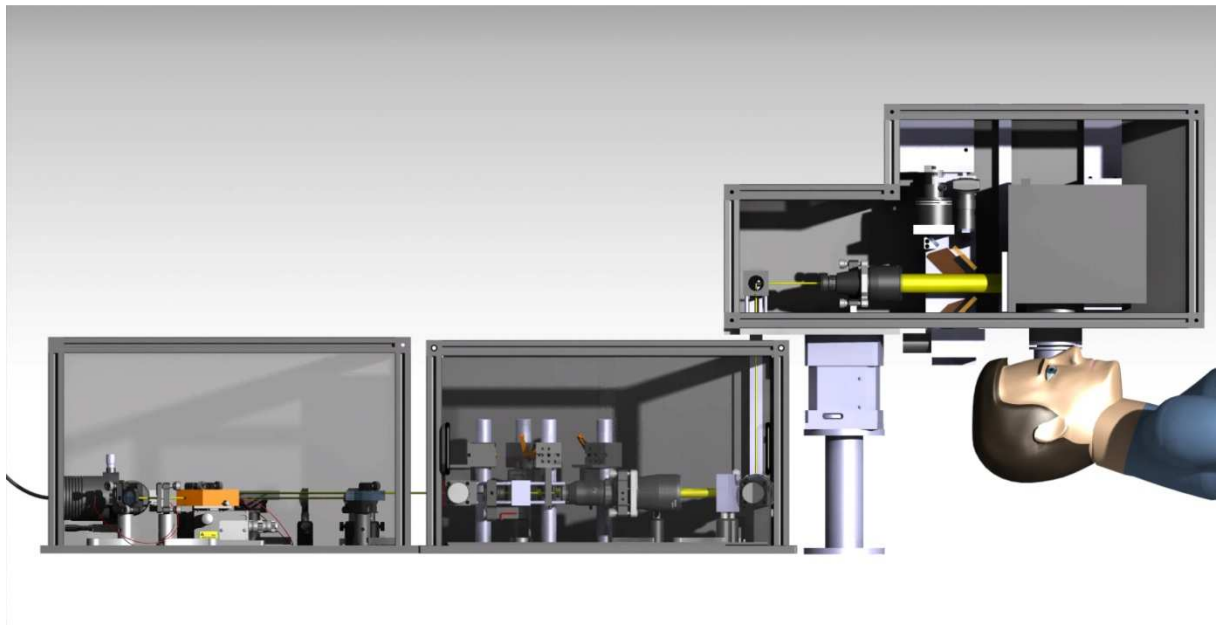
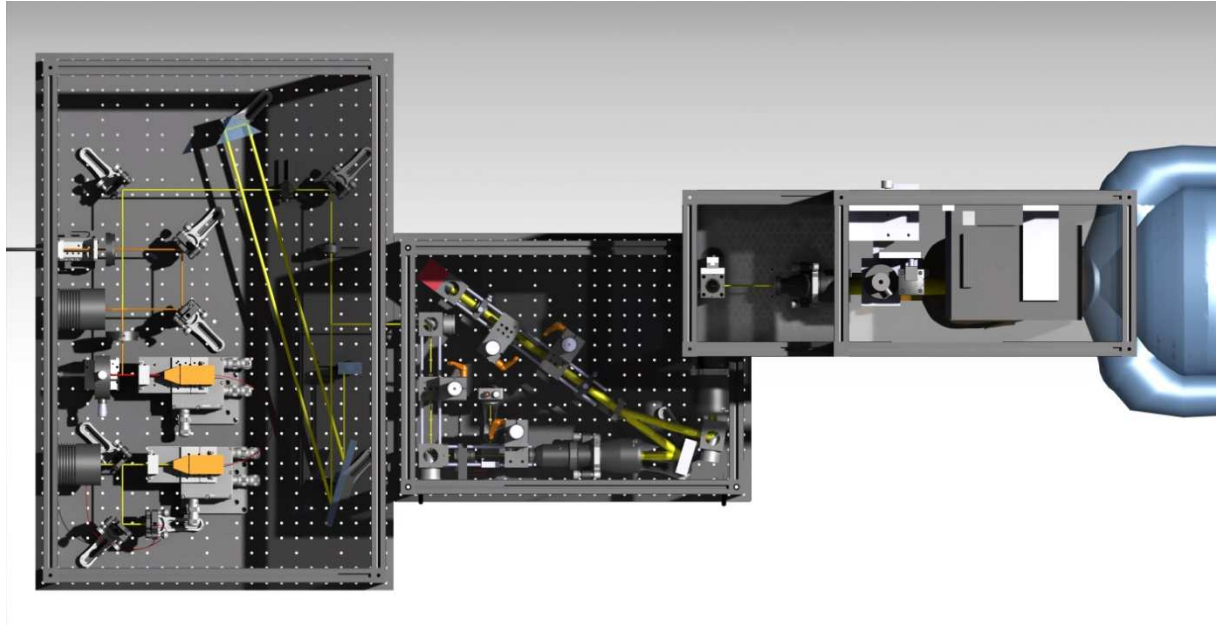


Figure 69 : Schéma (réalisé sous CATIA) du démonstrateur GRECO, vue de dessus (en haut) et de profil (en bas)

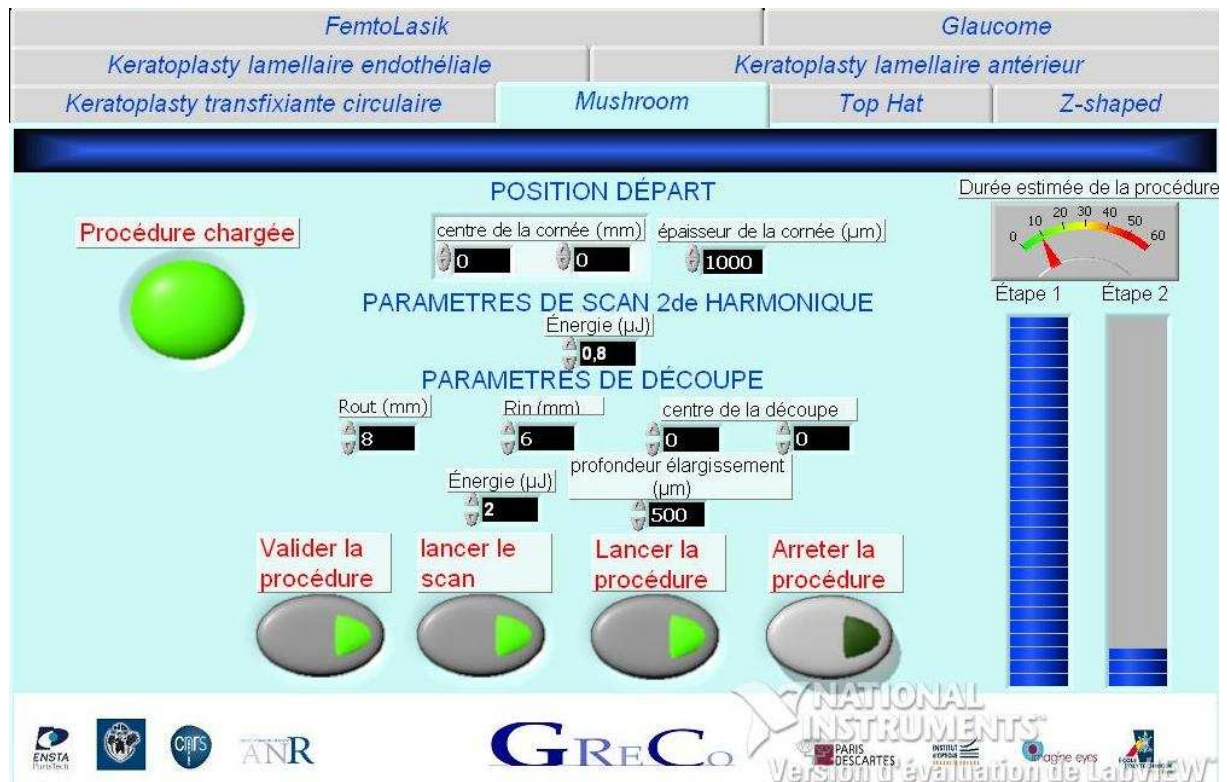


Figure 70 : Interface utilisateur du logiciel de pilotage du démonstrateur GRECO

6.5. Discussion sur les performances et les évolutions

Le dispositif démonstrateur permettra de réaliser en laboratoire l'ensemble des procédures de chirurgie de la cornée disponibles sur les systèmes cliniques. La durée des interventions varie entre 20 secondes et 40 secondes selon la complexité de la procédure. Sa structure modulaire le rend très polyvalent et nous permet de tester un grand nombre de paramètres. Cependant, un certain nombre d'évolutions sont nécessaires avant de pouvoir passer au développement d'un prototype qui permettrait de faire les premières études cliniques sur patient.

- Les sources laser doivent être optimisées :
 - pour la source erbium, il reste à étudier l'origine de la déstructuration du collagène. De plus, cette source ne délivre pas encore suffisamment d'énergie

pour autoriser tous les types de greffes. Cette contrainte pourra certainement être levée dans les années à venir avec le développement de fibres de cœurs plus larges afin d'augmenter l'énergie de pompe et donc l'énergie en sortie.

- La source OPG doit également être améliorée notamment grâce à un filtrage spectral par exemple à l'aide d'une cuve d'eau afin d'obtenir un spectre parfaitement compatible avec celui du tissu. Des études de stabilité dans le temps, de reproductibilité des performances entre les cristaux et d'évolution de la lentille thermique doivent également être effectuées. D'autres cristaux compatibles avec cette technologie sont également disponibles et pourraient être testés.
- La partie optique adaptative doit également être optimisée si on souhaite pouvoir l'utiliser en temps réel. Notamment, la vitesse de l'algorithme doit être fortement accélérée pour diminuer la durée des interventions.
- Le système de balayage n'est pas encore optimal en termes d'aberrations, de vitesse et de taux de transmission :
 - pour améliorer la qualité optique et la rapidité, une bonne solution serait de développer les solutions 4 ou 5 du tableau 16. Ce système demande un développement important pour obtenir des optiques sur mesure optimisées à $1,65 \mu\text{m}$;
 - Un effort important doit être fait pour optimiser la transmission des optiques et du système de balayage puisqu'actuellement la transmission globale est d'environ 50 %.
 - Un certain nombre de normes doivent être respectées pour obtenir les différentes autorisations. Cela correspond au marquage CE en Europe et à l'accord de la FDA aux États-Unis. On peut notamment citer la distance focale de l'optique de focalisation qui doit être d'au moins 2 cm contre 5 mm actuellement.
- Le système permet aujourd'hui des balayages d'environ 10 mm de diamètre. Pour utiliser le même montage dans le cadre de la chirurgie du glaucome, ce champ doit être augmenté d'environ 5 mm.
- Le déplacement de l'ensemble du module de délivrance n'est pas idéal pour obtenir une bonne précision et une bonne reproductibilité des translations verticales. Ce

Le système doit donc être remplacé par un système déplaçant uniquement les derniers éléments optiques avant la cornée.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La chirurgie par laser femtoseconde s'est largement développée pour des applications sur tissu transparent tel que sur une cornée saine. Les formidables avantages de cet outil de part la précision, la reproductibilité et la sécurité qu'il confère à l'intervention chirurgicale expliquent la volonté de le voir se développer dans de plus en plus d'applications médicales. Cependant, dès que l'on sort du cadre du tissu transparent, la diffusion de la lumière devient un facteur contraignant qui limite fortement l'efficacité de cet outil. Le présent travail de thèse et le projet collaboratif GRECO⁴¹. Ils ont porté sur le développement d'un outil de chirurgie laser pour la greffe de cornée pathologique. Cette opération nécessite l'intervention dans le volume de tissus perturbants la propagation des faisceaux. Les propriétés optiques de ce tissu sont étroitement liées au degré d'ordre dans sa structure. Une désorganisation provoquée par des pathologies entraîne une perte de transparence, un épaissement du tissu et une augmentation de la diffusion. Les mécanismes de diffusion dans la cornée sont essentiellement de type Rayleigh, leur influence décroît donc rapidement avec l'augmentation de la longueur d'onde. La solution technologique proposée a donc consisté en un décalage de la longueur d'onde des sources lasers femtoseconde vers la fenêtre de relative transparence du tissu centrée à environ 1650 nm alors que les systèmes clinique actuels disposent de sources laser dont la longueur d'onde d'émission est centrée autour de 1 μm . Pour étudier cette évolution et proposer des solutions pouvant être intégrées dans un système clinique, trois sources ont été développées dont deux dans le cadre de cette thèse :

- une source accordable flexible utilisant le principe d'amplification paramétrique optique pompée par un laser de laboratoire titane:saphir. Elle a permis d'étudier l'interaction laser tissu et les profondeurs de pénétration entre 1200 nm et 1700 nm. L'originalité de cette source vient de l'utilisation de deux cristaux différents pour permettre la sélection, la conversion et l'amplification des longueurs d'onde que nous avons testées. Elle délivre des impulsions de 300 μJ sur une durée de 100 fs et à une cadence de 1 kHz ;

⁴¹⁴¹ ANR-06-TecSan-025

- une source accordable compacte utilisant le principe de génération paramétrique optique pompée par un laser commercial dopé ytterbium et offrant des performances énergétiques deux ordres de grandeur au dessus de l'état de l'art. Cette source a permis d'étudier précisément l'interaction laser tissu et la profondeur de pénétration entre 1450 nm et 1700 nm et de comparer les performances de découpes avec celles effectuées à la longueur d'onde des systèmes cliniques. Elle utilise la technologie des cristaux polarisés périodiquement actuellement en plein développement. Elle délivre des impulsions de 500 fs avec une énergie de 20 μ J deux ordres de grandeur au dessus de l'état de l'art. Ces performances sont valables pour des cadences de 10 kHz ;
- une source fibrée erbium à 1600 nm développée par l'Institut d'Optique Graduate School [4].

Les expériences de chirurgie ont permis de démontrer ou de confirmer les résultats suivants :

- les profondeurs de pénétration à 1030 nm (longueur d'onde similaire à celle des systèmes clinique actuels) ne sont pas suffisantes pour effectuer une greffe de cornée nette, régulière et complète lorsque ce tissu est œdémateux ;
- au niveau du pic d'absorption de l'eau entre 1400 nm et 1550 nm, les profondeurs de pénétration sont faibles et des effets secondaires (modification de la structure du collagène) sont visibles même à de faibles énergies ;
- à 1650 nm, les profondeurs de découpes atteignent 900 μ m sur des cornées fortement œdémateuses pour des énergies entre 1 et 2 μ J. Les cornées œdémateuses traitées cliniquement ne dépassant que rarement 850 μ m d'épaisseur, ce qui confirme la pertinence de l'usage de cette longueur d'onde pour une application de greffe de cornée pathologique. Cette évolution a permis d'augmenter les profondeurs de pénétration du laser d'environ un facteur trois par rapport aux résultats des lasers cliniques actuels.

Enfin, un dispositif démonstrateur a été développé permettant d'effectuer des expériences de greffe de cornée automatisées opérant à la nouvelle longueur d'onde et

proposant les mêmes géométries de découpes que celles disponibles sur les systèmes cliniques.

La problématique de la profondeur de pénétration des lasers dans le tissu ne se réduit pas à la seule application sur cornée pathologique. On peut envisager un grand nombre d'autres indications qui bénéficieraient d'une diminution des contraintes de diffusion sur la propagation du faisceau des lasers grâce à un décalage de leurs longueurs d'onde d'émission vers 1,65 μm . Par ailleurs ces outils étant encore souvent très coûteux, il serait particulièrement intéressant de les rendre plus polyvalent en développant des systèmes multitâches. Il n'est pas impossible d'envisager que les ophtalmologistes puisse un jour disposer d'un outil unique pour réaliser à la fois des interventions sur la cornée (capot cornéen, greffes, presbytie...), la sclère (glaucome...), le cristallin (cataracte...), la rétine (transfert de gènes...), etc...

Un certain nombre de travaux de recherche et de développement sont aujourd'hui en cours ou en discussion et permettent d'illustrer ces propos :

- une application utilisant la nouvelle longueur d'onde est aujourd'hui en cours au sein de notre groupe : le projet ANR-08-TecSan-012 NOUGAT et le travail de doctorat de Caroline Crotti débuté en octobre 2008 traitent de la problématique de chirurgie du glaucome grâce à un laser femtoseconde utilisant ce décalage de la longueur d'onde d'émission. Le tissu à traverser est la sclère et les profondeurs de pénétration nécessaires sont semblables à celles de la cornée puisque le canal de Schlemm se situe à environ 800 μm sous la conjonctive (partie antérieure de la sclère). La source OPG développée dans cette thèse a permis de valider le premier jalon du projet et les premiers résultats effectués à partir de la source OPA sont déjà très encourageants, puisque nous avons réalisé une découpe transfixiante présentée en histologie sur la figure 71 :

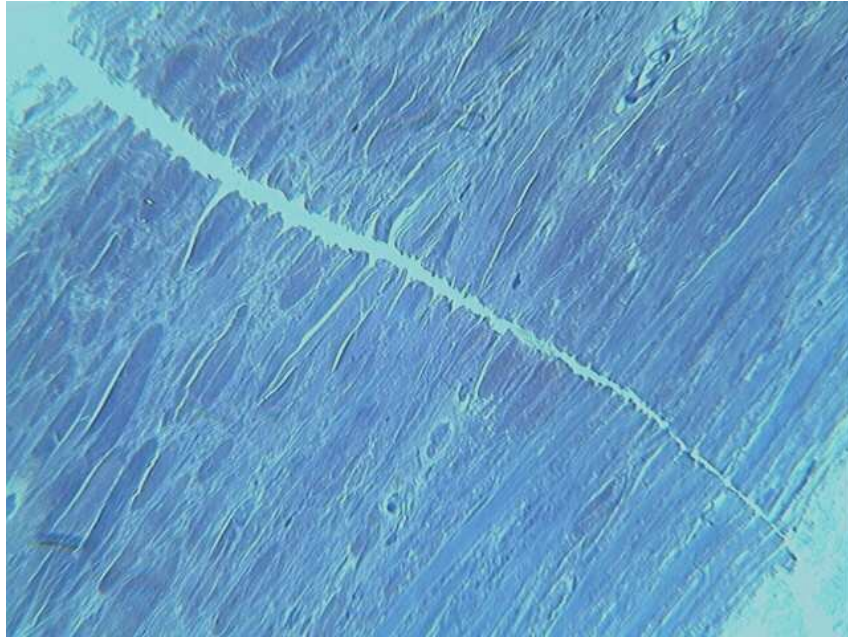


Figure 71 : Coupe histologique d'une incision transfixiante réalisée dans la sclère avec la source OPA centrée à 1650 nm.

- Une autre application déjà proposée par des systèmes commerciaux émettant autour de 1 μm concerne la chirurgie de la cataracte. En effet, lorsque le cristallin est cataracté, ce tissu devient diffusant. Il reste toutefois à déterminer si la diffusion est également de type Rayleigh et donc si elle baisse effectivement avec la longueur d'onde. Ce tissu n'ayant pas de pigment, le spectre de transmission devrait normalement être semblable à celui de la cornée et de la sclère.

En parallèle de ces applications chirurgicales, l'équipe Optique-Photonique-Santé du Laboratoire d'Optique Appliquée continue ses recherches plus fondamentales sur les propriétés optiques de la cornée (particulièrement le projet de thèse de Tal Marciano débuté en 2009) et sur l'interaction laser tissu. Un projet est également en étude pour une application de transfert de gènes sur la rétine assistée par laser femtoseconde.

ANNEXE 1: PRINCIPE DE LA CONVERSION PARAMÉTRIQUE

La conversion paramétrique

Afin de résoudre les équations liées à la conversion paramétrique, il est nécessaire de faire un certain nombre d'approximations. Les évolutions et les ordres de grandeurs ainsi déterminés restent toutefois pertinents. Bien qu'en réalité les ondes soient des faisceaux gaussiens, on considère ici des ondes planes, quasi-monochromatiques, progressives et d'enveloppe lentement variable. Ces ondes se propagent selon l'axe z dans un cristal non-linéaire totalement transparent, isotrope et de longueur transverse infini. Enfin on considère des ondes polarisées linéairement. On peut alors décrire l'évolution du champ électrique (E) à partir des équations de Maxwell :

$$\mathbf{rot rot E} = -\mu_0 \frac{\partial^2 D}{\partial t^2} ; \quad (6-1)$$

μ_0 étant la perméabilité du vide. L'induction électrique D est reliée au champ électrique par la relation :

$$D = \epsilon_0 E + P , \quad (6-2)$$

où ϵ_0 est la permittivité du vide. Le second terme, la polarisation P , peut être séparée en deux termes, l'un linéaire et l'autre non-linéaire :

$$P_l = \epsilon_0 \chi^{(1)} * E , \quad (6-3)$$

$$P_{nl} = \epsilon_0 \chi^{(2)} * (E, E) + \epsilon_0 \chi^{(3)} * (E, E, E) + \dots , \quad (6-4)$$

$$\chi^{(j)} * (E, \dots, E) = \int_{-\infty}^t dt_1 \dots \int_{-\infty}^t dt_j \chi^{(j)}(t - t_1, \dots, t - t_j) E(t_1) \dots E(t_j) . \quad (6-5)$$

Puisque l'on considère un milieu transparent à la fréquence de l'onde électromagnétique, les éléments du tenseur de susceptibilité $\chi^{(i)}$ sont tous réels⁴².

Selon les hypothèses de départ, on peut alors décrire le processus de conversion paramétrique pour trois ondes colinéaires. Ces trois ondes sont appelées ondes pompe, signal et complémentaire et sont repérées par les indices $j=p, s$ et c respectivement. Pour ce faire, on détermine leur champ électrique réel comme le produit d'une enveloppe complexe et d'une porteuse:

$$\mathbf{E} = \mathbf{E}_p + \mathbf{E}_s + \mathbf{E}_c, \quad (6-6)$$

$$\mathbf{E}_j(\mathbf{z}, t) = \text{Re}[\mathbf{A}_j(\mathbf{z}, t) \mathbf{e}^{i(\mathbf{k}_j \mathbf{z} - \omega_j t)} \mathbf{u}_j], \quad (6-7)$$

$$\omega_p = \omega_s + \omega_c, \quad (6-8)$$

où ω_j est la pulsation ou fréquence angulaire de l'onde j reliée au module du vecteur d'onde k_j par la relation :

$$\mathbf{k}_j = \mathbf{n}(\omega_j) \frac{\omega_j}{c}, \quad (6-9)$$

où c est la vitesse de la lumière dans le vide.

On peut désormais relier l'intensité au champ :

$$I_j = \frac{1}{2} \epsilon_0 \mathbf{c} \mathbf{n}_j |\mathbf{E}|^2 = \frac{1}{2} \epsilon_0 \mathbf{c} \mathbf{n}_j |\mathbf{A}_j|^2. \quad (6-10)$$

Pour des cristaux non-linéaires de $\chi^{(2)}$ élevées, on peut considérer uniquement le développement au premier ordre de la polarisation non-linéaire à partir des équations 6-5. De plus, à condition que le milieu soit non centro-symétrique, les coefficients du tenseur de susceptibilité non-linéaire du second ordre sont non nuls, et si on considère que la variation de l'enveloppe des champs est lente devant la longueur d'onde on a

$$\left| \frac{dA_j}{dz} \right| \ll k_j |A_j|. \quad (6-11)$$

⁴² Nous rappelons que l'indice de réfraction est donné par la relation $n^2(\omega) = 1 + \chi^{(1)}(\omega)$.

Par conséquent, l'équation 6-1 permet d'obtenir le système réduit d'équations de propagation du champ dans le milieu non-linéaire :

$$\begin{cases} \frac{\partial A_p}{\partial z} = -i \frac{\omega_p}{c n_p} \mathbf{d}_{eff} A_s A_c e^{i\Delta k z} \\ \frac{\partial A_c}{\partial z} = -i \frac{\omega_s}{c n_s} \mathbf{d}_{eff} A_p A_c^* e^{-i\Delta k z} \\ \frac{\partial A_s}{\partial z} = -i \frac{\omega_c}{c n_c} \mathbf{d}_{eff} A_p A_s^* e^{-i\Delta k z} \end{cases} \quad (6-12)$$

Le terme $\Delta k = k(\omega_p) - k(\omega_s) - k(\omega_c)$ correspond au désaccord de phase. La susceptibilité non-linéaire effective $d_{eff} = \frac{1}{2} u_p : \chi^{(2)} : u_s : u_p$ décrit la force de couplage entre les 3 ondes. Les termes croisés $A_p A_s^*$ et $A_p A_c^*$ croissent au fur et à mesure que les champs A_s et A_c s'amplifient. Le gain paramétrique peut démarrer à partir du bruit, ce qui sera important pour la compréhension de la source par génération paramétrique optique (section 4.3).

Une façon élégante d'illustrer le sens physique de ces équations consiste à introduire le concept de flux de photons Φ . Pour cela, on fait le changement de variable suivant :

$$\Phi_j = \sqrt{\frac{n_j}{\omega_j}} A_j \quad (6-13)$$

Le système 6-12 devient alors symétrique :

$$\begin{cases} \frac{\partial \Phi_p}{\partial z} = -i \kappa \Phi_s \Phi_c e^{-i\Delta k z} \\ \frac{\partial \Phi_s}{\partial z} = -i \kappa \Phi_p \Phi_c^* e^{i\Delta k z} \\ \frac{\partial \Phi_c}{\partial z} = -i \kappa \Phi_p \Phi_s^* e^{i\Delta k z} \end{cases} \quad (6-14)$$

Le coefficient de couplage κ est défini comme étant égal à $\frac{d_{eff}}{c} \sqrt{\frac{\omega_p \omega_s \omega_c}{n_p n_s n_c}}$. Si on normalise le système en divisant le flux de photons par le flux de photon initial de la pompe Φ_0 , on peut encore réécrire ce système et décrire l'évolution des amplitudes normalisées :

$$\begin{cases} \frac{\partial u_p}{\partial \zeta} = -i\kappa u_s u_c e^{2iS\zeta} \\ \frac{\partial u_s}{\partial \zeta} = -i\kappa u_p u_c^* e^{2iS\zeta} , \\ \frac{\partial u_c}{\partial \zeta} = -i\kappa u_p u_s^* e^{-2iS\zeta} \end{cases} \quad (6-15)$$

$$\text{avec } u_j = \frac{\Phi_j}{\Phi_0}.$$

Le système ne dépend plus alors que de deux paramètres : une distance d'interaction normalisée ζ et un désaccord de phase normalisé S

$$\zeta = \kappa \Phi_0 z = \frac{z}{L_{NL}} , \quad (6-16)$$

$$S = \frac{\Delta k}{2\kappa \Phi_0} = \frac{1}{2} \Delta k L_{NL} , \quad (6-17)$$

où L_{NL} correspond à la longueur caractéristique d'évolution du système. Si $S \ll 1$, cette longueur correspond à celle pour laquelle le transfert d'énergie entre les ondes est maximal si les conditions initiales sont équilibrées. Si $S \gg 1$, la longueur caractéristique dépend essentiellement de la période d'oscillation également appelée longueur de cohérence :

$$\Lambda_c = \frac{1}{\Delta k} . \quad (6-18)$$

Compte tenu de ces résultats, il est désormais intéressant de donner quelques ordres de grandeur en fonction des paramètres qui nous ont intéressés dans cette thèse. Ainsi, pour un éclairage de pompe entre 0,1 et 1 GW/cm² et des cristaux non-linéaires de β -baryum Borate (BBO) ou de Bismuth triborate (BiBO) tels que ceux que nous avons utilisés ayant un d_{eff} d'environ 2pm/V, la longueur de cohérence est d'environ 2 à 3 mm en considérant une pompe à 820 nm.

Les conditions de longueur optimales des cristaux non-linéaires pour la conversion paramétrique désormais définis, nous nous intéressons au gain potentiel correspondant.

Le système 6-15 permet de calculer trois intégrales premières :

$$m_c = |u_p|^2 + |u_s|^2 , \quad (6-19)$$

$$m_s = |u_p|^2 + |u_c|^2 \text{ et} \quad (6-20)$$

$$\Gamma = S|\mathbf{u}_p|^2 + \frac{1}{2}[\mathbf{u}_s \mathbf{u}_c \mathbf{u}_p^* e^{-2is\zeta} + \mathbf{u}_s^* \mathbf{u}_c^* \mathbf{u}_p e^{2is\zeta}]. \quad (6-21)$$

Les deux premières correspondent aux relations de Manley-Rowe [165] et évoquent la conservation du flux de photons du complémentaire m_c et du signal m_s c'est-à-dire qu'un photon de pompe se divise en un photon signal et un photon complémentaire. Γ correspond à la densité volumique d'énergie des trois ondes dans le cristal non-linéaire.

Pour calculer le gain, il est nécessaire de définir les conditions initiales de l'amplification paramétrique. Tout d'abord, l'onde complémentaire est initialement nulle et l'intensité de l'onde du signal est très petite devant celle de l'onde de pompe. De plus, afin de simplifier encore le système, on considère que l'onde de pompe demeure constante en intensité au cours de l'interaction. Le système 6-14 se réduit alors en une forme beaucoup plus simple :

$$\begin{cases} \frac{\partial \Phi_s}{\partial z} = q \Phi_c^* e^{i\Delta kz} \\ \frac{\partial \Phi_c}{\partial z} = q \Phi_s e^{i\Delta kz} \end{cases}, \quad (6-22)$$

où q est le coefficient de couplage et est définie par:

$$q = d_{eff} \sqrt{\frac{2\omega_s \omega_s}{n_s n_c n_p \epsilon_0 c^3}} I_p. \quad (6-23)$$

Si on se place dans le référentiel tournant défini par :

$$\mathbf{Z}_s = \Phi_s e^{i\delta z}, \quad (6-24)$$

$$\mathbf{Z}_c = \Phi_c e^{i\delta z}, \quad (6-25)$$

où on a $\delta = -\frac{\Delta k}{2}$.

Le système 6-22 est linéaire en Φ_s, Φ_c^* : on peut donc le réécrire sous forme matricielle :

$$\frac{\partial}{\partial z} \begin{pmatrix} \mathbf{Z}_s \\ \mathbf{Z}_c^* \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} i\delta & -iq \\ iq^* & -i\delta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mathbf{Z}_s \\ \mathbf{Z}_c^* \end{pmatrix}, \quad (6-26)$$

ce qui permet d'obtenir les solutions :

$$\begin{pmatrix} Z_s \\ Z_c^* \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \cosh(\gamma z) + i \frac{\delta}{\gamma} \sinh(\gamma z) & -i \frac{q}{\gamma} \sinh(\gamma z) \\ i \frac{q}{\gamma} \sinh(\gamma z) & \cosh(\gamma z) - i \frac{q}{\gamma} \sinh(\gamma z) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} Z_s(0) \\ Z_c^*(0) \end{pmatrix}, \quad (6-27)$$

où γ est le gain paramétrique et est égal à :

$$\gamma = \sqrt{|q|^2 - |\delta|^2}. \quad (6-28)$$

Comme de plus, dans le cas de l'amplification paramétrique $u_c(0) = Z_c(0) = 0$, l'expression de l'onde signal devient :

$$\Phi_s(z) = \Phi_s(0) \left[\cosh(\gamma z) + i \frac{\delta}{\gamma} \sinh(\gamma z) \right] e^{-i\delta z}, \quad (6-29)$$

ce qui donne l'expression suivante si on considère l'éclairement :

$$I_s(z) = I_s(0) \left[1 + \frac{q^2}{\gamma^2} \sinh^2(\gamma z) \right]. \quad (6-30)$$

Cela nous permet de définir un gain paramétrique ne dépendant que de l'intensité de pompe et des propriétés du cristal :

$$G = 1 + \frac{q^2}{\gamma^2} \sinh^2(\gamma z). \quad (6-31)$$

On peut maintenant reformuler le coefficient de couplage q tel que :

$$q = \frac{1}{L_{NL}} = 4\pi d_{eff} \sqrt{\frac{I_p(0)}{2\varepsilon_0 n_s n_c n_p c \lambda_s \lambda_c}}, \quad (6-32)$$

Et on peut évaluer la phase spectrale en fonction de la longueur du cristal :

$$\phi(L) = \frac{\Delta k}{2} \left(L - \frac{1}{\gamma} \right). \quad (6-33)$$

Accord de phase par biréfringence

L'accord de phase par biréfringence utilisé pour l'OPA est le principe le plus fréquemment utilisé compte tenu de la large disponibilité de cristaux pouvant être de grandes dimensions et d'excellentes qualités optiques. pour rester dans le domaine

d'accord de phase il faut des fluctuations d'indices Δn très faibles : $2|\Delta k| < \Delta k_{1/2}$. $\Delta k_{1/2}$ correspond à la largeur à mi-hauteur de la bande de gain:

$$|\Delta n| = \frac{1}{4\pi} \Delta k_{1/2} \lambda. \quad (6-34)$$

Cela équivaut à $\Delta n < 3.10^{-5}$ pour des gains paramétrique de quelques cm^{-1} , une longueur d'onde de l'ordre du μm et un cristal de 1 cm d'épaisseur. Cette précision peut toutefois être compensée par le suivi de l'accord de phase par ajustement de l'angle du cristal ou encore en modifiant sa température.

Je vais désormais détailler plus précisément le cas de la géométrie colinéaire puisque c'est cette géométrie qui a été choisie pour le développement de l'OPA compte tenu de la plus grande tolérance spectrale qu'elle autorise, *i.e.* la plage de fréquences spectrales pour lesquelles l'accord de phase reste possible [174]. Pour des paramètres initiaux de température, de type d'accord de phase et de longueur d'onde de pompe donnés, le désaccord de phase ne dépend que de la pulsation du signal et de l'angle d'accord de phase θ . Cette tolérance peut être calculée en étudiant la variation du désaccord de phase autour du point d'accord de phase et au voisinage de la pulsation signal ω_s^0 à laquelle elle correspond :

$$\Delta k(\omega_s) = \Delta k(\omega_s^0) + \left(\frac{\partial \Delta k(\omega_s)}{\partial \omega_s} \right)_{\omega_s=\omega_s^0} (\omega_s - \omega_s^0) + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 \Delta k(\omega_s)}{\partial \omega_s^2} \right)_{\omega_s=\omega_s^0} (\omega_s - \omega_s^0)^2. \quad (6-35)$$

Cette expression se réécrit comme suit en tenant compte de la condition de conservation de l'énergie :

$$\Delta k(\omega_s) = \left(\frac{\partial k_c - \partial k_s}{\partial \omega} \right) (\omega_s - \omega_s^0) - \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 k_c + \partial^2 k_s}{\partial \omega^2} \right) (\omega_s - \omega_s^0). \quad (6-36)$$

Le premier coefficient de l'équation 6-36 correspond à la différence de l'inverse des vitesses de groupe des ondes correspondantes :

$$\left(\frac{\partial k_c - \partial k_s}{\partial \omega} \right) = \frac{1}{v_{g,c}} - \frac{1}{v_{g,s}} ; \quad (6-37)$$

il est donc nul pour des vitesses de groupe égales comme par exemple nécessairement à la dégénérescence où $\omega_s = \omega_c$.

Le second coefficient est lui égal à la somme des dispersions :

$$\frac{\partial^2 k_c + \partial^2 k_s}{\partial \omega^2} = D_c + D_s. \quad (6-38)$$

Pour la plupart des matériaux cette dispersion est positive dans la région spectrale qui nous intéresse. Par conséquent, pour des vitesses de groupes du signal et du complémentaire différentes, la largeur de bande de gain des accords de phases colinéaire est limitée par la dispersion.

L'acceptance spectrale d'un OPA est donc donnée au premier ordre par

$$\Delta \omega_s^{(1)} = \frac{\frac{\Delta k_1}{2}}{2 \left| \frac{1}{v_{g,c}} - \frac{1}{v_{g,s}} \right|}. \quad (6-39)$$

Si les vitesses de groupe du signal et du complémentaire sont identiques, ce terme disparaît. Le désaccord de phase est alors à un extremum local ω_s^0 . Le signe de désaccord de phase est donc constant localement de part et d'autre de ω_s^0 . Cela correspond à un accord de phase large bande appelé accord de phase non critique ou encore accord de phase d'ordre 2.

Quasi-accord de phase par retournement de domaine

Cette méthode étant moins répandue que celle par biréfringence, je commencerai cette section par une description des cristaux permettant de répondre à de telles conditions. Le plus connu est le niobate de lithium (LiNbO_3) souvent dopé à l'oxyde de magnésium, pour augmenter son seuil de claquage. C'est ce cristal qui a été choisi pour la source OPG. Il est polarisé périodiquement (retournement de domaine) et est généralement noté sous l'appellation PPMLN⁴³

- Ces cristaux sont ferroélectriques. Cette caractéristique est nécessaire pour pouvoir effectuer l'inversion périodique du signe du coefficient non-linéaire du cristal le plus élevé.
- Ils sont biréfringents.

⁴³ Cristal de lithium niobate dopé à l'oxyde de magnésium et polarisé périodiquement.

- Leur d_{eff} est très élevé. Par exemple celui du PPMLN est de 17 pm/V. Il est environ 5 fois plus élevé que pour une utilisation du lithium niobate dans une configuration par accord de phase par biréfringence, et 8,5 fois plus élevé que celui du BBO
- Ils sont électro-optiques et leur indice peut donc être modifié grâce à l'application d'un champ électrique extérieur.
- Ils ont une très large bande de transparence (0,35 μm à 3,6 μm pour le PPMLN excepté une bande d'absorption étroite autour de 2800 nm)

Le LiNbO_3 a une symétrie rhomboédrique (classe 3m, uniaxial négatif). La croissance des cristaux se fait dans sa phase para-électrique, au-delà de 1200°C. Les ions de lithium sont alors situés dans les plans d'oxygène et ceux de niobium sont intercalés entre ces plans. En refroidissant, les ions s'écartent de leur position initiale et sortent des plans des atomes d'oxygènes, ce qui induit une polarisation électrique spontanée locale. Cela se fait à grande échelle et par conséquent un ou plusieurs domaines de polarisation apparaissent spontanément suivant deux directions de polarisation opposées. C'est cette orientation qui donne le signe du coefficient non-linéaire. À température ambiante, la direction de polarisation peut être retournée en appliquant un champ électrique suivant la direction de polarisation du cristal afin de déplacer les ions et d'effectuer un retournement de domaine. Pour passer d'un état de polarisation à l'autre en conservant une géométrie stable, le champ appliqué doit être supérieur à un champ minimal dit champ coercitif d'environ 20 kV/m dans notre cas. Par conséquent, en plaçant un masque diélectrique (isolant) sur une face du cristal on peut choisir les zones d'inversion de polarisation pour créer un cristal polarisé périodiquement dans la direction orthogonale à la direction du champ électrique appliqué [175].

Pour définir la théorie de quasi accord de phase par retournement de domaine, on se place dans le cas de l'approximation paramétrique, c'est-à-dire qu'on considère que la pompe n'est pas dépeuplée. Pour relier ces résultats au modèle d'accord de phase classique, on peut considérer ces cristaux comme étant un assemblage successif de cristaux biréfringents. Comme nous l'avons vu en début de section, l'avantage principal de cette méthode réside dans le fait qu'elle donne des degrés de liberté supplémentaires et autorise donc l'utilisation des coefficients non-linéaires les plus élevés.

Nous reprenons le système 6-15, connu sous le nom Zakharov-Shabat [176] ou en optique comme le modèle des modes couplés [177]:

$$\frac{\partial}{\partial z} \begin{pmatrix} z_s \\ z_c^* \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} i\delta & -iq \\ iq^* & -i\delta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} z_s \\ z_c^* \end{pmatrix}. \quad (6-40)$$

Dans le cas de l'approximation paramétrique, dont les conditions initiales sont

$$\begin{cases} z_s = z_s(0) \\ z_c^* = 0 \end{cases}, \quad (6-41)$$

on retrouve un système très répandu en optique. Il est utilisé pour des applications tels que le dépôt de couches minces [178], le guidage d'ondes [179], les réseaux de Bragg [180], l'effet Brillouin ou encore l'effet Kerr [176]. En effet, il permet de décrire les transferts d'énergie entre deux ondes co-propagatives ou contre-propagatives.

On considère donc ici la succession de N domaines retournés périodiquement alternativement, c'est-à-dire que le coefficient non-linéaire passe de $+d_0$ à $-d_0$. On note L_n et z_n la longueur et la position de début du $n^{\text{ème}}$ domaine et $\{u_n^\pm, v_n^\pm\}$ les amplitudes réduites des champs du signal et du complémentaire, + et - désignant les amplitudes de part et d'autre de l'interface en z_n .

En prenant en compte l'inversion du signe du coefficient non-linéaire à chaque interface, le coefficient de couplage $q(z)$ peut désormais s'écrire :

$$q(z) = q_0 e^{inn\pi} \text{ pour } z_n \leq z < z_{n+1}. \quad (6-42)$$

Puis pour s'affranchir de la dépendance de q avec n , on réalise un nouveau changement de variable :

$$U(z) = u(z) e^{in\frac{\pi}{2}} \text{ pour } z_n \leq z < z_{n+1}, \quad (6-43)$$

$$V(z) = v(z) e^{-in\frac{\pi}{2}} \text{ pour } z_n \leq z < z_{n+1}, \quad (6-44)$$

on peut alors effectivement réécrire le système 6-40 sans faire apparaître explicitement la variable n :

$$\frac{\partial}{\partial z} \begin{pmatrix} U \\ V \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} i\delta & -iq \\ iq^* & -i\delta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} z_s \\ z_c^* \end{pmatrix}. \quad (6-45)$$

Si maintenant on intègre ce système de Z_n^+ à Z_{n+1}^- , on trouve comparativement aux cristaux classiques :

$$\begin{pmatrix} U_{n+1}^- \\ V_{n+1}^- \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \cos(\gamma L_n) + i \frac{\delta}{\gamma} \sin(\gamma L_n) & -i \frac{q_0}{\gamma} \sin(\gamma L_n) \\ i \frac{q_0}{\gamma} \sinh(\gamma L_n) & \cos(\gamma L_n) - i \frac{q}{\gamma} \sin(\gamma L_n) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} U_n^+ \\ V_n^+ \end{pmatrix}, \quad (6-46)$$

$$\text{avec } \gamma = \sqrt{\delta^2 - q_0^2}. \quad (6-47)$$

De plus, dans les conditions où il ne peut y avoir d'accord de phase, on peut faire l'approximation que $\delta^2 \gg q_0$. Dans ce cas γ est réel et les solutions du système 6-45 sont des fonctions périodiques, de période $\frac{2\pi}{\gamma} \cong \frac{4\pi}{\Delta k(\omega)}$.

Pour définir l'autre couple $\begin{pmatrix} U_{n+1}^+ \\ V_{n+1}^+ \end{pmatrix}$, il suffit de prendre en compte le passage de l'interface, ce qui correspond à multiplier 6-46 par la matrice $\begin{pmatrix} -i & 0 \\ 0 & i \end{pmatrix}$. Le changement de signe à l'interface se traduit donc par un déphasage au passage de cette interface.

$$\begin{pmatrix} U_{n+1}^+ \\ V_{n+1}^+ \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -i \cos(\gamma L_n) + \frac{\delta}{\gamma} \sin(\gamma L_n) & -\frac{q_0}{\gamma} \sin(\gamma L_n) \\ -\frac{q_0}{\gamma} \sin(\gamma L_n) & i \cos(\gamma L_n) - \frac{q}{\gamma} \sin(\gamma L_n) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} U_n^+ \\ V_n^+ \end{pmatrix}. \quad (6-48)$$

On appelle cette matrice *matrice de transfert* que l'on note T_n . Si de plus toutes les périodes sont de mêmes longueurs, la matrice de transfert des N domaines cumulés est tout simplement donnée par T^N .

Cette matrice de transfert T est diagonalisable, ce qui va nous permettre d'identifier précisément les conditions d'amplification par quasi accord de phase. On pose :

$$T = PDP^{-1}, \quad (6-49)$$

$$D = \begin{pmatrix} \frac{\delta}{\gamma} \sin(\gamma L_0) - \sqrt{\left(\frac{\delta}{\gamma}\right)^2 \sin^2(\gamma L_0) - 1} & 0 \\ 0 & \frac{\delta}{\gamma} \sin(\gamma L_0) + \sqrt{\left(\frac{\delta}{\gamma}\right)^2 \sin^2(\gamma L_0) - 1} \end{pmatrix},$$

$$P = \begin{pmatrix} i \cos(\gamma L_0) + \sqrt{\left(\frac{\delta}{\gamma}\right)^2 \sin^2(\gamma L_0) - 1} & i \cos(\gamma L_0) - \sqrt{\left(\frac{\delta}{\gamma}\right)^2 \sin^2(\gamma L_0) - 1} \\ \frac{q_0}{\gamma} \sin(\gamma L_n) & \frac{q_0}{\gamma} \sin(\gamma L_n) \end{pmatrix}.$$

On a donc finalement pour N périodes :

$$T = PD^N P^{-1}. \quad (6-50)$$

Toutes les informations importantes pour la physique du phénomène sont contenues dans la matrice D . Si les coefficients diagonaux sont réels, on obtiendra une croissance exponentielle des amplitudes, ce qui correspond à une condition de quasi-accord de phase vérifiée. Par contre, s'ils sont imaginaires, les amplitudes oscilleront autour de faibles valeurs. On a donc un quasi accord de phase dès lors que

$$\frac{\delta}{\gamma} \sin(\gamma L_0) > 1, \quad (6-51)$$

soit

$$L_0 \epsilon \frac{1}{\gamma} \left[\arcsin \left(\frac{\gamma}{\delta} \right) + k \frac{\pi}{\gamma}, \pi - \arcsin \left(\frac{\gamma}{\delta} \right) + k \frac{\pi}{\gamma} \right] \text{ avec } k \in \mathbb{Z}. \quad (6-52)$$

Comme $\delta^2 \gg q_0$, nous avons :

$$L_0 \epsilon \frac{1}{\gamma} \left[\frac{\pi}{2\delta} - \frac{q_0}{\delta^2} + k \frac{\pi}{\delta}, \frac{\pi}{2\delta} + \frac{q_0}{\delta^2} + k \frac{\pi}{\delta} \right] \text{ avec } k \in \mathbb{Z}. \quad (6-53)$$

Comme de plus la longueur de cohérence vérifie $\Lambda_c = \frac{\pi}{2\delta} = \frac{\pi}{\Delta k}$, on retrouve que les conditions de quasi-accord de phase sont satisfaites si les épaisseurs des périodes sont proches d'un multiple impair de longueurs de cohérence et les écarts d'épaisseur acceptables sont de l'ordre de $\frac{4q_0}{\pi\delta} \Lambda_c$.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 A. EINSTEIN, "ON THE QUANTUM THEORY OF RADIATION," *PHYS. Z.* 1917
- 2 T.H. MAIMAN, "STIMULATED OPTICAL RADIATION IN RUBY", *NATURE*, **187**, 493-494, 1960
- 3 V. NUZZO, "MECHANISMS OF FEMTOSECOND LASER-CORNEA INTERACTION IN KERATOPLASTY", THÈSE DE DOCTORAT DE L'ÉCOLE POLYTECHNIQUE, 2008
- 4 MORIN F, DRUON F, HANNA M AND GEORGES P 2009 *OPT. LETT.* **34** 1991-3
- 5 K PLAMANN, F APTEL, C L ARNOLD, A COURJAUD, C CROTTI, F DELOISON, F DRUON, P GEORGES, M HANNA, J-M LEGEAIS, F MORIN, É MOTTAY, V NUZZO, D A PEYROT, AND M SAVOLDELLI "ULTRASHORT PULSE LASER SURGERY OF THE CORNEA AND THE SCLERA", *J. OPT.* **12** 084002, 2010
- 6 WWW.SERVIER.FR
- 7 WWW.FR.WIKIPEDIA.ORG/WIKI/OEIL_HUMAIN
- 8 J. H. KRACHMER, M. J. MANNIS, E. J. HOLLAND, "CORNEA," SECOND EDITION, CHAPITRE 1, ELSEVIER MOSBY, 2005
- 9 A. VOGEL AND V. VENUGOPALAN, "MECHANISMS OF PULSED LASER ABLATION OF BIOLOGICAL TISSUES," *CHEM. REV.*, **103** 141-49, 2003
- 10 G. MAATZ, A. HEISTERKAMP, H. LUBATSCHOWSKI, S. BARCIKOWSKI, C. FALLNICH, H. WELLING, AND ERTMER. "CHEMICAL AND PHYSICAL SIDE EFFECTS AT APPLICATION OF ULTRASHORT LASER PULSES FOR INTRASTROMAL REFRACTIVE SURGERY," *J. OPT. A: PURE APPL. OPT.*, 2:59-64, 2000.
- 11 M. STRUPLER, A.-M. PENNA, M. HERNEST, P.-L. THARAUX, J.-L. MARTIN, E. BEAUREPAIRE, AND M.-C. SCHANNEN-KLEIN. "SECOND HARMONIC IMAGING AND SCORING OF COLLAGEN IN FIBROTIC TISSUES," *OPTICS EXPRESS*, 145:4054-65, 2007.
- 12 R. A. FARRELL AND R. L. MCCALLY. CORNEAL TRANSPARENCY, CHAPTER 57 IN "PRINCIPLES AND PRACTICE OF OPHTHALMOLOGY," 2ND ED, PAGES 629-44. PHILADELPHIA, WB SAUNDERS, 2000.
- 13 J. CHIRON, "UTILISATION DU LASER EN OPHTALMOLOGIE VÉTÉRINAIRE : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE," THÈSE DE DOCTORAT DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL, 2005
- 14 P MAIER AND T REINHARD, "KERATOPLASTY: LAMINATE OR PENETRATE," *OPHTHALMOLOGE* **106**, 6, 563-9, 2009
- 15 P MAIER AND T REINHARD, "KERATOPLASTY: LAMINATE OR PENETRATE," *OPHTHALMOLOGE* **106**, 7, 649-62, 2009
- 16 A. P. O'NEILL AND M. J. MANNIS, "SUMMARY OF CORNEAL TRANSPLANT ACTIVITY: EYE BANK ASSOCIATION OF AMERICA," *CORNEA* **21** 1-3, 2002
- 17 C. NENNO AND R. JR. ABEL, "CORNEA TRANSPLANTATION STATISTICS IN THE UNITED STATES," *REFRACT. CORNEAL SURG.* **7** 467-8, 1991
- 18 J. MAAS-REIJS, E. PELS AND A. B. TULLO, "EYE BANKING IN EUROPE 1991-1995," *ACTA. OPHTHALMOL. SCAND.* **75** 541-3, 1997
- 19 THE COLLABORATIVE CORNEAL TRANSPLANTATION STUDIES RESEARCH GROUP, *ARCH. OPHTHALMOL.* **110** 1392-403, 1992
- 20 J. Y. NIEDERKORN, "THE IMMUNE PRIVILEGE OF CORNEAL GRAFTS," *J. LEUKOC. BIOL.* **74** 167-71, 2003
- 21 F. W. JR. PRICE, W. E. WHITSON, K. S. COLLINS AND R. G. MARKS "FIVE-YEAR CORNEAL GRAFT SURVIVAL: A LARGE, SINGLE-CENTER PATIENT COHORT," *ARCH. OPHTHALMOL.* **111** 799-805, 1993

- 22 J. B. RANDLEMAN, C. D. SONG AND D. A. PALAY, "INDICATIONS FOR OUTCOMES OF PENETRATING KERATOPLASTY PERFORMED BY RESIDENT SURGEONS," AM. J. OPHTHALMOL. **136** 68-75, 2003
- 23 D. T. TAN, P. JANARDHANAN, H. ZHOU, Y. H. CHAN, H. M. HTOON, L. P. ANG AND L. S. LIM "PENETRATING KERATOPLASTY IN ASIAN EYES: THE SINGAPORE CORNEAL TRANSPLANT STUDY," THE SINGAPORE CORNEAL TRANSPLANT STUDY OPHTHALMOLOGY **115** 975-82, 2008
- 24 THE AUSTRALIAN CORNEAL GRAFT REGISTRY AUST. N. Z. J. OPHTHALMOL. **21** 1-48, 1993
- 25 M. VANATHI, N. SHARMA, R. SINHA, R. TANDON, J. S. TITIYAL AND R. B. VAJPAYEE, "INDICATIONS AND OUTCOME OF REPEAT PENETRATING KERATOPLASTY IN INDIA," BMC OPHTHALMOL. **2**, 5-26, 2005
- 26 R. N. WEINREB AND P. T. KHAW, "PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA," LANCET. **363** 1711-2, 2004
- 27 M. C. LESKE, A. HEIJL, M. HUSSEIN, B. BENGTTSSON, L. HYMAN AND E. KOMAROFF, "FACTORS FOR GLAUCOMA PROGRESSION AND THE EFFECT OF TREATMENT: THE EARLY MANIFEST GLAUCOMA TRIAL," ARCH. OPHTHALMOL. **121**, 48-56, 2003
- 28 M. A. KASS, D. K. HEUER, E. J. HIGGINBOTHAM, C. A. JOHNSON, J. L. KELTNER, J. P. MILLER, R. K. PARRISH 2ND, M. R. WILSON AND M. O. GORDON, "THE OCULAR HYPERTENSION TREATMENT STUDY: A RANDOMIZED TRIAL DETERMINES THAT TOPICAL OCULAR HYPOTENSIVE MEDICATION DELAYS OR PREVENTS THE ONSET OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA," ARCH. OPHTHALMOL. **120** 701-13, 2002
- 29 THE AGIS INVESTIGATORS AM. J. OPHTALMOL. **130** 429-40, 2000
- 30 H. A. QUIGLEY, "NUMBER OF PEOPLE WITH GLAUCOMA WORLWILDE," BR. J. OPHTHALMOL. **80** 389-93, 1996
- 31 N. CONGDON, B. O'COLMAIN, C. C. KLAVER, "CAUSES AND PREVALENCE OF VISUAL IMPAIRMENT AMONG ADULTS IN THE UNITED STATES," ARCH. OPHTHALMOL. **122** 477-85, 2004
- 32 AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY, PREFERRED PRACTICE PATTERNS COMMITTEE, GLAUCOMA PANEL. PREFERRED PRACTICE PATTERN: PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA. SAN FRANCISCO, CALIF 2000 AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY
- 33 TERMINOLOGY AND GUIDELINES FOR GLAUCOMA (EUROPEAN GUIDELINES) 2ND ED. 2003 ED DOGMA, SAVONA, ITALY
- 34 ROULAND J F, LE PEN C, BENHADDI H, PIRIOU E, LILLIU H AND KENIGSBURG P A 2005 EUR. J. OPHTHALMOL. **15** 562-80
- 35 PROGRAMME DE MÉDICALISATION DES SYSTÈMES D'INFORMATION. BASE NATIONALE 2005
<[HTTP://STATS.ATIH.SANTE.FR/CGI-BIN/.HTML](http://stats.atih.sante.fr/cgi-bin/.html)> (ACCESSED JULY 20, 2009)
- 36 GLAUCOMA RESEARCH FOUNDATION <[HTTP://WWW.GLAUCOMA.COM/FS-GLAUCOMA-STATS.HTML](http://www.glaucoma.com/fs-glaucoma-stats.html)> (ACCESSED JULY 20, 2009)
- 37 VISION MONDAY <[HTTP://WWW.OPTISTOCK.COM/OVERVIEW.HTM](http://www.optistock.com/overview.htm)> (ACCESSED JULY 20, 2009)
- 38 PATEL S V, HODGE D O AND BOURNE W M 2005 AM. J. OPHTHALMOL. **139** 311-9
- 39 ING J J, ING H H, NELSON L R, HODGE D O AND BOURNE W M 1998 OPHTHALMOLOGY. **105** 1855-65
- 40 AIELLO L P, JAVITT J C AND CANNER J K 1993 ARCH. OPHTHALMOL. **111** 509-13
- 41 TABAN M, BEHRENS A, NEWCOMB R L, NOBE M Y AND McDONNELL P J 2005 ARCH. OPHTHALMOL. **123** 605-9
- 42 WILSON S E AND KAUFMAN H E 1990 SURV.OPHTHALMOL. **34** 325-56
- 43 WIFFEN S J, MAGUIRE L J AND BOURNE W M 1997 CORNEA **16** 306-13
- 44 JAVADI M A, MOTLAGH B F, JAFARINASAB M R, RABBANIKHAH Z, ANISSIAN A, SOURI H AND YAZDANI S 2005 CORNEA **24** 941-46

- 45 FROST N A, WU J, LAI T F AND COSTER D J 2006 OPTHALMOLOGY. 113 942-49
- 46 CHAU G K, DILLY S A, SHEARD C E AND ROSTRON C K 1992 BR. J. OPTHALMOL. 76 646-50
- 47 SOONG H K, KATZ D G, FARJO A A, SUGAR A AND MEYER R F 1999 CORNEA. 18 249-56
- 48 MELLES G R, EGGINK F A, LANDER F, PELS E, RIETVELD F J, BEEKHUIS W H AND BINDER P S 2006 CORNEA.17 618-26
- 49 GOROVOY M S 2006 CORNEA 25 886-9
- 50 PRICE M O AND PRICE F W JR 2006 OPTHALMOLOGY. 113 1936-42
- 51 LOESEL F H, KURTZ R M, HORVATH C, SAYEGH S, MOUROU G, BILLE J F AND JUHASZ T 1999 PROC. SPIE 3564 86-93
- 52 SLETTEN K R, YEN K G, SAYEGH S, LOESEL F, ECKHOFF C, HORVATH C, MEUNIER M, JUHASZ T AND KURTZ R M, 1999 OPTHALMIC SURGERY AND LASERS 30 (9) 742-9
- 53 JUHASZ T, LOESEL F H AND HORVATH C 1999 IEEE J. SEL. TOP. QUANTUM ELECTRON. 5 902-10
- 54 TOUBOUL D, SALIN F, MORTEMOUSQUE B, CHABASSIER P, MOTTAY É, LÉGER F, COLIN J 2005 J. FR. OPHTALMOL. 28 (5) 535-46
- 55 SARAYBA M A, JUHASZ T, CHUCK R S, IGNACIO T S, NGUYEN T B, SWEET P AND KURTZ R M 2005 CORNEA 24 328-33
- 56 MELTENDORF C, SCHROETER J, BUG R, KOHNEN T AND DELLER T 2006 CORNEA. 25 1090-2
- 57 CHENG Y Y Y, HENDRIKSE F, PELS E, WIJDH R J, VAN CLEYNENBREUGEL H, EGGINK C A, VAN RIJ G, RIJNEVELD W J AND NUIJTS R M M A 2008 ARCH. OPHTALMOL. 126 (10) 1351-6
- 58 SEITZ B, BRUNNER H, VIESTENZ A, HOFMANN-RUMMELT C, SCHLÖTZER-SCHREHARDT U, NAUMANN G O AND LANGENBUCHER A 2005 AM. J. OPTHALMOL. 139 941-4
- 59 SOONG H K, MIAN S, ABBASI O AND JUHASZ T 2004 OPTHALMOLOGY. 112 44-9
- 60 HOFFART L, PROUST H, MATONTI F, RIDINGS B AND CONRATH J AM. J. OPTHALMOL 2008 146 (1) 50-5
- 61 WINKLER VON MOHRENFELS C, KHORAMNIA R, MAIER MM, PFÄFFL W, HÖLZLWIMMER G, LOHMANN C 2009 KLIN. MONBL. AUGENHEILKD. 226 (6) 470-4
- 62 LUBATSCHOWSKI H 2008 J. REFRACT. SURG. 24 102-7
- 63 RATKAY-TRAUB I, FERINCZ I E, JUHASZ T, KURTZ R M AND KRUEGER R R 2003 J. REFRACT. SURG. 19 94-103
- 64 HOLZER M P, RABSILBER T M AND AUFFARTH G U 2006 INVEST. OPTHALMOL. VIS SCI. 47 2828-31
- 65 BLUM M, KUNERT K, GILLE A AND SEKUNDO W 2009 J. REFRACT. SURG. 25 350-6
- 66 BURATTO L AND BÖHM E 2007 AM. J. OPTHALMOL. 144 (6) 975-6
- 67 SIKDER S AND SNYDER R W 2006 CORNEA. 25 416-22
- 68 NUZZO V, APTEL F, SAVOLDELLI M, PLAMANN K, PEYROT D, DELOISON F, DONATE D AND LEGEAIS J M 2009 CORNEA. 28 (8) 908-13
- 69 PRICE F W AND PRICE M O 2008 AM. J. OPTHALMOL.145 210-14
- 70 D. W. Leonard and K. M. Meek. Refractive indices of the collagen fibrils and extrafibrillar material of the corneal stroma. Biophysical Journal, 72:1382-87, 1997.
- 71 D. M. Maurice. The structure and transparency of the corneal stroma. J. Physiol.,136:263-86, 1957.
- 72 L. J. Bour. Visual optics and instrumentation, chapter : Polarized light and the eye, pages 310-325. Boca Raton, FL: CRC Press, 1991.

- 73 Farrell R A and McCally R L Principles and Practice of Ophthalmology 2nd ed D M Albert, F A Jakobiec, (Philadelphia, W B Saunders) 2000:629-44
- 74 Pels L. Organ culture: the method of choice for preservation of human donor corneas. *Br J Ophthalmol.* 1997 Jul;81(7):523-5.
- 75 EEBA European Eye Bank Directory. 15th ed. Amsterdam, The Netherlands; 2007.
- 76 Pels E, Beele H, Claerhout I. Eye bank issues: II. Preservation techniques: warm versus cold storage. *Int Ophthalmol.* 2008 Jun;28(3):155-63.
- 77 Jeng BH. Preserving the cornea: corneal storage media. *Curr Opin Ophthalmol.* 2006 Aug;17(4):332-7.
- 78 Wolf AH, Welge-Lüssen UC, Priglinger S, Kook D, Grueterich M, Hartmann K, Kampik A, Neubauer AS. Optimizing the deswelling process of organ-cultured corneas. *Cornea.* 2009 Jun;28(5):524-9.
- 79 T. Feuk, On the transparency of the stroma in the mammalian cornea. *IEEE Trans. bio-med. Eng. BME* 1970; 17:186-190.
- 80 Gisselberg M., Clarck J.I., Vaezy S., and Osgood T.B. A quantitative evaluation of Fourier components in transparent and opaque calf cornea. *The American Journal of Anatomy* 1991: 191(4): 408-418.
- 81 Goldman J.N., Benedek G.B., Dohlman C.H., and Kravitt B., Structural Alterations Affecting Transparency in Swollen Human Corneas. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1968 7: 501-519.
- 82 Plamann K, Aptel F, Arnold C L, Courjaud A, Crotti C, Deloison F, Druon F, Georges P, Hanna M, Legeais J-M, Morin F, Mottay É, Nuzzo V, Peyrot D A, and Savoldelli M. Ultrashort pulse laser surgery of the cornea and the sclera. *Journal of Optics.* 2010, in press.
- 83 Maurice D M. The transparency of the corneal stroma. *Vision Res.* 1970; 10:107-8
- 84 Hart RW, Farrell RA, Light Scattering in the Cornea, *JOSA* 59(6);1969:766-74
- 85 Feuk T. On the transparency of the stroma in the mammalian cornea. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1970; 17(3): 186-90.
- 86 Feuk T. The wavelength dependence of scattered light intensity in rabbit corneas. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1971; 18(2): 92-6.
- 87 Farrell R A, McCally R L, Tatham P E. Wavelength dependencies of light scattering in normal and cold swollen rabbit corneas and their structural implications. *Physiol.* 1973; 233: 589-612.
- 88 Farrell R A, McCally R L. On corneal transparency and its loss with swelling. *J. Opt. Soc. Am.* 1976; 66(4): 342-5.
- 89] Hart R W, Farrell R A. On the theory of the spatial organization of macromolecules in connective tissue. *Bull Math Biophys.* 1969; 31:727-60.
- 90 Hart R W, Farrell R. Structural theory of the swelling pressure of corneal stroma in saline. *Bull Math Biophys.* 1971; 33:165-86.
- 91 Benedek G. Theory of transparency of the eye. *Appl Opt.* 1971; 10:459-73.
- 92 Cox J L, Farrell R A, Hart R W, Langham M E. The transparency of the mammalian cornea. *J Physiol.* 1970; 210:601-16.

- 93 Smith TB. Modeling corneal Transparency. Am. J. Phys. 75 (7); 2007:588-96
- 94 van de Hulst HC Light Scattering by Small Particles, New Dover Publications Inc., New York 1984
- 95 Kokhanovsky AA. Light Scattering Media Optics. 3rd ed. Springer, Berlin, Heidelberg 2004
- 96 Bohren CF, Huffman D. Absorption and Scattering of Light by Small Particles. Wiley VCH, Weinheim, Berlin, Darmstadt und Zürich, 2004
- 97 Jester VJ, Petroll WM, Cavanagh HD, Prog. Ret. Eye Res. 1999; 18(3):311-56
- 98 G.B. Benedek, "Theory of transparency of the eye.", Apple. Optics 10: 459-473 (1971).
- 99 E.A. Boettner, and J.R. Wolter, "Transmission of the ocular media", IOVS 1:776-783 (1962).
- 100 Donald A. Peyrot, Florent Aptel, Caroline Crotti, Florent Deloison, Simon Lemaire, Tal Marciano, Stéphane Bancelin, Fatima Alahyane, Laura Kowalczyk, Michèle Savoldelli, Jean-Marc Legeais and Karsten Plamann, Volume scattering and light penetration depth in healthy and oedematous human corneas, Journal of refractive surgery, accepted for publication
- 101 R. L. McCally, D. E. Freund, A. Zorn, J. Bonney-Ray, R. Grebe, Z. de la CRUZ, and W. R. Green, "*Light-scattering and ultrastructure of healed penetrating corneal wounds,*" IOVS, **48**, 1, 157-165, 2007
- 102 STRICKLAND D AND MOUROU G 1985 OPT. COMMUN. 56 (3) 219-21
- 103 KARTNER F X AND KELLER U 1995 OPT. LETT. 20 16-18
- 104 ARNOLD C L, HEISTERKAMP A, ERTMER W AND LUBATSCHOWSKI H 2007 OPT. EXPRESS 15 10303-17
- 105 SALIN F, COURJAUD A, MALECK-RASSOUL R, DEGUIL N AND HÖNNINGER C 2002 ADVANCES IN SOLID STATE LASERS
- 106 M. FERMAN AND L. MARSHALL, EDs., TRENDS IN OPTICS AND PHOTONICS SERIES 68 (OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, 2002) PAPER MC2
- 107 CHO S H, BOUMA B E, IPPEN E P AND FUJIMOTO J G 1999 OPT. LETT. 24 417-19
- 108 HÖFER S, LIEM A, LIMPET J, ZELLMER H, TÜNNERMANN A, UNGER S, JETSCHKE S, MÜLLER H R AND FREITAG 2001 OPT. LETT. 26 1326-8
- 109 WWW.RP-PHOTONICS.COM
- 110 RÖSER F, ROTHHARDT J, ORTAC B, LIEM A, SCHMIDT O, SCHREIBER T, LIMPET J, AND TÜNNERMANN A 2005 OPT. LETT. 30 2754-6
- 111 RÖSER F, EIDAM T, ROTHHARDT J, SCHMIDT O, SCHIMPF D N, LIMPET J, AND TÜNNERMANN A, 2007 OPT. LETT. 32 3495-7
- 112 ZAOUTER Y, BOULLET J, MOTTAY E AND CORMIER E 2008 OPT. LETT. 33 1527-9
- 113 KUZNETSOVA L AND WISE FW 2007 OPT. LETT. 32 2671-3
- 114 ÇİLESİZ I 2004 LASER-TISSUE INTERACTIONS ENCYCLOPEDIA OF OPTICAL ENGINEERING ED R DRIGGERS, 3RD EDITION, MARCEL DEKKER, NEW YORK (DOI: 10.1081/E-EOE-120009714)
- 115 NIEMZ M H 2007 LASER TISSUE INTERACTIONS 3RD ED SPRINGER, BERLIN, HEIDELBERG
- 116 SRINIVASAN R, MAYNE-BANTON V 1982 APPL. PHYS. LETT. 41 576-8
- 117 SRINIVASAN R 1986 SCIENCE 234 559-65
- 118 SRINIVASAN R, BRAREN B, DREYFUS R W, HADEL L, SEEGER D E 1986 J. OPT. SOC. AM. B 3 785-91
- 119 KENNEDY P K 1995 IEEE J. QUANTUM. ELECTRON. 31 2241-49

- 120 LIU W, KOSAREVA O, GOLUBTSOV I S, IWASAKI A, BECKER A, KANDIDOV V P AND CHIN S L 2003 APPL. PHYS. B 76 215-29
- 121 KOLESIK M, KATONA G, MOLONEY J V AND WRIGHT EM 2003 PHYS. REV. LETT. 91 043905
- 122 ARNOLD C L, HEISTERKAMP A, ERTMER W AND LUBATSCHOWSKI H 2005 APPL. PHYS. B 80 247-53
- 123 COUAIRO A, SUDRIE L, FRANCO M, PRADE B AND MYSYROWICZ A 2005 PHYS. REV. B 71 125435
- 124 D. N. NIKOGOSYAN, A. A. ORAEVSKY, AND V. I. RUPSOV. 2-PHOTON IONIZATION AND DISSOCIATION OF LIQUID WATER BY POWERFUL LASER UV-RADIATION. CHEMICAL PHYSICS, 77:131-43, 1983.
- 125 VOGEL A, NOACK J, HÜTTMAN G AND PALTAUF G 2005 APPL. PHYS. B 81 1015-47
- 126 DE MICHELIS C 1969 IEEE J. QUANTUM. ELECTRON. 5 188-202
- 127 BLOEMBERGEN N 1974 IEEE J. QUANTUM. ELECTRON. 10 375-86
- 128 STUART B C, FEIT M D, RUBENCHIK A M, SHORE B AND PERRY M D 1995 PHYS. REV. LETT. 74 2248-2251
- 129 PALTAUF G AND SCHMIDT-KLOIBER H 1999 APPL. PHYS. A 68 525-31
- 130 NOACK J AND VOGEL A 1999 IEEE J. QUANTUM ELECTRON. 35 1156-67
- 131 VOGEL A, NOACK J, NAHEN K, THEISEN D, BUSCH S, PARLITZ U, HAMMER D X, NOOJIN G D, ROCKWELL B A AND BIRNGRUBER R 1999 APPL. PHYS. B 68 271-80
- 132 VENUGOPALAN V, GUERRA A III, NAHEN K AND VOGEL A 2002 PHYS. REV. LETT. 88 078103
- 133 QUERE F, GUIZARD S AND MARTIN P 2001 EUROPHYS. LETT. 56 138-44
- 134 KELDYSH L V 1965 SOV. PHYS. JETP 20 1307-14
- 135 KAISER A, RETHFELD B, VICANEK M AND SIMON G 2000 PHYS. REV. B. 61 437-50
- 136 STUART B C, FEIT M D, HERMAN S, RUBENCHIK A M, SHORE B W AND PERRY M D 1996 PHYS. REV. B 53 1749-61
- 137 APOSTOLOVA T AND HAHN Y 2000 J. APPL. PHYS. 88 1024-34
- 138 VATSYA S R AND NIKUMB S K 2002 J. APPL. PHYS. 91 344-51
- 139 RETHFELD B 2004 PHYS. REV. LETT. 92 187401
- 140 RETHFELD B 2006 PHYS. REV. B 73 035101
- 141 COUAIRO A AND MYSYROWICZ A 2007 PHYSICS REPORTS 441 47-189
- 142 LIONEL SUDRIE, "FILAMENTATION NON-LINÉAIRE DES IMPULSIONS LASER FEMTOSECONDES DANS LA SILICE," THÈSE DE DOCTORAT, UNIVERSITÉ DE PARIS XI, ORSAY, 2002
- 143 HEISTERKAMP A, RIPKEN T, MAMOM T, DROMMER W, WELLING H, ERTMER W AND LUBATSCHOWSKI H 2002 APPL. PHYS. B 74 419-25
- 144 MARBURGER J H 1975 PROG. QUANT. ELECTR. 4 35-110
- 145 FIBICH G AND GAETA A L 2000 OPT. LETT. 25 335-7
- 146 LUTHER G G, MOLONEY J V, NEWELL A C AND WRIGHT E M 1994 OPT. LETT. 19 862-4
- 147 ILKOV F A, ILKOVA L S AND CHIN S L 1993 OPT. LETT. 18 681-3
- 148 NGUYEN N T, SALIMINIA A, LIU W, CHIN S L AND VALLÉE R 2003 OPT. LETT. 28 1591-3
- 149 ASHCOM J B, GATTASS R R, SCHAFFER C B AND MAZUR E 2006 OPT. EXPRESS 23 2317-22
- 150 ARNOLD C L, HEISTERKAMP A, ERTMER W AND LUBATSCHOWSKI H 2005 APPL. PHYS. B 80 247-53
- 151 ARNOLD C L, HEISTERKAMP A, ERTMER W AND LUBATSCHOWSKI H 2007 OPT. EXPRESS 15 10303-17
- 152 BURAKOV I M, BULGAKOVA N M, STOIAN R, MERMILLOD-BLONDIN A, AUDOUARD E, ROSENFELD A, HUSAKOU A AND HERTEL I V 2007 J. APPL. PHYS. 101 043506

- 153 DU D, LIU X, KORN G, SQUIER J AND MOUROU G 1994 APPL. PHYS. LETT. 64 9071-3
- 154 LOESEL F H, NIEMZ J F, BILLE M H AND JUHASZ T 1996 IEEE J. QUANTUM ELECTRON. 32 1717-22
- 155 LENZNER M, KRÜGER J, SARTANIA S, CHENG Z, SPIELMANN C, MOUROU G, KAUTEK W AND KRAUSZ F 1998 PHYS. REV. LETT. 80 4076-9
- 156 A. C. TIEN, S. BACKUS, H. KAPTEYN, M. MURNANE, AND G. MOUROU. SHORT-PULSE LASER DAMAGE IN TRANSPARENT MATERIALS AS A FUNCTION OF PULSE DURATION. PHYSICAL REVIEW LETTERS, 82:3883-86, 1999
- 157 KIM B M, FEIT M D, RUBENCHIK A M, JOSLIN E J, CELLIERS P M, EICHLER J AND DA SILVA L B 2001 J. BIOMED. OPT. 6 332-8
- 158 JIA T Q, XU Z Z, LI X X, LI R X, SUAI B AND ZHAO F L 2003 APPL. PHYS. LETT. 82 4382-4
- 159 GIGUÉRE D, OLIVÉ G, VIDAL F, TOETSCH S, GIRARD G, OZAKI T, KIEFFER J C, NADA O AND BRUNETTE I 2007 J. OPT. SOC. AM. A 24 1562-8
- 160 SUN H, HAN M, NIEMZ M H AND BILLE J F 2007 LASERS SURG. MED. 39 654-8
- 161 VOGEL A, LINZ N, FREIDANK S AND PALTAUF G 2008 PHYS. REV. LETT. 100 038102
- 162 OLIVÉ G, GIGUÉRE D, VIDAL F, OZAKI T, KIEFFER J C, NADA O AND BRUNETTE I 2008 OPT. EXPRESS 16 4121-9
- 163 JIA T Q ET AL 2006 PHYS. REV. B 73 054105
- 164 NICOLAS FORGET, « DES AMPLIFICATEURS LASER AUX AMPLIFICATEURS PARAMÉTRIQUES : ÉTUDES DE L'AMPLIFICATION PARAMÉTRIQUE À DÉRIVE DE FRÉQUENCE ET DU BLOCAGE DE MODES DANS LES OSCILLATEURS PARAMÉTRIQUES OPTIQUES, » THÈSE DE DOCTORAT, ÉCOLE POLYTECHNIQUE, 2005
- 165 J. M. MANLEY AND H. E. ROWE. SOME GENERAL PROPERTIES OF NONLINEAR ELEMENTS, PART I. GENERAL ENERGY RELATIONS. PROC. IRE, 44 :904{913, 1956.
- 166 J. A. ARMSTRONG, N. BLOEMBERGEN, J. DUCUING, AND P.S. PERSHAN. INTERACTIONS BETWEEN LIGHT WAVES IN A NONLINEAR DIELECTRIC. PHYS. REV., 127(6) :1918{1939, 1962.
- 167 Y. DUMEIGE, I. SAGNES, P. VIDAKOVIC, AND A. LEVENSON. PHASEMATCHED FREQUENCY DOUBLING AT PHOTONIC BAND EDGES : EFFICIENCY SCALING AS THE FTH POWER OF THE LENGTH. PHYS. REV. LETT., 89 :043901, 2002.
- 168 K. MOUTZOURIS, R. S. VENUGOPAL, M. EBRAHIMZADEH, A. DE ROSSI, M. CALLIGARO, V. ORTIZ, AND V. BERGER. SECOND-HARMONIC GENERATION THROUGH OPTIMIZED MODAL PHASE MATCHING IN SEMICONDUCTOR WAVEGUIDES. APPL. PHYS. LETT., 83(4) :620{622, 2003.
- 169 A. M. PORTIS, ELECTROMAGNETIC FIELDS: SOURCES AND MEDIA (WILEY, NEW YORK, 1978), PP. 567-581.
- 170 P. K. TIEN, R. ULTICH, AND R. MARTIN, "OPTICAL SECOND HARMONIC GENERATION IN THE FORM OF COHERENT CERENKOV RADIATION FROM A THIN-FILM WAVEGUIDE," APPL. PHYS. LETT. 17, 447-450 (1970).
- 171 R. HAIDAR. NOUVEAUX SCENARII DE QUASI-ACCORD DE PHASE DANS LES SEMICONDUCTEURS ISOTROPES. PHD THESIS, UNIVERSITÉ PARIS XI, 2003.
- 172 R. HAIDAR, N. FORGET, P KUPECECK, AND E. ROSENCHER. FRESNEL PHASE MATCHING FOR THREE-WAVE MIXING IN ISOTROPIC SEMICONDUCTORS. J. OPT. SOC. AM. B, 21(8) :1522, 2004.
- 173 J. P. FUEVE, B. BOULANGER, AND G. MARNIER. CALCULATION AND CLASSIFICATION OF THE DIRECTION LOCI FOR COLLINEAR TYPES I, II AND III PHASE-MATCHING OF THREE-WAVE NONLINEAR OPTICAL PARAMETRIC INTERACTIONS IN UNIAXIAL ACENTRIC CRYSTALS. OPT. COMM., 99 :284-302, 1993.
- 174 N. P. BARNES AND V. J. CORCORAN. PARAMETRIC GENERATION PROCESS : SPECTRAL BANDWIDTH

- AND ACCEPTANCE ANGLES. APPL. OPT., 15(3) :696{699, 1976.
- 175 G. D. MILLER. PERIODICALLY POLED LITHIUM NIOBATE : MODELING, FABRICATION AND NONLINEAR-OPTICAL PERFORMANCE. PHD THESIS, STANFORD UNIVERSITY, 1998.
- 176 V. E. ZAKHAROV AND A. B. SHABAT. EXACT THEORY OF TWO-DIMENSIONAL SELF-FOCUSING AND ONE-DIMENSIONAL SELF-MODULATION OF WAVES IN NONLINEAR MEDIA. Z. EKSPER. TEORET. FIZ., 61(1) :118{134, 1971.
- 177 A. YARIV. QUANTUM ELECTRONICS. JOHN WILEY & SONS, 3RD EDITION EDITION, 1988.
- 178 S. A. FURMAN AND A. V. TIKHONRAVOV. OPTICS OF MULTILAYER SYSTEMS. EDITIONS FRONTIÈRES, 1992.
- 179 A. YARIV. COUPLED-MODE THEORY FOR GUIDED-WAVE OPTICS. IEEE J. QUANT. ELECTRON. 9(9) :919, 1973.
- 180 WANG L. SKAAR J. AND ERDOGAN T. ON THE SYNTHESIS OF π -BER BRAGG GRATINGS BY LAYER PEELING. IEEE J. QUANT. ELECTRON., 37 :165{173, 2001.
- 181 ANTOINE BERROU, DÉVELOPPEMENT D'UN OSCILLATEUR PARAMÉTRIQUE OPTIQUE POUR LA SPECTROSCOPIE DES GAZ ET SES APPLICATIONS, THÈSE DE DOCTORAT, ÉCOLE POLYTECHNIQUE, 2008
- 182 D. E. SPENCE, P. N. KEAN, AND W. SIBETT, OPT. LETT. 16, 42 (1991)
- 183 D. STRICKLAND AND G. MOUROU, OPT. COMMUN. 56, 219 (1985)
- 184 S. BACKUS, C. DURFEE, M. M. MURANE, AND H.C. KAPETEYN, REV. SCI. INSTRUM. 69, 1207 (1998)
- 185 D. EIMERL, L. DAVIS, S. WELSKO, E. K. GRAHAM, AND A. ZALKIN, J. APPL PHYS, 62, 1968 (1987)
- 186 H. HELLWIG, J. LIEBERTZ, AND L. BOHATY, „EXCEPTIONAL LARGE NONLINEAR OPTICAL COEFFICIENTS IN MONOCLINIX BISMUTH BORATE BiB3O6 (BiBO),” SOLID STATE COMMUN. 109, 249-251, 1999
- 187 ZH. LIN, ZH. WANG, C. CHEN, AND M.-H. LEE, “MECHANISM FOR LINEAR AND NONLINEAR OPTICAL EFFECTS IN MONOCLINIC BISMUTH BORATE (BiB3O6) CRYSTAL,” J.APPL. PHYS. 90, 5585-5590, 2001
- 188 T. BRABEC AND F. KRAUSZ, REV. MOD. PHYS. 72, 545 (2000)
- 189 A. YARIV ET P. YEH, « THE APPLICACION OF GAUSSIAN BEAM FORMALISM TO OPTICAL PROPAGATION IN NONLINEAR MEDIA », OPTICC COMMUN., 27, 2, 295-298, 1978
- 190 JENNIFER MARY WATSON, “AMPLIFICATION PARAMÉTRIQUE EN REGIME FEMTOSECONDE, APPLICATION AU DÉVELOPPEMENT DE SOURCES FEMTOSECONDES ACCORDABLES DANS LE VISIBLE ET À L'IMAGERIE EN MILIEU DIFFUSANT, THÈSE DE DOCTORAT, UNIVERSITÉ PARIS-SUD, CENTRE D'ORSAY, 1994
- 191 V. PETROV, M. GHOTBI, P. TZANKOV, F. NOACK I. NIKOLOV, I.BUCHVAROV, AND M. EBRAHIM-ZADEH, PROC. SPIE 6455,64550C (2007).
- 192 C. CHEN, B. WU, A. JIANG, G. YOU: SCI. SIN., SER. B. 28 235 (1985)
- 193 L. J. BROMLEY, A. GUY, D. C. HANNA: OPT. COMMUN. 67, 316 (1988)
- 194 C. CHEN, Y. X. FAN, R. C. ECHARDT, R. L. BYER, PROC SPIE 681, 12 (1987)
- 195 K. KATO: IEEE J. QUANTUM ELECTRON. QE-22, 1013 (1986)
- 196 G.C. BHAR, S. DAS, U. CHATTERJEE, APPL. OPT 28 202 (1989)
- 197 RICK TREBINO « FREQUENCY-RESOLVED OPTICAL GATING : THE MEASURMENT OF ULTRASHORT LASER PULSES “, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, 2002
- 198 A. GALVANAUSKAS, M. A. ARBORE, M.J. FEJER, M.E. FERMAN AND D. HARTR, “FIBER-LASER-BASERD FEMTOSECONDE PARAMETRIC GENERATOR IN BUK PERIODICALLY POLED LiNbO3”, OPT. LET. 22, 2, 105-107, 1997
- 199 M. M. FEJER, G.A. MAGEL, D.H. JUNDT, AND R.L. BYER, IEEE J. QUANTUM ELECTRON. 28, 2631 (1992)

- 200 YILMAZ T ET AL 2008 PROC. SPIE 6873 68731I
- 201 RAYDIANCE APPLICATION SPOTLIGHT, ABLATION OF SOFT TISSUE WITH SMART LIGHT MDTM (ACCESSED 2009 1ST NOVEMBER)
- 202 ZHOU S, KUZNETSOVA L, CHONG A AND WISE F 2005 OPT. EXPRESS 13 4869-77
- 203 WWW.BPIC.COM
- 204 C. HORVATH, A. BRAUN, H. LIU, T. JUHASZ, AND G. MOUROU. COMPACT DIRECTLY DIODEPUMPED FEMTOSECOND ND:GLASS CHIRPED-PULSE-AMPLIFICATION LASER SYSTEM. OPT. LETT, 22:1790-92, 1997.
- 205 M. BORN AND E. WOLF. PRINCIPLES OF OPTICS. CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, 1999.