

Etude expérimentale des forces mécaniques induites par ultrasons focalisés pour la neurostimulation

La neurostimulation par ultrasons focalisés est une voie de recherche prometteuse pour stimuler à distance les neurones. Les avantages principaux des ultrasons seraient de permettre une stimulation ciblée de différentes populations de neurones de façon non-invasive, au contraire de la stimulation électrique standard. Cependant, les mécanismes physiques et moléculaires impliqués dans ce processus ne sont encore pas bien compris. Les laboratoires LMA et IBDM à l'université d'Aix-Marseille ont récemment démontré que les neurones sensoriels primaires peuvent être activés par ultrasons. A cette fin, un dispositif expérimental a été mis en place pour faire le suivi des réponses calciques sur des neurones sensoriels soumis à des stimuli ultrasonores. (*L'imagerie calcique consiste à suivre les changements de concentration intracellulaire en ions calcium pour quantifier l'activité évoquée des neurones.*) **L'objectif du stage est de comprendre les mécanismes physiques impliqués dans la neurostimulation par ultrasons.**

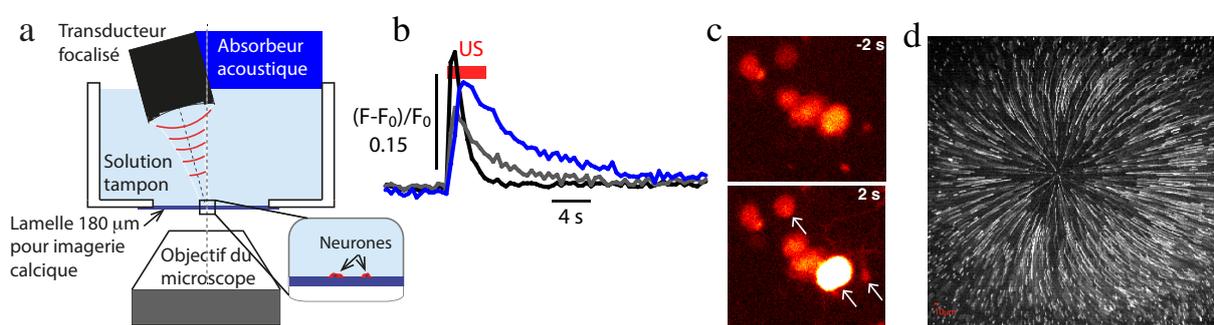


Figure. Stimulation ultrasonore des neurones du DRG suivie par imagerie calcique. (a) Vue schématique du transducteur placée de façon à ce que sa tâche focale soit positionnée au centre du champ de vision du microscope optique. (b) Exemples de réponses calciques induits par un stimulus ultrasonore. (c) Imagerie calcique de neurones sensoriels isolés, 2 s. avant le début de la stimulation ultrasonore et 2 s. après. (d) Traces des particules-traceurs montrant l'écoulement induit par streaming acoustique.

Plusieurs hypothèses, basées sur des effets thermiques et mécaniques, ont été proposées dans la littérature pour expliquer les mécanismes physiques sous-jacents à la stimulation ultrasonore des neurones. L'hypothèse la plus probable est que les ultrasons focalisés agissent par action mécanique grâce aux forces de radiation acoustique et/ou de streaming acoustique qui viennent étirer et déformer la membrane des cellules, provoquant l'ouverture ou la fermeture de canaux ioniques mécano-sensitifs, qui vont eux-mêmes dépolariser les neurones et générer des potentiels d'action. **L'objectif du stage est de quantifier les forces mécanique (forces de radiation acoustique et forces hydrodynamiques induites par streaming acoustique) mises en jeu dans notre dispositif expérimental pour différents stimuli ultrasonores.** A cette fin, les forces de radiation acoustique seront évaluées en mesurant l'écrasement de microsphères de polyacrylamide sous l'effet des ultrasons focalisés, l'élasticité des microsphères étant connue. Par ailleurs, l'écoulement induit par streaming acoustique seraensemencé par des particules-traceurs, et le suivi de ces particules-traceurs sera effectué par une caméra ultra-rapide afin d'estimer les vitesses des particules puis les forces hydrodynamiques. Des expériences complémentaires à différentes fréquences ultrasonores seront aussi menées sur des neurones en culture pour suivre leur activité en imagerie calcique afin d'étudier les conditions nécessaires à leur stimulation.

Ce projet ouvrira de grandes perspectives à long terme et fera l'objet d'une thèse durant laquelle l'étudiant poursuivra les études *in vitro* pour la compréhension des mécanismes sous-jacents à la neurostimulation et explorera la stimulation *in vivo* pour le traitement de la douleur chronique. Ce projet est une collaboration fructueuse entre des physiciens/acousticiens du LMA et des biologistes de l'IBDM.

Contact : Emilie Franceschini email: franceschini@lma.cnrs-mrs.fr

Profil : Un étudiant en Master 2 ou école ingénieur 3A de physique, biophysique, acoustique et/ou neurosciences, avec une bonne maîtrise de la programmation Matlab/Python et un intérêt pour l'expérimental.

Durée du stage : 4 à 6 mois à partir de février 2024

Gratification : 600 €/ mois

Possibilité de poursuite en thèse : oui, suivant le classement à l'école doctorale (si bourse ministérielle)

Experimental study of mechanical forces induced by focused ultrasound for neurostimulation

Ultrasound neurostimulation is a promising avenue of research for stimulating neurons at distance. The main advantages of ultrasound would be to enable targeted stimulation of different neuron populations in a non-invasive way, contrary to standard electrical stimulation. However, the physical and molecular mechanisms involved in this process are still not well understood. The LMA and IBDM laboratories at the University of Aix-Marseille have recently demonstrated that primary sensory neurons can be activated by ultrasound. To this end, an experimental setup was developed to monitor calcium responses in sensory neurons subjected to ultrasonic stimuli. (*Calcium imaging involves monitoring changes in intracellular calcium ion concentration to quantify the evoked activity of neurons.*) **The aim of this internship is to understand the physical mechanisms involved in ultrasound neurostimulation.**

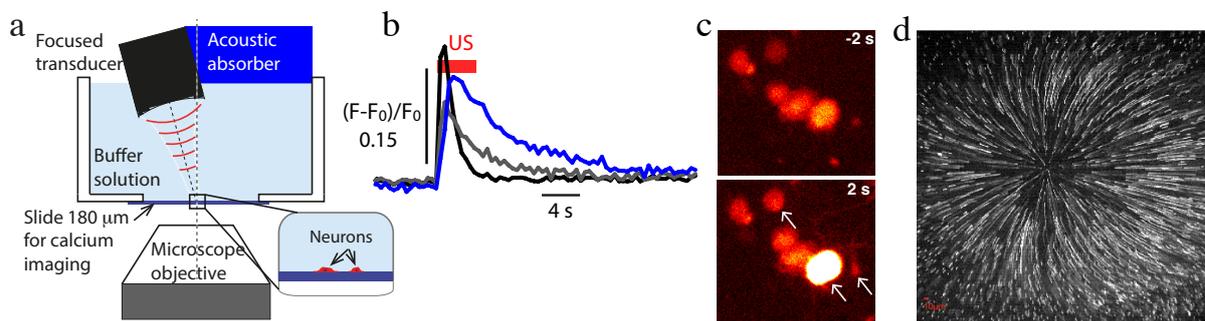


Figure. Ultrasonic stimulation of DRG neurons monitored by calcium imaging. (a) Schematic view of the transducer positioned so that its focal spot is in the center of the optical microscope's field of view. (b) Examples of calcium responses induced by an ultrasound stimulus. (c) Calcium imaging of isolated sensory neurons, 2 s. before the start of ultrasonic stimulation and 2 s. after. (d) Traces of tracer particles showing the flow induced by acoustic streaming.

Several hypotheses, based on thermal and mechanical effects, have been proposed in the literature to explain the physical mechanisms underlying ultrasonic stimulation of neurons. The most likely hypothesis is that focused ultrasound acts by mechanical effects, thanks to the forces of acoustic radiation and/or acoustic streaming, which stretch and bend the cell membrane, causing mechano-sensitive ion channels to open or close, which in turn depolarize neurons and generate action potentials. **The aim of the internship is to quantify the mechanical forces (acoustic radiation forces and hydrodynamic forces induced by acoustic streaming) involved in our experimental device for different ultrasonic stimuli.** To this end, acoustic radiation forces will be evaluated by measuring the squeezing of polyacrylamide microspheres under the effect of focused ultrasound, the elasticity of the microspheres being known. In addition, the flow induced by acoustic streaming will be seeded with tracer particles, and these tracer particles will be tracked using an ultra-fast camera to estimate particle velocities and then hydrodynamic forces. Complementary experiments at different ultrasound frequencies will also be carried out on cultured neurons to monitor their activity using calcium imaging, in order to study the conditions required for their stimulation.

This project will open up major long-term prospects, and will be the subject of a PhD thesis during which the student will pursue in vitro studies to understand the mechanisms underlying neurostimulation, and explore in vivo stimulation for the treatment of chronic pain. This project is a fruitful collaboration between physicists/acousticians at LMA and biologists at IBDM.

Contact : Emilie Franceschini email: franceschini@lma.cnrs-mrs.fr

Profil : A student in Master 2 or 3A engineer school in physics, biophysics, acoustics and/or neurosciences, with a good level of Matlab/Python programming and an interest in experimental work.

Durée du stage : 4 to 6 months from February 2024

Gratification : 600 €/ month

Possibilité de poursuite en thèse : yes, according to the ranking at the doctoral school (if ministerial scholarship)