

Titre: Modèles numériques de la stimulation optique de neurones assistée
Title: par nanoparticules plasmoniques

Auteur: Nicolas Le Hir
Author:

Date: 2016

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Le Hir, N. (2016). Modèles numériques de la stimulation optique de neurones
Citation: assistée par nanoparticules plasmoniques [Mémoire de maîtrise, École
Polytechnique de Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/2351/>

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

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/2351/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Michel Meunier
Advisors:

Programme: Génie physique
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

MODÈLES NUMÉRIQUES DE LA STIMULATION OPTIQUE DE NEURONES
ASSISTÉE PAR NANOPARTICULES PLASMONIQUES

NICOLAS LE HIR
DÉPARTEMENT DE GÉNIE PHYSIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE PHYSIQUE)
OCTOBRE 2016

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

MODÈLES NUMÉRIQUES DE LA STIMULATION OPTIQUE DE NEURONES
ASSISTÉE PAR NANOPARTICULES PLASMONIQUES

présenté par : LE HIR Nicolas

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

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

Mme SANTATO Clara, Doctorat, présidente

M. MEUNIER Michel, Ph. D., membre et directeur de recherche

M. DOYON Nicolas, Ph. D., membre externe

REMERCIEMENTS

J'adresse tous mes plus sincères remerciements à mon directeur de recherche Michel Meunier pour m'avoir permis de travailler sur ce projet réellement passionnant. Je remercie également Flavie Lavoie-Cardinal, référente au niveau expérimental, pour ses commentaires et conseils sur de nombreux aspects biologiques. Je remercie Étienne Boulais pour m'avoir aidé à m'orienter et à définir les directions du projet. Je remercie Clara Santato pour avoir accepté d'être présidente du jury ainsi que Nicolas Doyon d'avoir accepté d'en faire partie en tant que membre extérieur. Je remercie enfin Adrien Dagallier pour son aide sur plusieurs aspects techniques au sujet des différents modèles développés pendant la maîtrise, et qui m'a permis de gagner grandement en productivité.

RÉSUMÉ

La stimulation de neurones par laser émerge depuis plusieurs années comme une alternative aux techniques plus traditionnelles de stimulation artificielle. Contrairement à celles-ci, la stimulation lumineuse ne nécessite pas d'interagir directement avec le tissu organique, comme c'est le cas pour une stimulation par électrodes, et ne nécessite pas de manipulation génétique comme c'est le cas pour les méthodes optogénétiques.

Plus récemment, la stimulation lumineuse de neurones assistée par nanoparticules a émergé comme un complément à la stimulation simplement lumineuse. L'utilisation de nanoparticules complémentaires permet d'augmenter la précision spatiale du procédé et de diminuer la fluence nécessaire pour observer le phénomène. Ceci vient des propriétés d'interaction entre les nanoparticules et le faisceau laser, comme par exemple les propriétés d'absorption des nanoparticules.

Deux phénomènes principaux sont observés. Dans certains cas, il s'agit d'une dépolarisation de la membrane, ou d'un potentiel d'action. Dans d'autres expériences, un influx de calcium vers l'intérieur du neurone est détecté par une augmentation de la fluorescence d'une protéine sensible à la concentration calcique.

Certaines stimulations sont *globales*, c'est à dire qu'une perturbation se propage à l'ensemble du neurone : c'est le cas d'un potentiel d'action. D'autres sont, au contraire, *locales* et ne se propagent pas à l'ensemble de la cellule. Si une stimulation lumineuse globale est rendue possible par des techniques relativement bien maîtrisées à l'heure actuelle, comme l'optogénétique, une stimulation uniquement locale est plus difficile à réaliser. Or, il semblerait que les méthodes de stimulation lumineuse assistées par nanoparticules puissent, dans certaines conditions, offrir cette possibilité. Cela serait d'une grande aide pour conduire de nouvelles études sur le fonctionnement des neurones, en offrant de nouvelles possibilités expérimentales en complément des possibilités actuelles.

Cependant, le mécanisme physique à l'origine de la stimulation lumineuse de neurones, ainsi que celui à l'origine de la stimulation lumineuse assistée par nanoparticules, n'est à ce jour pas totalement compris. Des hypothèses ont été formulées concernant ce mécanisme : il pourrait être photothermique, photomécanique, ou encore photochimique. Il se pourrait également que plusieurs mécanismes soient à l'oeuvre conjointement, étant donné la variété des observations. La littérature ne converge pas à ce sujet et l'existence d'un mécanisme commun aux différentes situations n'a pas été démontrée.

Le mécanisme le plus régulièrement cité comme hypothèse et qui semble être le plus probable expérimentalement, est un mécanisme thermique. Nous analysons ce en quoi pourrait consister ce mécanisme et proposons des modèles théoriques pour confronter des simulations numériques aux résultats expérimentaux. Nous proposons d'abord des modèles basés sur les canaux ioniques. Les canaux ioniques sont les protéines présentes à la surface membranaire et sont essentielles pour de nombreux procédés biologiques. Différentes méthodes permettent de décrire l'effet de la température sur les canaux ioniques d'un neurone, comme les modèles de type Hodgkin-Huxley, les modèles thermodynamiques, et les modèles stochastiques de Markov.

Par la suite, nous utilisons un modèle basé sur un mécanisme de courant capacitif dépendant de la température, que nous complétons et adaptons pour notre besoin. Contrairement aux modèles précédents, ce modèle n'est pas basé sur les canaux ioniques mais sur des considérations électrostatiques concernant la distribution spatiale des charges autour de la membrane neuronale.

Seul le modèle stochastique décrivant les canaux ioniques par un procédé markovien permet de reproduire des résultats en accord avec les expériences. Grâce à ce modèle, on peut calculer un influx de calcium qui augmente significativement la concentration calcique intracellulaire, et dont l'amplitude dépend de l'intensité de l'irradiation. Dans certains cas, des potentiels d'action sont générés. Ces deux observations sont cohérentes avec les expériences.

Toutefois, les modèles ne suffisent pas à valider un mécanisme thermique, au vu du grand nombre de paramètres inconnus et de la variabilité des conditions biologiques. Davantage de connaissances au niveau moléculaire et davantage d'expériences semblent nécessaires pour établir la nature du ou des mécanismes à l'oeuvre.

ABSTRACT

For several years, laser light has been used as an alternative means of artificially stimulating neurons. Unlike more traditional methods, this technique does not require a direct interaction with the organic tissue, such as those based on electrical stimulation. In addition, no genetic manipulation is needed, as it is required in optogenetic frameworks.

More recently, nanoparticles have been added to the experimental process of light stimulation of neurons. These particles allow for a better spatial control of the method and potentially necessitate smaller fluences to trigger a neuron reaction, thanks to the specific properties of the interaction between a laser light and nanoparticles, such as absorption.

This stimulation consists in two main phenomena. In some cases, depolarisation of the neuron membrane occurs, or an action potential can even be triggered. In other cases, an inward calcium influx is detected by the fluorescence of a calcium sensitive protein.

On the one hand, some of these stimulations are *global*, which means that a perturbation of the neuron propagates to the whole cell. Action potentials belong to this category of stimulation. On the other hand, some stimulations remain *local* and do not propagate any further. Whereas a global stimulation with light is relatively well achieved with contemporary methods such as optogenetics, a local stimulation is more difficult to evoke. Nanoparticle assisted light stimulation techniques seem to provide this possibility, which would open new opportunities of experimental studies on the biophysics of neurons.

However, the physical mechanism responsible for the light stimulation and the nanoparticle assisted light stimulation of neurons is not yet completely understood. Several hypothesis have been proposed to explain the experimental results : photothermal, photomechanical, or photochemical mechanisms have been mentioned. Furthermore, a simultaneous combination of several of these mechanisms could be responsible for the effect. The existence of a common mechanism for all experiments has not been determined yet in the literature.

The most popular assumption is the one of a photothermal mechanism, which seems to be the most likely experimentally. We analyse this possibility and we propose theoretical models to compare numerical calculations to experimental observations. Firstly, we study models based on thermosensitive ion channels. Ion channels are proteins populating the cell membrane and are essential to many biological processes. Several methods exist to evaluate the effect of temperature on ion channels, such as Hodgkin-Huxley models, thermodynamic models and Markov models.

Secondly, we adapt an existing model based on a capacitive and temperature dependent current. As opposed to the previous model, this model is not based on ion channels but is built on electrostatic considerations to describe the charge distribution around the neuron membrane.

The model based on ion channels described by a Markov model is the only one able to reproduce experimental results. This model predicts calcium influx, whose magnitude increases with the deposited energy. As a result, the intracellular calcium concentration inflates. In some cases, action potentials are generated. These results are in agreement with experiments.

Nevertheless, given the many unknown parameters and the tremendous complexity of biological conditions, our models do not allow us to make a definitive conclusion on the physical mechanism responsible for nanoparticle assisted light stimulation of neurons. More knowledge is to be gained on the molecular level and more experiments are to be conducted to establish the complete mechanism.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iii
RÉSUMÉ	iv
ABSTRACT	vi
TABLE DES MATIÈRES	viii
LISTE DES TABLEAUX	xi
LISTE DES FIGURES	xii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	xvi
LISTE DES ANNEXES	xvii
CHAPITRE 1 INTRODUCTION	1
1.1 L’essor des neurosciences	1
1.2 Stimulation artificielle d’un neurone	2
1.2.1 Pourquoi stimuler artificiellement un neurone ?	2
1.2.2 Méthodes de stimulation	3
1.3 Objectifs du projet	4
1.4 Plan du mémoire	5
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE	6
2.1 Fonctionnement biophysique d’un neurone et modélisation	6
2.1.1 Introduction au fonctionnement biophysique des neurones	7
2.1.2 Potentiel électrique, canaux ioniques et potentiel de Nernst	10
2.1.3 Canaux ioniques thermosensibles	15
2.1.4 Modélisation mathématique et outils	17
2.1.5 Outils de modélisation	25
2.2 Nanoparticules plasmoniques et applications biomédicales	26
2.2.1 Notion de résonance plasmonique	26
2.2.2 Mécanismes physiques lors de l’interaction entre une nanostructure et un laser pulsé	27
2.2.3 Nanoparticules et nanobâtons d’or	28

2.2.4	Quelques applications biomédicales des nanoparticules d'or	29
2.3	Stimulation lumineuse de neurones assistée par nanoparticules : une revue des résultats expérimentaux récents	29
2.3.1	Neurostimulation infrarouge : une technique purement optique	30
2.3.2	Stimulation optique de neurones assistée par nanoparticules	31
2.3.3	Analyse des hypothèses déjà formulées pour expliquer le phénomène	32
2.4	Conclusion et objectifs	37
CHAPITRE 3 MÉCANISMES BASÉS SUR LA TEMPÉRATURE		39
3.1	Hypothèse et approche	39
3.2	Estimation du chauffage provoqué par l'interaction entre la particule et le laser	40
3.2.1	Modèle numérique	40
3.2.2	Résultats	42
3.3	Modèles numériques basés sur les canaux ioniques	46
3.3.1	Position du problème	46
3.3.2	Modèle de Hodgkin-Huxley	46
3.3.3	Modèle thermodynamique	47
3.3.4	Modèles de Markov	48
3.4	Théorie de Gouy-Chapman-Stern et courant capacitif	60
3.4.1	Courant capacitif et formalisme	60
3.4.2	Résultats	61
3.5	Conclusion et discussion	64
3.5.1	Commentaires sur la validité des modèles	65
CHAPITRE 4 AUTRES MÉCANISMES POSSIBLES ET DISCUSSION		67
4.1	Autres mécanismes possibles	67
4.1.1	Mécanismes liés à une contrainte mécanique	67
4.1.2	Densité électronique et champ électrique proche	68
4.1.3	Transition de phase de la bicouche lipidique	68
4.1.4	Nanoporation	69
4.2	Discussion des données expérimentales et bilan	69
CHAPITRE 5 CONCLUSION		71
5.1	Synthèse des travaux	71
5.2	Validité de la solution proposée	71
5.3	Pistes pour des études supplémentaires	72

RÉFÉRENCES	74
ANNEXES	86

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1	Valeurs de potentiels de Nernst pour les espèces ioniques usuelles [1]	13
Tableau 2.2	Dépendance en température des potentiels d'activation (V_a) pour les canaux Calcium Voltage Activated (Cav) de type Low Voltage Activated (LVA) (Low Voltage Activated). Les données sont tirées de [2].	16
Tableau 2.3	Activation pour la famille Transient Receptor Potential (TRP). Les données sont issues de [3]. La troisième colonne indique la sélectivité du canal pour les ions. $P_{Ca^{2+}} > P_{Na^{+}}$ signifie que le canal favorise le passage des ions Ca^{2+} par rapport aux ions Na^{+} . . .	17
Tableau 2.4	Valeurs des paramètres de l'équation du cable utilisés en neurophysiologie pour le modèle originel du calamar géant [4]	18
Tableau 2.5	Expériences de Stimulation de Neurons Assistée par Nanoparticules (SNAN)	34
Tableau 3.1	Variables et paramètres de l'équation de la chaleur.	41
Tableau 3.2	Paramètres d'irradiation pour deux expériences de SNAN	42
Tableau A.1	Données fonctionnelles usuelles pour les canaux de la famille Cav. Ces données sont issues de la base « Guide to pharmacology » [85].	86
Tableau B.1	Paramètres et grandeurs de l'équation Goldman-Hodgkin-Katz (GHK) et leur ordre de grandeur pour le calcium. La perméabilité est issue de [5], tandis que les concentrations sont les ordres de grandeur usuels.	87
Tableau F.1	Paramètres du modèle de Shapiro [6]. Pour certains paramètres, on a une valeur intracellulaire, indexée par i , et une valeur extracellulaire, indexée par o	94

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1	Représentation simple des différentes parties d'un neurone	7
Figure 2.2	Les espèces ioniques sont présentes à différentes concentrations à l'intérieur et à l'extérieur du neurone	8
Figure 2.3	Illustration du concept de potentiel d'action, un procédé « tout ou rien ». Les images présentées ici sont issues d'un modèle numérique dont nous présenterons les détails plus loin dans ce mémoire, le modèle de Hodgkin-Huxley. L'ordre de grandeurs de x dépend directement du modèle numérique utilisé. Il peut être de l'ordre du millimètre ou du centimètre.	10
Figure 2.4	Illustration d'un canal ionique. Lorsque le canal est en position ouverte, les ions d'une certain type peuvent passer d'un côté à l'autre de la membrane par diffusion. Sinon, la membrane est imperméable à ces ions.	11
Figure 2.5	Illustration du concept de potentiel de Nernst à l'équilibre. Lorsqu'une espèce ionique est présente à des concentration différentes des deux cotés de la membrane, le potentiel de Nersnt maintient cet équilibre en compensant le gradient chimique par un gradient électrique.	12
Figure 2.6	Modèles de Markov. 2.6a présente un état ouvert et un état fermé. Les taux de transition peuvent par exemple être exprimés de façon thermodynamique en fonction du potentiel V et de la température T . 2.6b présente un modèle de Markov comportant trois états fermés (C1, C2, et C3) et un seul état ouvert (O). L'état ouvert ne peut être atteint que depuis un seul des états fermés, en l'occurrence l'état C2.	23
Figure 2.7	Représenation en trois dimensions d'un neurone hippocampal de rat. On peut voir les dendrites former des ramifications. Modèle issu de Hemmond et al. [7]	26

Figure 2.8	Résultats d'expériences de stimulation de neurones assistée par nanoparticules. 2.8a : Résultats de Lavoie-Cardinal et al. [10]. Les traits pontillés représentent une impulsion laser. Celle-ci provoque une augmentation locale de la fluorescence du calcium, indiquant donc un influx calcique. 2.8b : Résultat de Carvalho-de-Souza et al. [49] (un enregistrement électrophysiologique). Le trait bleu représente une stimulation électrique, qui déclenche un potentiel d'action, de même que le trait vert, qui est une stimulation optique en présence d'un grand nombre de AuNP	33
Figure 3.1	Hypothèse du chauffage.	39
Figure 3.2	Représentation des domaines utilisés pour le calcul du chauffage.	40
Figure 3.3	Comparaison des résultats pour le modèle prenant en compte les impulsions femtosecondes et le modèle continu. Dans la suite du travail, on utilise le chauffage calculé pour le modèle continu, dans le cas de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10].	44
Figure 3.4	Résultats de chauffage obtenus à partir du modèle numérique sous l'hypothèse d'une symétrie sphérique.	45
Figure 3.5	Probabilité d'ouverture stationnaire du canal TRPV1 pour deux différents modèles de type Markov. Le modèle allostérique permet de prendre en compte un plus grand nombre d'états mais ne permet pas de quantifier la dynamique d'ouverture du canal (c'est-à-dire sa cinétique, ou la vitesse d'ouverture et de fermeture).	49
Figure 3.6	Représentation statistique d'une distribution de valeurs. Les pointillés délimités par des traits horizontaux délimitent 95 % de la population. Parfois, on représente les points extrêmes de la distribution, nommés « outliers ».	50
Figure 3.7	Représentation statistique de l'ouverture du canal TRPV1 par le modèle de Markov à deux états [8]. Pour plusieurs températures, on représente la distribution du pourcentage d'ouverture du canal pendant une simulation probabiliste de 30 millisecondes. Le carré rouge représente la moyenne, la ligne rouge la médiane. Par exemple, en moyenne, le canal est ouvert près de 80% du temps pour une température de 50 °C. Les boîtes colorées contiennent la moitié de la distribution et 95% des données sont contenues entre les prolongements pointillés.	50

Figure 3.8	Représentation statistique de l'ouverture du canal TRPV1 par le modèle de Markov à deux états [8]. La représentation statistique est similaire à celle de la figure 3.7.	51
Figure 3.9	Représentation statistique de l'ouverture du canal TRPV1 par le modèle à cinq états pour un canal T-type thalamique [9], pour trois températures différentes. La procédure de calcul est la même qu'à la figure 3.7. L'influence de la température est moins nette dans ce modèle que dans les modèles à deux états des canaux TRP. . . .	52
Figure 3.10	Modèle complet pour l'inclusion d'un chauffage dynamique du canal TRPV1 par le modèle de Markov à deux états [8]	53
Figure 3.11	Ouverture statistique du canal TRPV1 en fonction de la puissance moyenne d'irradiation, pour différentes distances entre la surface de la nanoparticule et le canal TRPV1. L'augmentation de la puissance laser augmente la probabilité que le canal soit ouvert. Une plus grande distance entre les deux objets atténue l'effet, puisque le chauffage perçu par la particule sera d'autant plus faible que cette distance est grande.	55
Figure 3.12	Exemple d'une trajectoire pour le modèle stochastique. L'influx de calcium provoque une augmentation de la concentration calcique intracellulaire et une dépolarisation. Pour la concentration calcique, les différentes courbes correspondent à plusieurs points le long de l'axe du dendrite. Plus on s'éloigne de la particule, moins la concentration augmente. Par exemple, la courbe violette correspond à une distance de 160 nm.	56
Figure 3.13	Influence de la puissance laser sur la concentration calcique maximale, la charge calcique totale, et le potentiel. On présente de façon statistique la variation des grandeurs biophysiques considérées. La probabilité que l'effet soit important augmente avec la puissance. Un potentiel d'action est même déclenché pour une trajectoire stochastique et une puissance de 3 mW.	57
Figure 3.14	Simulation de l'effet sur le neurone d'une irradiation avec une puissance moyenne de 1 mW avec le modèle continu. Les différentes courbes correspondent à différentes distances à la particule. . . .	59
Figure 3.15	Influence de la puissance laser et du nombre de balayages reçus par la particule sur la concentration.	59
Figure 3.16	Partie variable $\delta\sigma(T)$ de la densité surfacique de charge	62

Figure 3.17	Température et courant capacitif issu du modèle de Shapiro et al. pour le chauffage de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. à une puissance moyenne de 1mW. Les différentes courbes correspondent à différents points de la géométrie (différentes distances à la particule).	63
Figure 3.18	Température et courant capacitif issu du modèle de Shapiro et al. pour le chauffage de l'expérience de Carvalho-de-Souza et al. et une intensité de 30 kW/cm^2 . Ce courant est calculé pour une seule particule. En réalité, de nombreuses particules sont utilisées dans cette expérience, car une concentration de particules est injectée dans le dispositif expérimental. Les différentes courbes correspondent à différents points de la géométrie.	64
Figure D.1	Structure du modèle de Markov de Chen et al. [9] pour les canaux calciques T-type [9].	89
Figure E.1	Un extrait de la topologie du modèle de Hemmond et al. [7], dont la représentation est exposée à la figure 2.7	91

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

NSTC	Neurostimulation Électrique Transcutanée
PA	Potentiel d'Action
NSI	Neurostimulation Infrarouge
LSP	Plasmon de Surface Localisé
SNAN	Stimulation de Neurones Assistée par Nanoparticules
PEG	Polyéthylène Glycol
AuNR	Nanobâton d'Or
AuNP	Nanoparticule d'Or
TRP	Transient Receptor Potential
TRPV	Transient Receptor Receptor Vanilloïd
TRPM	Transient Receptor Receptor Melastatine
Cav	Calcium Voltage Activated
LVA	Low Voltage Activated
HVA	High Voltage Activated
MWC	Monod-Wyman-Changeux
GCS	Gouy-Chapman-Stern
GHK	Goldmann-Hodgkin-Katz
NMODL	NEURON Model Description Language
PNP	Poisson-Nernst-Planck

LISTE DES ANNEXES

Annexe A	Canaux ioniques à calcium dépendant du potentiel	86
Annexe B	Equation de Goldman-Hodgkin-Katz	87
Annexe C	Équations du modèle thermodynamique non linéaire de Destexhe et al. pour les canaux T-type	88
Annexe D	Équations du modèle de Markov de Chen et al. pour les canaux T-type	89
Annexe E	Utilisation de l'environnement NEURON	90
Annexe F	Équations de la théorie GCS pour le modèle de Shapiro	93
Annexe G	Dynamique du canal TRPV1	95

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 L’essor des neurosciences

L’un des grands défis du XXI^e siècle est la compréhension du cerveau humain. De l’échelle la plus locale, avec le fonctionnement biophysique des neurones, à l’échelle la plus globale, avec le développement de l’intelligence, les problèmes non résolus sont innombrables à l’heure actuelle. Les neurosciences englobent de nombreuses sous-disciplines, qui peuvent sembler n’avoir en commun que le sujet auquel elles se rattachent : le cerveau. En effet, les questions posées par un neurobiologiste expérimental, ainsi que les méthodes qui seront utilisées pour y répondre, ont peu à voir avec la proposition de modèles d’apprentissage automatique qui seront développés par un chercheur en intelligence artificielle. Pourtant, ces deux disciplines scientifiques si différentes convergent vers la même direction, qui est une compréhension du cerveau et de la cognition. De même, les sciences cognitives, la linguistique, la psychiatrie peuvent toutes être considérées comme des disciplines en lien avec l’étude du fonctionnement de la pensée, tout en proposant des approches radicalement différentes.

L’essor actuel des différentes branches de la neuroscience est le résultat de progrès effectués dans plusieurs domaines. Les avancées informatiques et la disponibilité de puissances de calcul décuplées permettent d’effectuer des modélisations toujours plus ambitieuses et précises pour tenter de reproduire le comportement global d’un nombre toujours plus important de neurones biologiques connectés, dans le cadre des neurosciences computationnelles [11–13]. Les progrès de l’imagerie cérébrale sont également importants pour comprendre le rôle propre des différentes parties du cerveau [14, 15]. Enfin, les progrès spectaculaires de l’intelligence artificielle sont à signaler, alors que de nombreuses architectures algorithmiques pour l’intelligence artificielle s’inspirent sommairement des réseaux de neurones biologiques, comme par exemple dans le cas du « deep learning » [16].

Les connaissances, les compétences, et les méthodes nécessaires pour parvenir à la simulation d’un neurone ou d’un réseau biologique de neurones sont si variées que la communauté des chercheurs a mis en place des plateformes globales tentant de rassembler un maximum de connaissances et de données, sous l’impulsion de grands projets internationaux comme le « Human Brain Project » [17–19].

Cependant, malgré ces ambitions de simulations d’ensembles de neurones connectés, voire de compréhension du fonctionnement du cerveau, de nombreux aspects biophysiques du fonctionnement de neurones individuels sont encore mal compris. S’il est acquis que les neurones

transmettent de l'information dans le corps par l'intermédiaire de signaux électriques, beaucoup d'aspects de la génération de ces signaux électriques et de leur transmission entre les neurones sont encore mal compris, étant donnée la complexité du fonctionnement biophysique de ces cellules.

1.2 Stimulation artificielle d'un neurone

1.2.1 Pourquoi stimuler artificiellement un neurone ?

Stimuler un neurone signifie provoquer, par une intervention extérieure, une réaction de celui-ci. Cette réaction peut être d'ordre électrique, en déclenchant un *potentiel d'action*, notion sur laquelle nous reviendrons plus loin dans ce travail. La réaction déclenchée peut aussi être chimique, avec une variation significative de la concentration intracellulaire d'une espèce ionique, ou bien la libération de neurotransmetteurs dans l'environnement.

Un premier intérêt naturel de la stimulation artificielle d'un neurone est l'étude du fonctionnement du cerveau. Être capable d'exciter un neurone spécifique permettrait d'analyser son rôle parmi l'ensemble des autres neurones. Une application est par exemple de comprendre la répartition des tâches entre les différentes régions du cerveau. En 1870, Fritsch et Hitzig sont les premiers à utiliser des électrodes pour stimuler artificiellement des régions du cerveau d'un chien et démontrent qu'il est divisé en plusieurs parties, de rôles distincts [20]. Au cours du XX^e siècle, la stimulation artificielle de neurones a ensuite alimenté de nombreuses études psychologiques [21, 22].

Par ailleurs, la capacité à stimuler artificiellement un neurone apporte des connaissances sur son fonctionnement biophysique. En identifiant les causes qui provoquent ou ne provoquent pas un effet sur un neurone donné, on en apprend davantage sur les mécanismes moléculaires qui lui sont propres.

Enfin, la stimulation artificielle de neurones peut avoir une portée thérapeutique. La Neurostimulation Électrique Transcutanée (NSTC) est une technique de stimulation artificielle de neurones utilisée pour le soulagement de douleurs [23]. La rééducation musculaire pour le mouvement après un traumatisme peut également être assistée par des techniques de stimulation artificielles [24].

1.2.2 Méthodes de stimulation

Stimulation électrique

La méthode la plus ancienne et la plus classique de stimulation artificielle d'un neurone est d'utiliser une électrode ou une microélectrode pour venir perturber localement le potentiel, de façon directe [25, 26]. Cette méthode existe depuis le XIX^e siècle, et fut utilisée en 1870 par Fritsh et Hitzig [20]. Elle reste à l'heure actuelle la plus répandue et la mieux connue.

L'un des inconvénients de cette méthode est qu'elle nécessite d'interagir avec le tissu organique par contact. Cette interaction peut être à l'origine de dommages irréversibles, surtout dans le cas d'une stimulation prolongée [27–29].

Stimulation optique

Les méthodes de stimulation optiques pourraient apporter une solution alternative, en permettant d'exciter un neurone sans avoir besoin d'interagir directement avec le tissu organique. Plusieurs méthodes optiques existent aujourd'hui.

La première technique est la stimulation optique directe de neurones. Il s'agit de focaliser de la lumière afin de provoquer une réaction de la cellule. La première stimulation artificielle purement lumineuse est réalisée en 1971 par Fork sur un neurone photosensible [30]. Bien plus tard, dans les années 2000, d'autres résultats de stimulation optique par laser furent obtenus sur d'autres neurones comme des neurones du visage, des nerfs périphériques ou des neurones auditifs, à plusieurs longueurs d'onde différentes [31–36]. En général, la lumière infrarouge est utilisée et l'on parle de Neurostimulation Infrarouge (NSI). Cette technique offre une meilleure précision spatiale que les méthodes électriques et il semblerait que le phénomène physique à l'origine de la stimulation soit lié à l'absorption de lumière infrarouge par le tissu organique [31]. L'utilisation de la seule lumière en lieu et place d'une électrode invasive pourrait permettre de préserver le tissu des dommages provoqués par l'interaction électrique [37]. Toutefois, l'irradiation laser peut également provoquer des dommages, en fonction de la puissance utilisée et de la durée de l'irradiation [38, 39].

Une autre méthode optique est l'optogénétique [40, 41]. Il s'agit d'introduire du matériel génétique dans le neurone par transfection cellulaire, afin qu'une protéine sensible à la lumière y soit présente. Ainsi, lors de l'irradiation lumineuse du tissu organique traité, cette protéine réagit et déclenche une stimulation du neurone. Cette technique est donc plus complexe à réaliser *in vivo* et *in vitro* que la stimulation optique directe, puisqu'une manipulation génétique est nécessaire.

Stimulation optique assistée par nanoparticules

Depuis 2014, la NSI a été modifiée par l'ajout de particules microscopiques ou nanométriques en complément de l'irradiation lumineuse. Ces particules sont disposées à proximité de la membrane neuronale et irradiées par laser. Des microparticules de carbone [42], des nanoparticules magnétiques [43], des points quantiques [44], et des nanoparticules plasmoniques [10, 45–51] ont été utilisées. Nous appellerons SNAN (Stimulation de Neurones Assistée par Nanoparticules) ces techniques, en faisant surtout références aux méthodes employant des nanoparticules plasmoniques. En particulier, une expérience de SNAN a été réalisée à l'Institut universitaire en santé mentale de Québec dans le groupe de Paul De Konink, en collaboration avec le professeur Meunier, de l'École Polytechnique de Montréal [10]. L'article issu de cette collaboration, publié par Flavie Lavoie-Cardinal et al. [10] dans « Scientific Reports » en 2016, montre que sous l'effet d'une irradiation laser femtoseconde sur les nanoparticules plasmoniques, une augmentation significative de la concentration calcique intracellulaire a lieu, indicatrice d'une stimulation locale importante.

Malgré la nécessité d'introduire ces objets dans le milieu organique, ces méthodes semblent offrir des avantages par rapport à la NSI. Premièrement, les propriétés d'absorption thermique de ces particules pourraient permettre de produire un effet équivalent à la NSI, tout en diminuant la puissance d'irradiation nécessaire. Deuxièmement, un gain significatif en résolution spatiale pourrait être atteint en focalisant la lumière exclusivement sur les objets nanométriques en préservant le reste du milieu organique.

Un mécanisme incompris

Les mécanismes physiques à l'origine de la SNAN et de la NSI sont mal compris à l'heure actuelle [31–33, 52]. L'hypothèse la plus régulièrement proposée est celle qu'un chauffage localisé et transitoire provoque une perturbation de la membrane à l'origine de la stimulation [6, 33]. Des hypothèses basées sur des effets photomécaniques, photochimiques ont également été exposées [33]. L'existence d'un mécanisme commun à toutes les expériences de SNAN a même été mis en doute [53]. La complexité extrême et le grand nombre de mécanismes imbriqués dans le fonctionnement de la membrane cellulaire rendent difficile la proposition de modèles numériques pour évaluer la pertinence d'une hypothèse physique.

1.3 Objectifs du projet

Ce projet exploratoire tente d'apporter une contribution à la compréhension de mécanismes physiques à l'origine de la SNAN. Par une analyse théorique et à l'aide de simulations nu-

mériques, nous évaluerons la vraisemblance de différentes hypothèses qui ont été formulées jusqu'à aujourd'hui.

La connaissance du mécanisme physique responsable de la SNAN est un complément nécessaire aux résultats expérimentaux afin d'orienter les recherches futures, et, pourquoi pas, aboutir à une application pratique.

Nous étudierons donc différentes façons de modéliser mathématiquement un neurone, et simulerons l'impact de stimuli extérieurs sur ces modèles. En particulier, nous nous concentrerons sur l'hypothèse qu'un chauffage local issu de l'interaction entre la particule et le laser perturbe la membrane et provoque le phénomène de SNAN, en particulier pour comprendre les résultats de Lavoie-Cardinal et al. [10].

1.4 Plan du mémoire

Ce mémoire est divisé en trois parties. Nous présentons d'abord le cadre du problème posé afin de le placer dans son contexte, et de permettre au lecteur d'en comprendre les tenants et les aboutissants. Nous exposerons donc des éléments de théorie au sujet des neurones et de leur modélisation, avant de présenter les résultats récents des expériences de SNAN et de les commenter.

En second lieu, nous proposons des modèles théoriques et numériques pour tenter de répondre à la problématique proposée, en prenant pour hypothèse de base qu'un chauffage localisé est responsable du phénomène observé.

Enfin, nous discutons quelques autres hypothèses qui pourraient être considérées à l'avenir dans d'autres études, comme par exemple l'hypothèse d'un effet photomécanique pour expliquer la SNAN. Nous proposons par la suite des pistes futures pour continuer à améliorer les mécanismes physiques responsables du phénomène.

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

Afin de tenter de comprendre le mécanisme physique à l'origine de la stimulation de neurones assistée par nanoparticules, nous avons besoin de connaissances dans des domaines distincts. D'une part, nous avons besoin de modèles numériques pour prédire le fonctionnement global et local d'un neurone, d'un point de vue biophysique et électrique. D'autre part, nous devons être capables de modéliser le résultat physique de l'interaction entre les nanoparticules utilisées dans les expériences rapportées et la lumière laser

Cette revue de littérature présentera d'abord des éléments de théorie et de modélisation au sujet du fonctionnement électrique et biophysique d'un neurone. Ensuite, nous nous concentrerons sur les nanoparticules, qui sont au cœur de ce projet. Ceci sera nécessaire pour comprendre la dernière partie de la revue de littérature, qui présentera les expériences de Stimulation de Neurones Assistée par Nanoparticules (SNAN) qui ont été rapportées depuis quelques années. Nous y analyserons les mécanismes qui ont été proposés comme hypothèses pour expliquer les résultats de ces expériences.

2.1 Fonctionnement biophysique d'un neurone et modélisation

Pour comprendre ce que signifient les résultats des expériences de Stimulation de Neurones assistée par Nanoparticules (SNAN), nous avons besoin de comprendre plus en profondeur le fonctionnement biophysique et électrique d'un neurone. En particulier, nous avons besoin de savoir comment la membrane transmet des signaux électriques et ce qui peut la perturber de son état de repos.

Après avoir présenté quelques notions biologiques préliminaires au sujet des neurones, nous introduisons les briques de bases du fonctionnement biophysique de la membrane, à savoir les canaux ioniques et leur influence sur le potentiel de la membrane. Le potentiel de Nernst est un concept important qui caractérise l'état de stabilité ou d'instabilité de ce potentiel.

Nous exposons ensuite les méthodes de modélisations des neurones, d'un point de vue global avec la distribution spatiale et temporelle du potentiel, et local avec les canaux ioniques. Enfin, nous évoquons quelques outils couramment utilisés pour construire des modèles numériques neuronaux.

Les deux premières sous-sections, plutôt qualitatives, sont nécessaires pour comprendre les enjeux et résultats des expériences de SNAN. La seconde sous-section, concentrée sur la modélisation mathématique, est quant à elle utile pour comprendre les méthodes mises en

place pour répondre à la problématique dans la suite de ce travail.

2.1.1 Introduction au fonctionnement biophysique des neurones

Nous proposons ici une description générale de différents aspects biologiques des neurones, afin d'illustrer leur fonctionnement global.

Notions de bases concernant les neurones et vocabulaire

Un neurone est constitué de plusieurs parties, ayant des rôles distincts. Une représentation schématique d'un neurone est proposée sur la figure 2.1.

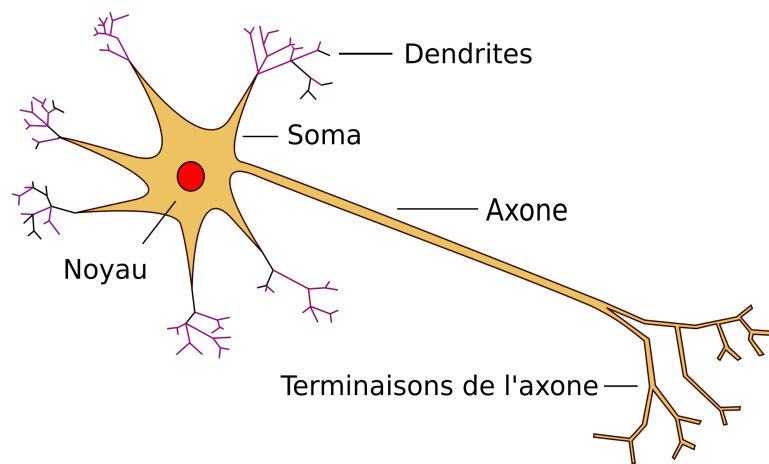


Figure 2.1 Représentation simple des différentes parties d'un neurone

Les propriétés sommaires de ces différentes parties sont les suivantes :

- Le *soma* est la partie centrale du neurone, entourant le noyau de la cellule.
- Les *dendrites* sont des prolongements du corps cellulaire. Ces prolongements sont ramifiés. Les extrémités des dendrites sont en contact avec d'autres neurones, par le biais de *synapses*. Cela leur permet de recevoir des influx électriques, qui peuvent avoir différents effets au niveau du dendrite, comme un effet électrique ou un effet chimique.
- L'*axone* est un prolongement de la cellule. C'est le long de l'axone que peut se propager la perturbation électrique, dans certaines conditions. L'amplitude maximale de cette perturbation électrique est de l'ordre de 100 mV. Si elle atteint cette valeur, on parle de Potentiel d'Action (PA). L'axone transmet alors ce potentiel d'action, *a priori* depuis le soma vers l'autre extrémité du neurone. Dans le système périphérique, plusieurs axones de différents neurones peuvent être regroupés pour former des *nerfs*.

- Les *terminaisons de l'axone* sont également ramifiées et transmettent l'information à un autre neurone, une fois encore grâce à de nombreux synapses.

La membrane sépare des milieux ioniques de concentrations différentes

Intéressons nous de plus prêt à la membrane du neurone, qui sera le principal objet d'étude de ce mémoire. Elle sépare deux solutions, à savoir le milieu intracellulaire et le milieu extracellulaire. Ces deux milieux sont peuplés d'ions, à des concentrations différentes. Les espèces ioniques qui jouent un rôle électrique et biophysique importants sont les ions sodium Na^+ , potassium K^+ , calcium Ca^{2+} , et chlorure Cl^- . Au repos, les ions Na^+ , Ca^{2+} , et Cl^- sont plus concentrés à l'extérieur de la cellule, tandis que les ions K^+ sont plus concentrés à l'intérieur de la cellule. L'épaisseur de la membrane neuronale est typiquement de l'ordre de 5 nanomètres. Le rayon de l'axone est typiquement de l'ordre de la dizaine de micromètres.

Comme les autres membranes biologiques, la membrane du neurone est constituée d'une bicouche lipidique, *a priori* imperméable aux différentes espèces ioniques, comme représenté à la figure 2.2.

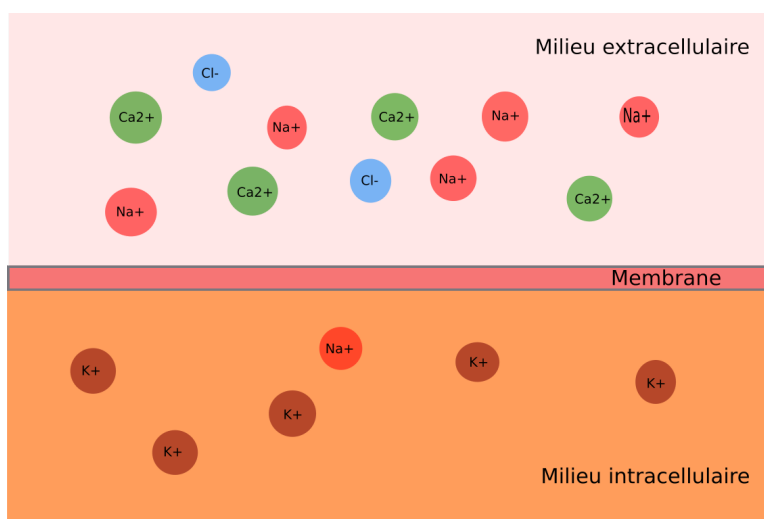


Figure 2.2 Les espèces ioniques sont présentes à différentes concentrations à l'intérieur et à l'extérieur du neurone

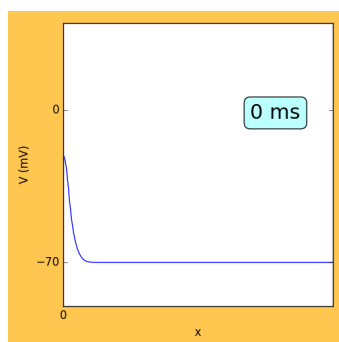
La perturbation électrique est liée à la perméabilité de la membrane

La différence de concentration des espèces ioniques de part et d'autre de la membrane est à l'origine de forts gradients de concentration, en plus du gradient électrique dû à la présence d'une différence de potentiel de part et d'autre de la membrane.

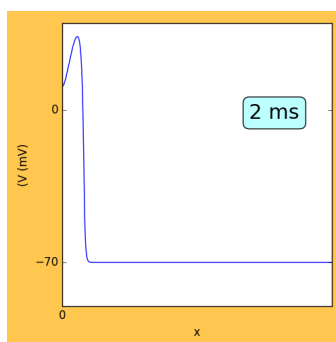
En réalité, dans certaines conditions, la membrane permet à certains ions de passer d'un milieu à l'autre. Cette capacité de la membrane à laisser passer certains ions sélectivement, en fonction des conditions (électriques par exemple), est d'une importance capitale. En effet, le transport d'ions de part et d'autre de la membrane est lié aux variations locales du potentiel de celle-ci. Le transport des ions et le potentiel de la membrane sont deux propriétés directement intriquées.

Si la différence de potentiel s'élève au dessus de sa valeur de repos, il s'agit d'une *dépolarisation*. Dans le cas contraire, c'est une *hyperpolarisation*.

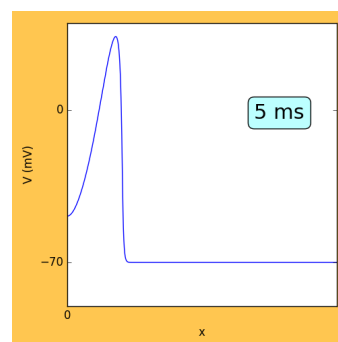
Si la dépolarisation est supérieure à un certain seuil, elle continue de s'amplifier jusqu'à une valeur maximale et se propage le long de l'axone avec une amplitude constante : c'est un *potentiel d'action*. Ce concept, caractéristique et essentiel dans le fonctionnement du système nerveux, est illustré à la figure 2.3 pour un modèle unidimensionnel simple. On parle de procédé « tout ou rien » : si l'amplitude d'une dépolarisation est suffisante, elle continue de s'amplifier et se propage sans perte d'intensité. Sinon, le potentiel revient à sa valeur de repos sans transmission de la perturbation.



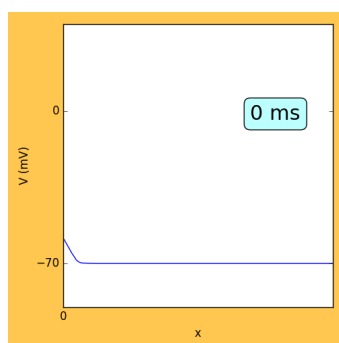
(a) Dépolarisation initiale de 50 mV (distribution spatiale initiale).



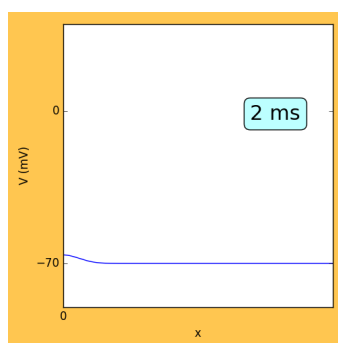
(b) L'amplitude de la dépolarisation augmente jusqu'à une valeur maximale.



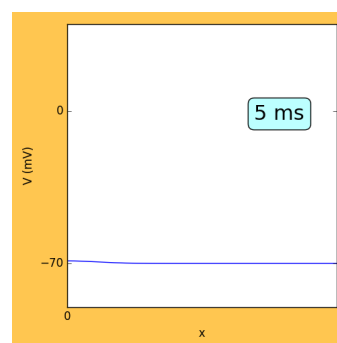
(c) La dépolarisation se propage sans perte d'amplitude : c'est un potentiel d'action.



(d) Dépolarisation initiale plus faible.



(e) La dépolarisation s'atténue et ne se propage pas.



(f) La membrane revient au potentiel de repos.

Figure 2.3 Illustration du concept de potentiel d'action, un procédé « tout ou rien ». Les images présentées ici sont issues d'un modèle numérique dont nous présenterons les détails plus loin dans ce mémoire, le modèle de Hodgkin-Huxley. L'ordre de grandeurs de x dépend directement du modèle numérique utilisé. Il peut être de l'ordre du millimètre ou du centimètre.

2.1.2 Potentiel électrique, canaux ioniques et potentiel de Nernst

Potentiel électrique membranaire et canaux ioniques

La différence de potentiel entre les deux côtés de la membrane neuronale est essentielle pour d'innombrables procédés biophysiques. Sa perturbation est liée au déclenchement de nombreux phénomènes intriqués et permet à la cellule de fonctionner. Dans le cas des neurones, une dépolarisation de la membrane peut, dans certaines situations, se propager sans perte d'amplitude et transmettre de l'information, c'est un potentiel d'action.

Les canaux ioniques sont au cœur de toutes les perturbations du potentiel de la membrane.

Le passage d'ions d'un côté à l'autre de la membrane perturbe la distribution instantanée de charge dans le milieu, et modifie alors le potentiel électrostatique. C'est pourquoi il nous est nécessaire de comprendre plus profondément le fonctionnement de ces protéines transmembranaires.

Transport actif et passif

Comme nous l'avons vu en introduction, la membrane d'un neurone sépare deux solutions ioniques de concentration différentes, ainsi qu'illustré à la figure 2.2. En réalité, dans certaines situations, la membrane peut devenir perméable à certains ions. Ils peuvent alors la traverser en passant par des protéines membranaires. Ces protéines peuvent être de deux types :

- Les *canaux ioniques* sont au repos en position « fermée » et sont donc imperméables aux ions. Mais dans certaines conditions, ils peuvent changer de configuration pour laisser passer, sélectivement ou non, certaines espèces ioniques, qui se déplacent selon les lois de la diffusion et suivant le gradient électrique. On parle de *transport passif*. La figure 2.4 illustre un canal ionique sélectif à une certaine espèce ionique.
- Les *pompes ioniques* sont une autre famille de protéines qui peuvent faire passer un ion d'un côté à l'autre de la membrane, contre le gradient de concentration et en dépensant de l'énergie. On parle alors de *transport actif*.

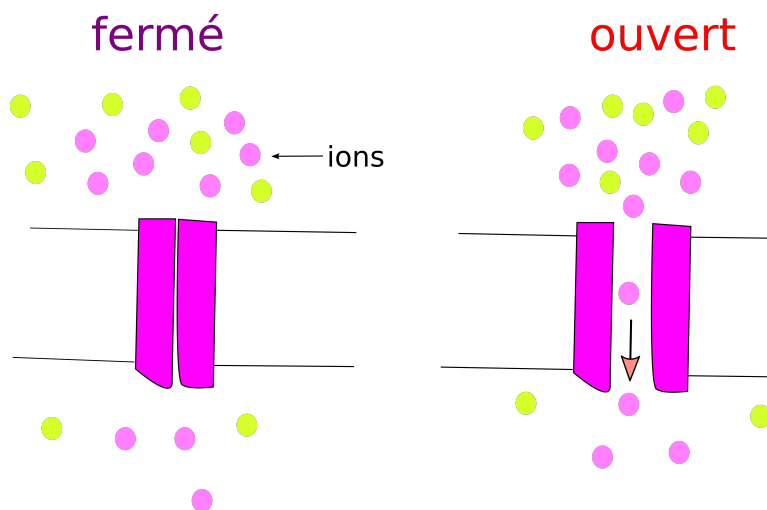


Figure 2.4 Illustration d'un canal ionique. Lorsque le canal est en position ouverte, les ions d'une certaine type peuvent passer d'un côté à l'autre de la membrane par diffusion. Sinon, la membrane est imperméable à ces ions.

Déséquilibre thermodynamique et potentiel de Nernst

Lorsqu'un canal ionique est en position ouverte, certains ions passent d'un côté à l'autre de la membrane du neurone par diffusion. Cependant, le nombre d'ions qui traversent la membrane n'est pas le même dans les deux sens. En effet, à l'ouverture du canal, nous allons voir que le système est *hors-équilibre*, et que par conséquent les ions diffusent majoritairement dans un sens ou dans l'autre, en fonction de l'espèce ionique, en minimisant l'énergie du système.

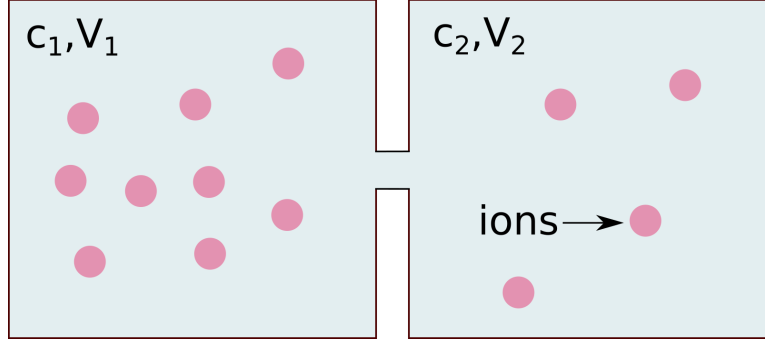


Figure 2.5 Illustration du concept de potentiel de Nernst à l'équilibre. Lorsqu'une espèce ionique est présente à des concentrations différentes des deux cotés de la membrane, le potentiel de Nernst maintient cet équilibre en compensant le gradient chimique par un gradient électrique.

Pour chaque espèce ionique présente dans la solution cellulaire, nous pouvons définir un *potentiel de Nernst*. Ce dernier est un potentiel fictif qui garantirait un équilibre thermodynamique dans la situation idéale que nous décrivons ci-dessous. Comme nous allons le voir, il peut être calculé en fonction des concentrations.

Imaginons, comme illustré à la figure 2.5, une situation d'équilibre thermodynamique où une espèce ionique serait présente dans deux milieux séparés par une membrane, percée par un trou permettant le passage d'ions dans les deux sens. Dans le milieu 1 et le milieu 2, de potentiels électriques respectifs V_1 et V_2 , l'espèce ionique est présente respectivement en concentration c_1 et c_2 . Si la valence de l'ion est z , en notant e la charge élémentaire et en considérant l'énergie liée au potentiel électrostatique, l'énergie de l'ion dans les milieux 1 et 2 sera donc respectivement zeV_1 et zeV_2 . En considérant une statistique de Boltzmann, les probabilités respectives de trouver un ion dans le milieu 1 ou 2, p_1 et p_2 sont données par :

$$p_{1,2} = \frac{1}{Z} e^{-\frac{zeV_{1,2}}{k_B T}} \quad (2.1)$$

Où k_B est la constante de Boltzmann et T la température. À l'équilibre, les concentrations

des ions dans chaque milieu sont proportionnelles aux probabilités de les trouver dans le milieu. Ainsi, nous pouvons écrire que :

$$\frac{c_1}{c_2} = \frac{e^{-\frac{zeV_1}{k_B T}}}{e^{-\frac{zeV_2}{k_B T}}} \quad (2.2)$$

En appliquant le logarithme à cette équation, nous obtenons l'équation de Nernst :

$$V_2 - V_1 = \frac{k_B T}{ze} \ln \frac{c_1}{c_2} \quad (2.3)$$

Nous voyons que l'équation de Nernst, valable à l'équilibre, caractérise la compensation des effets entropiques et des effets électriques. A partir des concentrations des espèces ioniques dans et à l'extérieur de la cellule, nous pouvons donc calculer un potentiel de Nernst pour chaque espèce ionique. Nous donnons des valeurs usuelles dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 Valeurs de potentiels de Nernst pour les espèces ioniques usuelles [1]

Ion	Concentration intracellulaire (mM)	Concentration extracellulaire (mM)	Potentiel de Nernst (mV)
Na^+	12	145	67
K^+	155	4	-98
Ca^{2+}	5^{-5}	1.5	130
Cl^-	4	120	-90

Au repos, le potentiel de la membrane est de l'ordre de -70 mV. On en déduit que si la membrane est perméable à un ion, celui-ci n'est a priori pas à l'équilibre. Il va donc diffuser et entraîner une modification du potentiel de la membrane pour faire tendre celui-ci vers son propre potentiel de Nernst. Par exemple, si les canaux perméables au sodium s'ouvrent, le potentiel de la membrane va se rapprocher du potentiel de Nernst du sodium, qui est de 67 mV selon les valeurs du tableau 2.1. Il s'agit d'une *dépolarisation*. Si tous les canaux sont ouverts, il y aura un équilibrage du potentiel et des concentrations ioniques. Cette situation est appelée *équilibre de Donnan*.

Ouverture des canaux ioniques et des pompes ioniques

Comme nous l'avons vu, l'ouverture ou la fermeture des canaux ioniques et l'activation des pompes ioniques jouent un rôle déterminant dans le fonctionnement du neurone, puisque de leur ouverture ou fermeture résultent des conséquences sur la diffusion des ions et la valeur

du potentiel de la membrane. Or, il existe plusieurs centaines de types de canaux ioniques et de pompes ioniques, aux propriétés différentes. En fonction de l'espèce biologique, de la cellule, ou même de l'emplacement sur la cellule, les canaux ioniques peuvent appartenir à l'une ou plusieurs de ces différentes familles, avec une densité variable [68].

Les canaux ioniques peuvent s'ouvrir pour plusieurs raisons. Afin de ne pas compliquer inutilement notre propos, nous ne donnerons pas d'équation mathématique gouvernant leur comportement dans cette partie, car nous souhaitons surtout illustrer la variété des différentes familles de canaux ioniques. Les principaux types de canaux ioniques sont les suivants :

- Les canaux sensibles au **potentiel** ont une probabilité d'ouverture et de fermeture directement dépendante du potentiel de la membrane. Ces canaux sont notamment essentiels dans la propagation d'une dépolarisation, et donc d'un potentiel d'action le long de l'axone.
- D'autres canaux réagissent à des effets **mécaniques**, comme par exemple la propagation d'une onde de pression de long de la membrane [69–71].
- D'autres canaux réagissent à la fixation d'un ligand sur la molécule [72].
- Certains canaux sont sensibles à la **température** [8, 73–75]. Ces canaux sont liés à la perception de la chaleur et du froid, et peuvent aussi jouer un rôle dans le goût [76].
- Enfin, certains canaux réagissent à la suite d'une réaction biochimique.

Expérimentalement, il est assez courant d'utiliser des enzymes pour empêcher les canaux ioniques de suivre leur comportement habituel, en inhibant ainsi leur activité [49]. Ce blocage de canal ionique est souvent utile pour analyser l'importance d'un type de canal dans une expérience.

Il est important de noter que la plupart du temps, un canal ionique est sensible à plusieurs effets simultanément. Par exemple, il peut être sensible à la température ainsi qu'au potentiel [8], ou à une contrainte mécanique et au potentiel [70, 77]. Souvent, la probabilité d'ouverture d'un canal ionique peut être modélisée à l'aide d'arguments thermodynamiques et de considérations énergétiques [70].

La densité de répartition des canaux ioniques sur la membrane est très variable en fonction du neurone et même en fonction de l'emplacement considéré sur le neurone. A titre d'exemple, Arhem et al. [78] rapportent une densité de l'ordre de 5 canaux à sodium par μm^2 dans le soma d'un neurone du système nerveux central de rat, et une densité de 150 canaux par μm^2 dans l'axone.

Au niveau moléculaire, le fonctionnement des protéines que sont les canaux ioniques est d'une très grande complexité. De nombreux aspects de l'ouverture et de la fermeture des canaux

sont encore inconnus et font l'objet de recherches fondamentales très actives, à l'échelle de la molécule [79–81]. Le principe général est que les protéines sont dans la configuration qui minimise leur énergie. Or, cette énergie est très complexe à quantifier numériquement et dépend de nombreux facteurs physiques internes et externes à la protéine [3]. Par exemple, l'activation d'un canal ionique par le potentiel ou par la fixation d'un ligand est mieux comprise que l'activation par la température [82].

2.1.3 Canaux ioniques thermosensibles

Nous présentons ici l'état des connaissances au sujet des canaux ioniques thermosensibles. En effet, nous nous intéresserons tout particulièrement à ces canaux dans la suite de ce travail, dans le but de comprendre la stimulation neuronale assistée par nanoparticules.

Revue qualitative des canaux à calcium

Nous analysons ici des données connues sur le fonctionnement de canaux ioniques à calcium, c'est à dire les canaux qui laissent pénétrer du calcium dans la cellule une fois ouverts. En effet, dans les expériences de Stimulation de Neurones Assistée par Nanoparticules (SNAN), un influx de calcium est souvent observé.

Deux familles de canaux ioniques sont pertinentes pour notre problématique : la famille Cav (Calcium Voltage Activated) et la famille TRP (Transient Receptor Potential).

Famille Cav et température La famille Cav est une famille de canaux ioniques perméables au calcium [2, 83, 84]. Comme la très grande majorité des canaux ioniques, leur ouverture est contrôlée par le potentiel de la membrane parmi d'autres facteurs. La base de données « Guide to pharmacology » [85], rassemble de nombreuses connaissances sur les canaux ioniques. Elle nous permet par exemple d'inspecter le *potentiel d'activation* des différentes familles de canaux. Le potentiel d'activation correspond au potentiel pour lequel la probabilité d'ouverture du canal est de $\frac{1}{2}$.

Les canaux de la famille Cav pourraient être impliqués dans les phénomènes de SNAN, car ils sont présents dans certaines parties du cerveau impliquées dans ces expériences, comme le ganglion dorsal ou l'hippocampe du rat. On peut les diviser en deux sous-familles : les canaux High Voltage Activated (HVA) (ou « L-type »), qui s'activent pour des potentiels relativement dépolarisés, et donc loin du potentiel de repos de la membrane, et les canaux LVA (ou « T-type »), qui peuvent s'activer pour des potentiels plus faibles. En particulier, les canaux de la famille LVA pourraient avoir un rôle car leur activation a lieu pour des potentiels proches du

potentiel de la membrane (qui est de l'ordre de -65 mV en fonction de la cellule). Le tableau A.1 en annexe A rassemble davantage d'informations au sujet de cette famille.

Iftinca et al. [2] ont montré que la température a une influence directe sur le potentiel d'activation de ces canaux. Le tableau 2.2 présente les résultats obtenus pour les canaux de la famille Cav LVA pour des neurones de rats.

Tableau 2.2 Dépendance en température des potentiels d'activation (V_a) pour les canaux Cav de type LVA (Low Voltage Activated). Les données sont tirées de [2].

Canal	V_a (mV) $T = 21^\circ\text{C}$	V_a (mV) $T = 37^\circ\text{C}$
Cav3.1	-52.4	-60.5
Cav3.2	-42.9	-51.5
Cav3.3	-29.9	-73.5

Nous voyons donc qu'un chauffage a tendance à diminuer le potentiel d'activation de ces canaux. Par conséquent, cela est équivalent à dire que pour un potentiel de la membrane donné, un chauffage augmente leur probabilité d'activation. Autrement dit, un plus grand nombre de canaux de la famille Cav de type LVA aura tendance à s'ouvrir avec un chauffage. Il est donc possible que ces derniers soient impliqués dans l'influx de calcium caractéristique de certaines expériences de SNAN.

Famille TRP Les canaux de la famille TRP (Transient Receptor Potential) sont au coeur du système senseur et peuvent réagir à différents types de stimuli, comme les stimuli thermiques, mécaniques ou chimiques [3, 86–88]. Si le mécanisme exact contrôlant l'ouverture ou la fermeture est encore mal compris, les propriétés d'ouverture et de fermeture de ces canaux sont activement étudiées [89–92].

La famille TRP est en réalité une « superfamille » de canaux, qui contient plusieurs sous-familles. Les familles Transient Receptor Receptor Vanilloid (TRPV) et Transient Receptor Receptor Melastatine (TRPM) sont deux d'entre elles. Par exemple, le canal TRPV1 est connu pour s'activer lorsque la température dépasse 43°C [8]. C'est donc un excellent candidat pour les expériences de SNAN puisque cette température est, selon nos calculs, atteinte localement pour une irradiation suffisamment puissante, comme nous le verrons dans la suite de ce travail. Au contraire, le canal TRPM8 s'active lors d'un refroidissement par rapport aux conditions physiologiques, lorsque la température est inférieure à 28°C [8]. Ces valeurs peuvent dépendre d'autres grandeurs physiques, comme par exemple le pH. Le tableau 2.3 regroupe quelques valeurs numériques pour différents canaux de la famille TRP.

Tableau 2.3 Activation pour la famille TRP. Les données sont issues de [3]. La troisième colonne indique la sélectivité du canal pour les ions. $P_{Ca^{2+}} > P_{Na^{+}}$ signifie que le canal favorise le passage des ions Ca^{2+} par rapport aux ions Na^{+}

Canal	Activateur physique	Ions	Cellules
TRPV1	V=0mV, chaleur : 43 °C	$P_{Ca^{2+}} > P_{Na^{+}}$	DRG & cerveau du rat
TRPV4	Chaleur 28 °C, stimulation mécanique	$P_{Ca^{2+}} > P_{Na^{+}}$	Cerveau du rat
TRPV2	Chaleur 35 °C	$P_{Ca^{2+}} \simeq P_{Na^{+}}$	DRG & cerveau du rat
TRPC1	Étirement de la membrane	$P_{Ca^{2+}} \simeq P_{Na^{+}}$	Cerveau du rat & Hippocampe CA3
TRPC5	Étirement de la membrane	$P_{Ca^{2+}} \simeq P_{Na^{+}}$	Hippocampe et cerveau du rat
TRPA1	Refroidissement < 18 °C	$P_{Ca^{2+}} \simeq P_{Na^{+}}$	DRG de la souris, cerveau du rat
TRPM8	V=50mV, refroidissement < 24 °C	$P_{Ca^{2+}} \simeq P_{Na^{+}}$	DRG du rat

2.1.4 Modélisation mathématique et outils

Nous présentons maintenant les méthodes de modélisation des différents éléments de la membrane du neurone. Nous irons du global au local : de la modélisation du potentiel électrique de la membrane aux canaux ioniques. Enfin, nous présentons quelques outils couramment utilisés par la communauté des chercheurs en neurosciences.

Modélisation du potentiel membranaire

Plusieurs modèles existent pour représenter la distribution spatiale et temporelle du potentiel neuronal. Ces modèles sont constitués d'équations aux dérivées partielles. Nous présentons deux méthodes courantes de niveau de complexité et de détail très différent : l'équation du câble et les équations de Poisson-Nernst-Planck.

L'équation du câble : un modèle unidimensionnel La modélisation la plus simple du potentiel de la membrane est unidimensionnelle et fait intervenir l'équation du câble. Utilisée dans le modèle historique de Hodgkin et Huxley [93], c'est une équation aux dérivées partielles qui peut être dérivée en considérant que la membrane est constituée d'un grand nombre de circuits électriques élémentaires, constituée de capacités et de résistances en série. On conçoit alors le potentiel comme distribué le long d'un axe, sur lequel on se repère par x .

Cet axe peut par exemple représenter l'axone. L'équation s'écrit :

$$\frac{a}{2R} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} - C \frac{\partial V}{\partial t} = I \quad (2.4)$$

Dans l'équation 2.4, a désigne le rayon de l'axone, R désigne la résistance spécifique de l'axoplasme (qui est le cytoplasme présent à l'intérieur du neurone), en $\Omega.cm$. C désigne la capacité surfacique de la membrane. Enfin, I désigne le courant traversant la membrane, qui dépend de la position et du temps. Des valeurs typiques pour les différents paramètres sont présentées dans le tableau 2.4. Une dérivation de l'équation du câble à partir de circuits élémentaires peut être trouvée dans [1].

Tableau 2.4 Valeurs des paramètres de l'équation du câble utilisés en neurophysiologie pour le modèle originel du calamar géant [4]

Paramètre	Signification	Valeur	Unité
a	rayon de l'axone	0.238	mm
R	capacité surfacique de la membrane	1	$\mu F/cm^2$
C	résistance spécifique de l'axoplasme	35.4	Ωm

Équations de Poisson-Nernst-Planck et électrodifusion Dans le cadre de la théorie de Poisson-Nernst-Planck, on modélise non seulement le potentiel membranaire, mais aussi la distribution de charges dans les milieux intracellulaire et extracellulaire [68]. D'une part, le potentiel électrostatique est représenté par l'équation de Poisson. D'autre part, le déplacement des ions est modélisé à l'aide du gradient thermodynamique, qui est la somme du gradient chimique résultant des différences spatiales de concentration, et du gradient électrique résultant de la distribution non uniforme du champ électrique : c'est l'équation de Nernst-Planck.

Ce cadre de travail a été utilisé pour modéliser la génération de potentiels d'actions dans des neurones [94–96], dans une géométrie équivalente à une représentation à trois dimensions. En modélisant par exemple l'axone comme un cylindre, Pods tire partie de la symétrie axiale pour réduire drastiquement le nombre de degrés de liberté et avoir un modèle numérique à deux dimensions, représentant une géométrie à trois dimensions [95, 96].

Modélisation du courant transmembranaire Deux méthodes principales existent pour modéliser le courant transmembranaire : la loi d'Ohm et l'équation de Goldman-Hodgkin-

Katz. La première méthode est la plus simple. Le courant est alors une simple somme de courants ohmiques, correspondant à chaque type d'ion, et dont la différence de potentiel dépend directement du potentiel de Nernst de cet ion :

$$I = \sum_{i=1}^n g_i (V - V_{Nernst}^i) \quad (2.5)$$

L'indice i désigne l'espèce ionique considérée, qui peut typiquement être Na^+ ou K^+ , et g_i est la conductance de la membrane pour l'ion considéré. Cette conductance dépend de façon non triviale des grandeurs du problème, comme le potentiel, la température, ou la présence de ligand. Dans les cas les plus simples de simulation de potentiels d'action, la conductance dépend uniquement du potentiel membranaire.

Il existe une autre façon de modéliser le courant transmembranaire, l'équation de Goldman-Hodgkin-Katz (GHK). En plus du potentiel de la membrane, celle-ci prend en compte la différence entre la concentration intracellulaire et extracellulaire, ainsi que l'agitation thermique. Dans le cas de très fortes différences de concentration entre les deux côtés de la membrane, il est nécessaire de prendre en compte cet effet car le gradient thermodynamique ne peut pas être négligé. Cette équation est présentée à l'annexe B. Elle permet une interprétation physique plus rigoureuse.

Nous constatons que pour compléter la modélisation neuronale afin de disposer du courant transmembranaire instantané, nous devons quantifier la conductance de la membrane, ou de façon équivalente, sa perméabilité dans le cadre de l'équation GHK. C'est pourquoi nous nous tournons désormais vers la modélisation des canaux ioniques, dont nous n'avons pas encore présenté la modélisation.

Modélisation des canaux ioniques

Au même titre que les neurones forment une famille hétérogène de cellules, les canaux ioniques forment une famille hétérogène de protéines transmembranaires, comme nous l'avons vu dans la sous-section précédente. La modélisation mathématique des canaux ioniques est un vaste domaine, dont le progrès est conjoint avec le progrès des techniques de visualisation des protéines et des progrès des connaissances en biologie moléculaire et en génétique. Nous présentons ici les familles de modèles pour les canaux ioniques, en allant du plus simple (modèle de Hodgkin-Huxley), vers les modèles les plus complexes (modèles continus).

Le point commun entre ces modèles est de considérer qu'un canal ionique peut être dans plusieurs états, qui correspondent à plusieurs configurations de la protéine. Certains de ces états

sont conducteurs et laissent passer des ions, tandis que les autres ne sont pas conducteurs. La question est alors de modéliser les transitions possibles entre ces états, en lien avec la conception physique de ce que signifie cette transition. Dans tous les cas, l'objet à modéliser et à quantifier est la *probabilité d'ouverture* du canal.

Modèles de Hodgkin-Huxley Le modèle le plus ancien est le modèle historique de Hodgkin et Huxley (HH) [93]. Le mécanisme physique proposé par Hodgkin et Huxley est que le canal contient différents compartiments qui peuvent être en position active ou au repos. Ces compartiments peuvent être vus comme des portes pour les ions, et toutes les portes doivent être ouvertes pour que le canal soit conducteur. La fraction des portes ouvertes, par exemple notée n (avec $0 \leq n \leq 1$), est alors sujette à une équation différentielle d'ordre 1, de la forme :

$$\frac{dn}{dt} = \alpha(1 - n) - \beta n \quad (2.6)$$

Les taux de transition α et β dépendent du potentiel de façon non linéaire. Pour les obtenir, Hodgkin et Huxley fixent le potentiel de la membrane, mesurent le courant transmembranaire et en déduisent la forme de ces fonctions. Il s'agit donc d'une procédure totalement empirique pour correspondre aux résultats observés. Un exemple dans le cas de l'axone de calamar géant est $\alpha = 0.01 \frac{V+10}{\exp(\frac{V+10}{10})-1}$.

Le nombre de portes dépend du canal considéré. Dans le cas du canal à sodium, la fraction de canaux ouverts est représentée par quatre portes de même type, et s'écrit n^4 . Dans le cas du potassium, il y a trois portes d'un certain type, dont la statistique est notée par m et une porte d'un autre type, dont la statistique est notée par p . La fraction de canaux à potassium ouverts est alors m^3p .

Une hypothèse centrale de ce modèle est l'indépendance entre les différentes portes. En effet, puisqu'on considère que la probabilité que le canal soit ouvert est le produit des probabilités que les différentes portes soient ouvertes, il est nécessaire mathématiquement de faire cette hypothèse. Nous verrons plus bas que cette hypothèse est souvent invalide.

Les modèles de type HH sont flexibles et leurs paramètres peuvent être obtenus dans de nombreuses configurations expérimentales pour reproduire le comportement du neurone. Ils restent aujourd'hui très populaires pour les modèles globaux de membrane, et permettent de reproduire le comportement de neurones ainsi la propagation de potentiels d'action dans bien des cas [7].

Le fait que les taux de transition comme α soient obtenus de façon totalement expérimentale reste un défaut majeur du modèle. Les modèles plus complexes apportent des éléments pour

compenser ce défaut.

Modèles thermodynamiques Les modèles thermodynamiques apportent une amélioration au niveau des taux de transition comme α . On considère toujours des portes comme dans les modèles de Hodgkin-Huxley, mais dans ce contexte, leur forme n'est pas déterminée de façon totalement expérimentale. Elle est plutôt déduite de considérations thermodynamiques, basées sur la différence d'énergie entre les différents états des canaux [5]. La théorie des taux de réaction d'Eyring postule que le taux de transition entre deux états séparés par une différence d'énergie libre ΔG s'écrit [97] :

$$k = \frac{k_B T}{h} \exp\left(-\frac{\Delta G}{RT}\right) \quad (2.7)$$

Où k_B est la constante de Boltzmann, h la constante de Planck, T la température et R la constante des gaz parfaits. Dans ce cadre, l'énergie libre de transition est souvent exprimée en fonction du potentiel (par abus de langage, on désigne désormais par « potentiel » la différence de potentiel entre les deux côtés de la membrane). Dans le cas le plus simple, on considère qu'elle en dépend linéairement, sous la forme $\Delta G = A + BV$, où les coefficients A et B doivent être déterminés expérimentalement afin de reproduire le comportement observé du canal. Souvent, on considère qu'un canal ionique dépendant du potentiel possède un compartiment chargé, impliqué dans le processus de détection du potentiel [98]. Une dépendance linéaire peut alors s'interpréter physiquement comme la contribution de cette charge se déplaçant dans le champ électrique de la membrane.

Toutefois, une dépendance non linéaire peut être également incluse [5]. On interprète alors les termes non linéaires comme pouvant représenter des contributions plus complexes à l'énergie libre de transition, comme par exemple une force de rappel due au champ électrique.

Les modèles thermodynamiques de Hodgkin-Huxley sont moins courants que les modèles de Hodgkin-Huxley standards. Cependant, ils offrent un cadre plus proche d'une interprétation physique du mécanisme d'ouverture et de fermeture des canaux. Leur performance peut être très satisfaisante pour reproduire des courants ioniques, comme dans le travail de Destexhe pour les ions calcium et des canaux T-type [5]. Dans ce cas, le modèle linéaire a une performance bien inférieure aux modèles non linéaires, qui permettent de reproduire des caractéristiques physiques des canaux comme la saturation des taux de transition.

Modèles de Markov Les modèles de Markov sont une généralisation des modèles de type Hodgkin-Huxley [9, 99–103]. Dans ce cadre, on considère que le canal peut occuper différents

états, et on propose une structure qui connecte les états entre eux. En général, un état ne peut pas être atteint depuis tous les autres états, mais seulement depuis ceux auxquels il est connecté dans le graphe de transition. Il s'agit de la principale différence de principe par rapport aux modèles de types Hodgkin-Huxley : les états qui peuvent être occupés par le canal dépendent de l'état courant. Cela contredit l'hypothèse d'indépendance effectuée dans le cadre de Hodgkin et Huxley, où les portes de type m et les portes de type h sont indépendantes. Or, pour plusieurs canaux ioniques, cette hypothèse n'est pas vérifiée, puisque l'état ouvert peut être atteint seulement depuis certains états, mais pas par tous [102].

La figure 2.6 présente deux exemples de modèles de Markov. Le cas de figure le plus simple est un modèle à deux états : un état ouvert et un état fermé. Dans ce cas, le modèle ne comporte que deux taux de transition. Une autre possibilité est une structure à quatre états, avec un état ouvert accessible seulement depuis un seul des états fermés.

La proposition d'un modèle de Markov pour reproduire et interpréter le comportement d'un canal ionique est un processus complexe. Il faut d'abord proposer une *structure*, c'est-à-dire un ensemble d'états pour le canal. Le nombre d'états peut être arbitrairement grand, mais le nombre de paramètres à déterminer (qui interviennent dans les taux de transitions entre les états) augmentera drastiquement si on augmente le nombre d'états possibles pour le canal. Il faut donc en général se limiter à un nombre d'états raisonnable (le plus souvent inférieur à 10). Il faut également déterminer la connectivité entre les états. Afin de réduire le nombre de paramètres libres, on a alors tout intérêt à supposer que les taux de transition entre certains états sont nuls. Des arguments physiques et des considérations moléculaires sont souvent utiles pour orienter la proposition des structures des modèles de Markov.

Une fois la structure posée, il faut déterminer les taux de transition. Quelle que soit leur forme, qu'ils soient constants ou dépendant de grandeurs physiques comme le potentiel ou la température, ils contiennent le plus souvent des paramètres libres. Les paramètres optimaux sont obtenus en maximisant la correspondance entre les prédictions du modèle et les données expérimentales, comme par exemple la distribution du temps d'ouverture d'un canal [103]. On utilise alors des algorithmes d'optimisation comme la descente de gradient, et des critères d'optimalité comme la log-vraisemblance, qui est un critère mathématique permettant de comparer la qualité des paramètres obtenus pour reproduire les résultats [104].

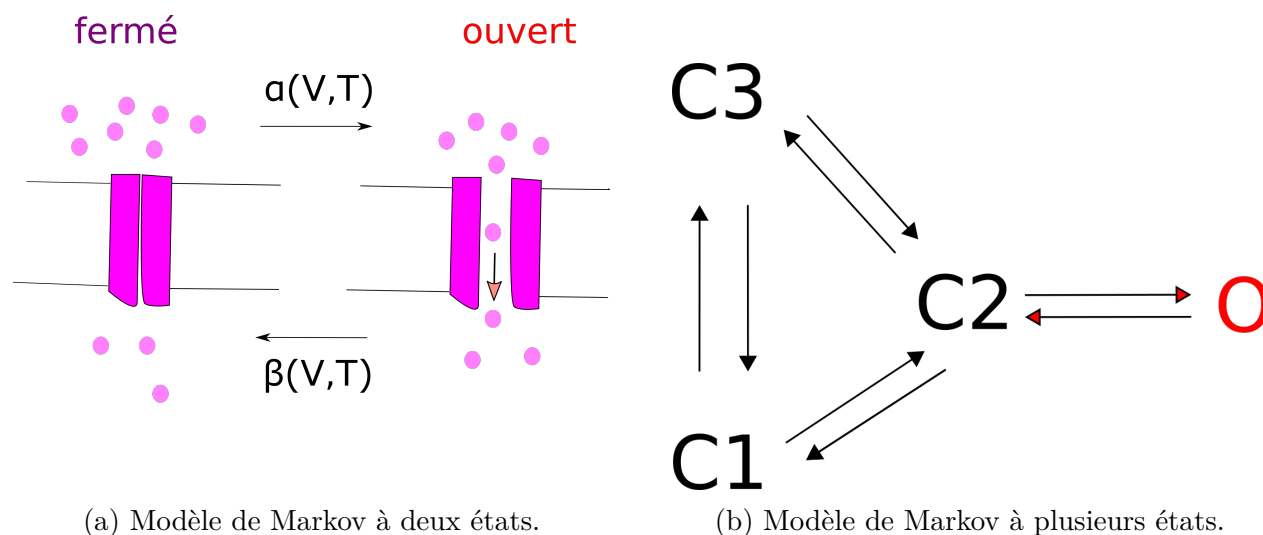


Figure 2.6 Modèles de Markov. 2.6a présente un état ouvert et un état fermé. Les taux de transition peuvent par exemple être exprimés de façon thermodynamique en fonction du potentiel V et de la température T . 2.6b présente un modèle de Markov comportant trois états fermés (C1, C2, et C3) et un seul état ouvert (O). L'état ouvert ne peut être atteint que depuis un seul des états fermés, en l'occurrence l'état C2.

Comme l'ont souligné Fink et Noble, la détermination de paramètres et de structures optimales pose des questions mathématiques et numériques difficiles [99]. Si les modèles de Markov offrent une souplesse très importante, certains choix de structure ou de paramètres peuvent parfois sembler arbitraires. Par ailleurs, il arrive que deux modèles de Markov distincts donnent des performances égales pour reproduire des données, ou que plusieurs jeux de paramètres soient optimaux pour une structure de Markov. Le modèle final à choisir dans ce cas n'est pas toujours évident. Fink et Noble [99] montrent que pour plusieurs modèles de Markov proposés dans la littérature, certains paramètres optimaux ne sont pas identifiables de façon unique et ont donc été posés de façon arbitraire.

Toutefois, les modèles de Markov sont performants dans de nombreux cas et sont couramment utilisés dans la littérature, en particulier pour simuler le comportement de canaux uniques individuels (par opposition à un neurone complet).

Modèles allostériques Les modèles allostériques ont originellement été proposés par Monod, Wyman et Changeux pour décrire le fonctionnement de l'hémoglobine [105]. Pour cette raison, on les appelle aussi modèles Monod-Wyman-Changeux (MWC). Le terme « allostérie » vient des mots grecs *allos*, qui signifie « autre » et *stereos*, qui signifie « solide ». Ils sont proches des modèles de Markov, dans la mesure où l'on considère aussi que la protéine

peut se trouver dans plusieurs états, avec une probabilité de transition vers les autres états dépendante de l'état actuel.

Dans ce cadre, on interprète les différents états la protéine d'une façon précise. On considère qu'elle est constituée de domaines distincts, qui peuvent réagir à des stimuli de nature différente. [89, 90, 106]. L'un de ces domaines peut par exemple réagir à la fixation d'un ligand, ce qui aura une influence sur le comportement d'un autre domaine du canal, sensible au potentiel membranaire. Le nombre de configurations possibles du canal global est possiblement important, permettant de rendre compte d'intrications complexes entre différents paramètres comme la température et le potentiel.

Des modèles allostériques pour les canaux ioniques ont été proposés [89, 90, 106]. En général, au lieu de disposer de taux de transitions entre les états, on dispose des constantes d'équilibre entre ceux-ci. À notre connaissance, les modèles allostériques pour les canaux ioniques ne permettent donc pas de décrire leur dynamique de transition.

Modèles continus Enfin, quelques modèles alternatifs ont été proposés dans la littérature, que nous qualifions de modèles « continus ». En effet, contrairement aux modèles de Markov qui comportent un nombre fini, et en général relativement faible d'états, ces modèles considèrent qu'un nombre possiblement très important d'états peuvent être occupés par le canal. Parmi ces modèles se trouvent les modèles fractaux [107] et les modèles de diffusion [108]. Dans le cadre des modèles de Markov, les différences d'énergies entre les états du canal sont importantes. Au contraire, on considère dans les modèles continus qu'un canal peut occuper un grand nombre d'états d'énergie très proche.

Toutefois, il semblerait que ces modèles, développés à la fin des années 1990, n'aient pas eu un succès aussi important que les modèles de Hodgkin-Huxley et les modèles de Markov. Contrairement à ces derniers, on les trouve rarement dans la littérature. De plus, il semblerait qu'un désaccord ait eu lieu au sujet des modèles fractaux et que leur intérêt fut questionné [109, 110].

A titre d'exemple, Sansom compare les performances modèles de Markov, de diffusion, et fractaux pour deux types de canaux, dont un canal à potassium [111]. La meilleure performance est atteinte par les modèles de Markov dans tous les cas.

Quel est le meilleur modèle ? Il y a donc plusieurs possibilités pour modéliser les canaux ioniques. Le modèle à choisir dépend naturellement du besoin. Si l'on souhaite modéliser le comportement global d'un neurone, d'un point de vue de la simple propagation de potentiels d'action, un modèle de Hodgkin-Huxley est en général suffisant, et préférable puisqu'il est

beaucoup moins complexe en termes de temps de calcul. En revanche, pour représenter le comportement d'un canal unique, un modèle de Markov est souvent meilleur, plus flexible, et de plus offre des possibilités plus complètes en termes d'interprétation physique.

2.1.5 Outils de modélisation

Nous présentons enfin quelques outils de modélisation couramment utilisés par les chercheurs en neurosciences.

L'environnement NEURON : modélisation globale d'un neurone

L'environnement NEURON est un environnement de simulation numérique permettant de construire des modèles modulaires et paramétrables [11, 112]. On modélise le comportement global du neurone par l'équation du câble, et l'on peut insérer tout type de canal ionique. Les solutions des équations sont obtenues par la méthode des différences finies. Basé sur les langages de programmation hoc, C, et NMODL, cet environnement permet de construire ses propres modèles de neurones, et de construire une géométrie cellulaire complexe. Un mode graphique (GUI) permet de visualiser le travail, qu'on peut compléter par des fichiers de scripts.

Cet environnement est fréquemment utilisé par les chercheurs, qui l'utilisent pour modéliser des expériences de neurophysiologie. Ceux-ci peuvent ensuite déposer leur modèle de façon *open-source* sur une banque de modèles de neurones en ligne, ModelDB [113]. Une représentation d'un neurone modélisé par Hemond et al. [7] et obtenu sur ModelDB, est présentée à la figure 2.7.

L'environnement QuB : détermination de paramètres de modèles de Markov

L'environnement QuB permet de travailler avec des modèles de Markov et de modéliser des canaux uniques. Une utilisation possible est d'obtenir les paramètres optimaux d'un modèle de Markov à partir de données expérimentales. Cet environnement est libre (<https://www.qub.buffalo.edu/>).

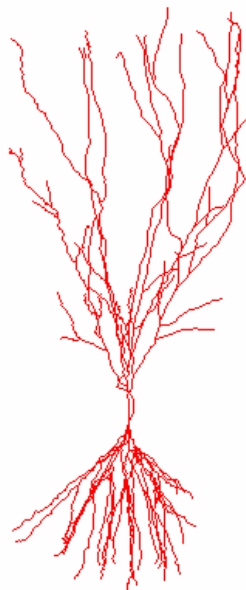


Figure 2.7 Représentation en trois dimensions d'un neurone hippocampal de rat. On peut voir les dendrites former des ramifications. Modèle issu de Hemmond et al. [7]

2.2 Nanoparticules plasmoniques et applications biomédicales

Parmi les nanotechnologies émergentes de ces dernières années, les nanoparticules plasmoniques sont activement étudiées en raison de leur propriétés particulières lors d'une interaction avec la lumière, propriétés qui sont souvent liées à la création de *plasmons de surface* [54]. Ces propriétés sont intéressantes pour plusieurs applications biomédicales, comme le traitement du cancer [55], la création de pores dans la membrane par nanocavitation [56], ou encore des biocapteurs exploitant les nanostructures plasmoniques [57]. Plus récemment, la stimulation artificielle de neurones assistée par nanoparticules a été observée [10]. Nous présentons dans cette partie les nanoparticules plasmoniques métalliques, et montrons en quoi leurs propriétés physiques sont prometteuses pour des applications biomédicales.

2.2.1 Notion de résonance plasmonique

Le résultat de l'interaction entre la lumière et un objet dépend naturellement de la taille de cet objet. Dans le cas des nanoparticules, la dimension de l'objet est souvent inférieure à la longueur d'onde d'irradiation. Lorsque la taille de la nanostructure est de l'ordre de la profondeur de peau l_s , qui est de l'ordre de 25 nm pour les métaux nobles aux fréquences optiques, on peut observer une *résonance plasmonique* [54]. C'est donc le cas pour des nanoparticules de 100 nanomètres de diamètre, comme celles utilisées dans l'expérience de Lavoie-Cardinal

et al. [10]. Le champ électrique provoque un mouvement collectif d'oscillation des électrons, mouvement qui est lui-même amorti par une force électromagnétique de rappel, en raison de la non-neutralité électrique à la surface de la nanostructure. La fréquence de résonance pour ce système est appelée fréquence plasmon, notée ω_{sp} et le phénomène créé est appelé un Plasmon de Surface Localisé (LSP). Pour qu'un matériau présente une résonance plasmonique, la partie réelle de sa permittivité doit être négative [58]. Or, cette condition est vérifiée pour les métaux nobles (Au, Ag, Cu) et les métaux alcalins, dans la gamme de fréquences considérée.

Lors d'une irradiation résonante, on atteint un maximum d'absorption et de diffusion de la lumière. Un chauffage plus important de la structure, puis du milieu environnant a lieu. Par ailleurs, pour certaines structures comme les nanoparticules d'or, la résonance est aussi liée à une forte amplification du champ électrique proche. Le facteur d'amplification peut alors être de l'ordre de 5. Cette amplification du champ électrique proche est utile pour interagir de façon non-linéaire avec un matériau, par exemple pour la nanochirurgie par laser ultrarapide [56, 59].

2.2.2 Mécanismes physiques lors de l'interaction entre une nanostructure et un laser pulsé

Les lasers pulsés sont souvent utilisés lors d'expériences biomédicales, notamment en raison de leur résolution temporelle. En particulier, lors des expériences de SNAN, des lasers pulsés ont été utilisés, avec des temps d'impulsion allant de la centaine de femtosecondes à la milliseconde.

Lors de l'interaction entre un laser pulsé et une nanostructure plasmonique, plusieurs mécanismes physiques ont lieu. La nature et l'importance relative de ces différents mécanismes dépend de la longueur d'impulsion utilisée, de la fluence du laser, ainsi que du matériau considéré et de sa géométrie. Ces mécanismes ont été revus et analysés en détail par Étienne Boulais [58] et nous résumons ici les mécanismes principaux à l'œuvre.

Le premier phénomène qui se produit est l'excitation du plasmon en raison de l'absorption de photons. Ensuite, le plasmon se désexcite, et cette relaxation peut se faire par différents mécanismes, sur une durée de l'ordre de 10 fs [60–62]. Cela peut se faire de façon non-radiative en excitant des électrons au delà du niveau de Fermi, créant ainsi des paires électron-trou non thermalisés. La relaxation peut aussi se faire de façon radiative en émettant des photons, l'importance de ce phénomène pouvant être évaluée par la section efficace de diffusion σ_{dif} .

Les électrons non thermiques excités par la décroissance du plasmon se thermalisent par diffusion et forment alors une distribution de Fermi-Dirac, phénomène qui se produit sur une

durée d'environ 500 fs [60–62]. L'étape suivante est la thermalisation des électrons et des phonons, en $1 \sim 3$ ps, [61–64].

Enfin, la diffusion phonon-phonon résulte en la libération d'énergie vers l'environnement, en ≈ 100 ps, [61]. La façon dont se libère cette énergie dépend très fortement de l'intensité de l'irradiation, de la longueur d'impulsion et de la particule. Le résultat peut en être un chauffage très localisé, l'émission d'une onde de pression, ou même la création d'une bulle nanométrique [56]. Dans le cas d'une très forte intensité d'irradiation, un plasma nanométrique peut naître à proximité de la particule en raison du très fort champ électrique.

2.2.3 Nanoparticules et nanobâtons d'or

Fréquence de résonance et biocompatibilité Les nanoparticules d'or et les nanobâtons d'or nous intéressent tout particulièrement, car ce sont les nanostructures qui ont été utilisées lors des expériences de SNAN. Ces nanostructures ont l'avantage de présenter une assez bonne biocompatibilité [65]. Pour certaines géométries couramment utilisées, la longueur d'onde de résonance se situe dans le spectre infrarouge. Cette information peut être obtenue par des calculs de section efficace d'absorption basés sur la théorie de Mie [66]. Or, le spectre infrarouge est relativement peu absorbé par les tissus organiques et présente ainsi moins de risques de les endommager que d'autres rayonnements, et possède une bonne longueur de pénétration dans ceux-ci [67]. On peut alors exploiter la résonance, en tirant par exemple partie du maximum d'absorption, qui implique un maximum de chauffage de la particule et du milieu ambiant.

Sections efficaces Pour quantifier l'absorption et la diffusion d'une nanostructure, on utilise des grandeurs nommées section efficace d'absorption, notée σ_{abs} et section efficace de diffusion, notée σ_{dif} . Homogènes à une aire, ces grandeurs représentent l'aire qu'auraient respectivement une particule équivalente parfaitement absorbante pour σ_{abs} , et parfaitement « diffusante » pour σ_{dif} . Les valeurs de σ_{abs} et σ_{dif} dépendent fortement de la longueur d'onde d'irradiation, de la polarisation de l'onde incidente, ainsi que de la géométrie de la nanostructure.

Fonctionnalisation des nanoparticules Afin de tirer parti des propriétés de ces nanoparticules d'or pour des applications biomédicales, il est très souvent utile de les *fonctionnaliser*. Il s'agit de modifier la surface d'une particule en y ajoutant un autre élément, comme par exemple une protéine, et ce dans plusieurs intérêts possibles. On peut aussi vouloir augmenter la stabilité de la nanoparticule ou diminuer leur toxicité.

La fonctionnalisation sert aussi au *ciblage spécifique* : il s'agit d'associer des molécules biologiques à la nanoparticule afin que celles-ci s'attachent à des cibles biologiques, comme la surface d'une cellule ou d'un tissu organique que l'on souhaite traiter. On optimise alors l'utilisation des particules.

2.2.4 Quelques applications biomédicales des nanoparticules d'or

Afin d'illustrer l'intérêt des nanoparticules plasmoniques pour les applications biomédicales, nous présentons ici deux possibles applications, qui font encore l'objet de recherches aujourd'hui.

Hyperthermie pour le traitement du cancer On peut fonctionnaliser des nanoparticules d'or afin que celles-ci s'attachent à une tumeur de façon spécifique. En irradiant ensuite la tumeur, on exploite la forte absorption des particules pour provoquer un chauffage local suffisant pour la détruire (une température de 65 °C peut suffire) [55]. Grâce à la fonctionnalisation, le tissu organique n'est donc pas chauffé globalement, et seule la tumeur est touchée par le chauffage.

Nanocavitation et transfection cellulaire La nanocavitation est la production d'une bulle nanométrique qui se développe autour de la nanoparticule après l'irradiation laser [56]. Si la particule est à proximité de la cellule, un trou peut alors être créé dans sa membrane. Ces cavités peuvent alors permettre que des substances pénètrent à l'intérieur de la cellule par transfection cellulaire : il peut s'agir de brins d'ADN ou de médicaments.

2.3 Stimulation lumineuse de neurones assistée par nanoparticules : une revue des résultats expérimentaux récents

Après avoir donné un aperçu des utilisations possibles des nanoparticules plasmoniques pour quelques applications biomédicales, ainsi qu'une vision générale de la physique de leurs interaction avec une source lumineuse, nous nous sommes intéressés au fonctionnement biophysique et électrique d'un neurone, puis nous avons donné un aperçu des techniques de modélisation neuronale.

Nous présentons maintenant la stimulation lumineuse de neurones assistée par nanoparticules (SNAN). Rappelons que nous entendons par stimulation le déclenchement de potentiels d'action, d'une dépolarisation ou d'une forte variation de concentration ionique dans le milieu intracellulaire. En particulier, on s'intéresse à la concentration en calcium, qui est l'un

des ions les plus importants du fonctionnement cellulaire car impliqué dans d'innombrables procédés biophysiques [114–116].

Au préalable, nous présentons la Neurostimulation Infrarouge (NSI). Cette méthode est légèrement plus ancienne mais fortement reliée à la SNAN, qui en est une extension.

2.3.1 Neurostimulation infrarouge : une technique purement optique

En 1971, Fork rapporte la première stimulation de neurones par laser [30]. Plusieurs longueurs d'ondes, dans les spectres vert, bleu, et proche infrarouge sont utilisées pour stimuler des neurones photosensitifs de mollusques marins. De nombreuses années plus tard, une stimulation par laser infrarouge de neurones non photosensitifs fut démontrée. Il s'agissait de neurones auditifs de la cochlée [34] ou du visage [35]. Une dépolarisation transitoire de la membrane est alors observée, sans dommages portés aux tissus. D'autres résultats de NSI ont été obtenus par la suite dans d'autres configurations, et d'autres cellules comme le cortex visuel de primates [36].

Cette technique est une rupture technologique par rapport aux méthodes traditionnelles de stimulation de neurones, utilisant par exemple des électrodes invasives. Au contraire d'une stimulation électrique, aucun contact n'est nécessaire pour stimuler le neurone, ce qui pourrait le préserver des dommages provoqués par des électrodes lors d'une stimulation électrique prolongée [29, 37]. D'autre part, la résolution spatiale surpasse de loin celle d'une méthode basée sur des électrodes [31]. Enfin, contrairement aux méthodes optogénétiques, aucune manipulation génétique n'est nécessaire pour parvenir à la stimulation [40].

Toutefois, en fonction des paramètres de l'irradiation laser, des dommages sur les neurones ont pu être observés. Si des fluences de l'ordre de 0.5 J/cm^2 avec taux de répétition faibles (en dessous de 5 Hz) ne semblent pas provoquer de dommages [39], de forts taux de répétition (200 Hz), peuvent provoquer des lésions importantes [38].

Nous analysons en détail les mécanismes qui ont été proposés pour tenter de comprendre le phénomène dans la suite de ce travail. Mais signalons dès maintenant qu'un chauffage local et transitoire causé par l'absorption de la lumière par le milieu organique est le phénomène qui a été le plus mis en avant comme source possible de stimulation des neurones [31, 52]. Or, certaines applications potentielles de stimulation artificielle de neurones nécessitent un fort taux de répétition (plus de 100 Hz), comme par exemple un implant cochléaire [52] ou l'oeil bionique [117]. Les fluences nécessaires à la stimulation optique à ces taux de répétitions risquent d'endommager les tissus organiques atteints par la lumière.

Pour cette raison, il serait très intéressant de disposer d'une méthode garantissant chauffage

équivalent, tout en nécessitant une plus faible fluence d'irradiation. Cette idée est une des motivations principales qui ont poussé les chercheurs à exploiter les propriétés d'absorption des nanoparticules en complément à la stimulation optique.

2.3.2 Stimulation optique de neurones assistée par nanoparticules

Stimulation assistée par des objets photoactifs

L'utilisation d'objets photoactifs complémentaires à la source lumineuse a été étudiée pour augmenter la localisation des effets recherchés, ou diminuer l'énergie nécessaire pour le seuil de stimulation. Par ailleurs, leur utilisation pourrait offrir la possibilité d'utiliser une longueur d'onde compatible avec les tissus organiques en garantissant l'absorption d'énergie nécessaire au phénomène.

Plusieurs possibilités ont été expérimentées. Des nanoparticules magnétiques ont servi à produire un chauffage localisé en tirant parti de la bonne pénétration d'un champ magnétique dans un tissu organique [43]. Des points quantiques ont aussi été utilisés pour leur propriétés électromagnétiques lorsque exposés à un rayonnement : par la création d'un dipôle électrique, une modification du potentiel électrique de la membrane a déclenché des potentiels d'action [44]. Cependant, la toxicité des points quantiques est un problème pour leur utilisation biomédicale [118]. Par ailleurs, des microparticules de carbone ont également servi à produire la stimulation de neurones, probablement après un chauffage localisé [42].

Stimulation assistée par nanoparticules d'or

Plus récemment, des nanoparticules d'or ont été utilisées pour assister la stimulation optique de neurones (SNAN) [10, 45–51]. Leurs propriétés d'absorption en résonance plasmonique sont exploitées lors d'une irradiation laser infrarouge, provoquant un chauffage local. Nous présentons ici des résultats expérimentaux obtenus via cette méthode.

Paviolo et al. ont injecté une solution de nanobâtons d'or (AuNR) dans un milieu contenant des neurones NG 108-15 *in vitro*, puis l'ensemble fut irradié à une longueur d'onde de 780 nm correspondant à la résonance plasmonique [48]. Ceci a provoqué une augmentation significative de la concentration calcique intracellulaire. Celle-ci est détectée par fluorescence et dépend fortement de la présence des AuNR, ainsi que de la fluence laser des impulsions utilisées, d'une durée de 100 ms. La réponse en calcium semble croître avec la fluence laser, jusqu'à un certain seuil où elle chute.

Nakatsuji et al. ont aussi observé une augmentation de la concentration calcique en utilisant

des nanoparticules d'or (AuNP) fonctionnalisées spécifiquement pour cibler un canal ionique, le canal TRPV1 [46]. Dans cette expérience, les canaux TRPV1 ont été activés après 120 secondes d'irradiation résonante à 780 nm. Si les AuNP étaient absentes, ou si l'expérience était faite sur une portion de membrane sans canal TRPV1, ou si l'irradiation laser n'avait pas lieu, la variation de concentration intracellulaire en calcium était négligeable.

D'autres expérimentateurs sont parvenus à déclencher des potentiels d'action (PA) avec une SNAN [10, 45, 49, 50]. Des AuNP et AuNR de plusieurs tailles ont été utilisées. Par ailleurs, des longueurs d'impulsions très différentes ont servi pour ces expériences, allant de la femtoseconde à la seconde. Dans certains cas, une solution contenant une concentration de nanoparticules était injectée dans le dispositif expérimental [45, 49, 50], avec un chauffage couvrant une surface correspondant à un très grand nombre de particules. Dans un autre cas, l'irradiation laser était suffisamment précise pour focaliser la lumière sur quelques particules seulement [10]. Afin de ne pas alourdir excessivement cette section, nous ne décrivons pas précisément toutes les subtilités expérimentales. Toutefois, nous regroupons les informations importantes dans le tableau 2.5.

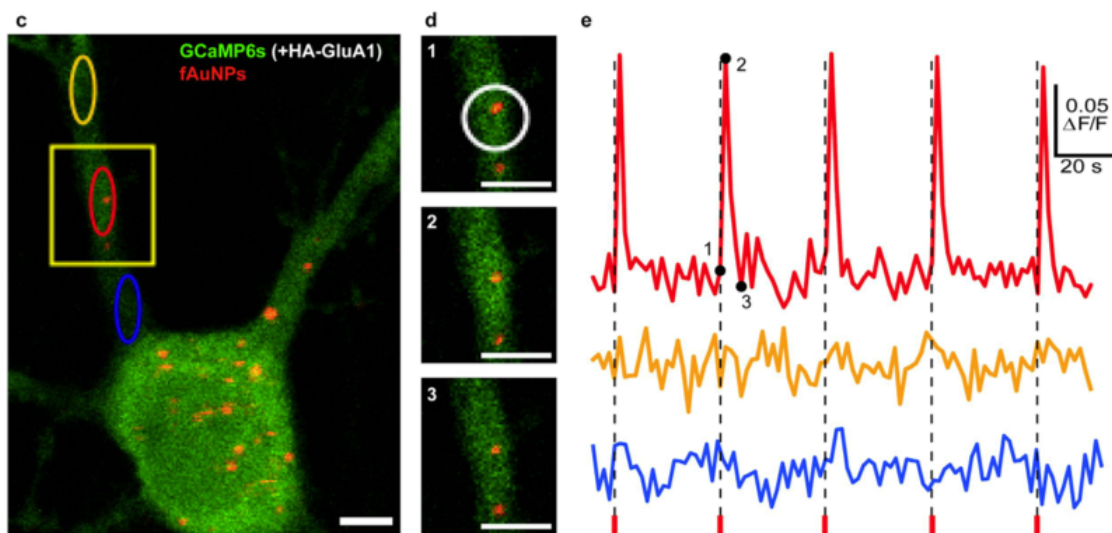
La figure 2.8 présente les résultats des expériences de Lavoie-Cardinal et al. [10] ainsi les résultats de Carvalho-de-Souza et al. [49]. Dans le premier cas, c'est majoritairement un influx de calcium qui est détecté, tandis que dans le second cas, des potentiels d'action sont générés par l'irradiation laser en présence de particules.

Dans l'ensemble de ce travail, nous reviendrons régulièrement sur l'expérience de Lavoie-Cardinal et al [10], effectuée en collaboration entre le groupe du professeur P. de Koninck et celui du professeur M. Meunier. C'est en priorité les résultats de ce travail que nous essaierons de comprendre. Dans ce cadre, une seule particule, proche de la membrane d'un neurone hippocampal de rat, est irradiée par un laser ultrarapide. L'observation principale est un influx de calcium, et l'objectif est de pouvoir provoquer cet influx en priorité, afin d'avoir une stimulation locale. Au contraire, on ne souhaite pas provoquer de potentiels d'action, qui sont synonymes de propagation de la stimulation à l'ensemble de l'axone et du neurone.

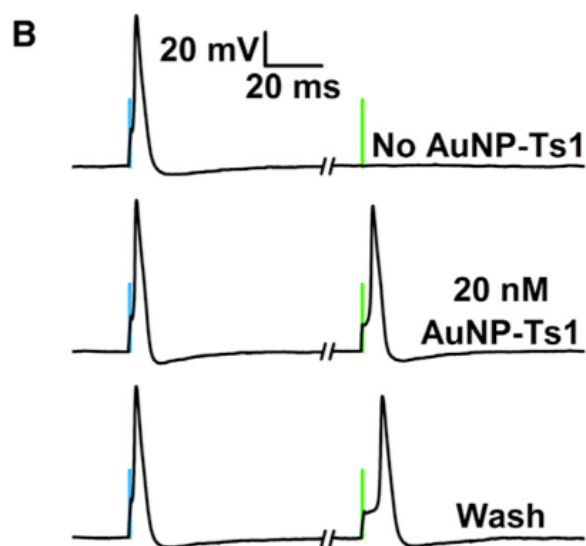
Les différents chercheurs qui ont réalisé ces expériences ont proposé quelques mécanismes pour expliquer leurs résultats. Dans la sous-section suivante, nous analysons ces hypothèses.

2.3.3 Analyse des hypothèses déjà formulées pour expliquer le phénomène

Les expériences de SNAN sont plus récentes que les expériences de NSI. Par ailleurs, la seule différence de principe entre les deux techniques est la présence ou l'absence d'objets complémentaires interagissant avec la lumière. Il est donc pertinent d'analyser les mécanismes



(a) Résultat de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10].



(b) Résultats de Carvalho-de-Souza et al. [49].

Figure 2.8 Résultats d'expériences de stimulation de neurones assistée par nanoparticules. 2.8a : Résultats de Lavoie-Cardinal et al. [10]. Les traits pontillés représentent une impulsion laser. Celle-ci provoque une augmentation locale de la fluorescence du calcium, indiquant donc un influx calcique. 2.8b : Résultat de Carvalho-de-Souza et al. [49] (un enregistrement électrophysiologique). Le trait bleu représente une stimulation électrique, qui déclenche un potentiel d'action, de même que le trait vert, qui est une stimulation optique en présence d'un grand nombre de AuNP

Tableau 2.5 Expériences de SNAN

Année	Auteur	Référence	NPs	Neurone	Laser	Observation
2013	Paviolo et al.	[48]	AuNR, 15 nm × 50nm	cellule NG108-15	pulsé, 20-100 ms, 780nm	Influx de calcium
2014	Eom et al.	[45]	AuNR, 15.3 nm × 80.4nm	nerf sciatique du rat	pulsé, 1 ms, 800nm	Potentiels d'action
2014	Yoo et al.	[51]	AuNR, 18.5 nm × 71.3nm	hippocampe du rat	continu, 10 s, 785nm	Inhibition du neurone
2014	Yong et al.	[50]	AuNR, 18.5 nm × 71.3nm	neurone auditif du rat	780nm	Potentiels d'action et courants
2015	Carvalho de Souza et al.	[49]	AuNP, diamètre 20 nm	ganglion spinal du rat	pulsé, 1 ms, 532nm	Potentiels d'action
2015	Nakatsuji et al.	[46]	AuNP	ganglion spinal du rat	continu, 120 ms, 780nm	Influx de calcium
2016	Lavoie-Cardinal et al.	[10]	AuNP, diamètre 100 nm	hippocampe du rat	pulsé, 140 fs, 800nm	Potentiels d'action, influx de calcium

proposés pour comprendre la NSI en complément des mécanismes proposés pour la SNAN. Or, les expériences de NSI étant légèrement plus anciennes, quelques articles de revue analysant les hypothèses possibles ont été publiés [31, 33].

Il n'existe actuellement pas de certitude quant aux mécanismes qui pourraient expliquer la SNAN. La diversité des conditions expérimentales, que ce soit au niveau des cellules utilisées, des particules, ou encore du laser posent même la question de savoir s'il existe un mécanisme universel [119]. Toutefois, des hypothèses ont été formulées et parfois testées expérimentalement.

Hypothèse photothermique

L'hypothèse thermique est l'hypothèse qui est la plus régulièrement citée dans la littérature et qui semble aujourd'hui la plus plausible [6, 31, 33]. Selon cette hypothèse, le chauffage provoqué par l'absorption de l'énergie du laser, par l'eau ou par une nanoparticule est à l'origine d'une modification des propriétés de la membrane. En réalité, deux sous-hypothèses

existent dans le cadre de l'hypothèse photothermique, par rapport auxquelles se positionnent la majorité des travaux rapportant une SNAN.

Canaux ioniques La première hypothèse consiste à supposer que des canaux ioniques sensibles à la température s'ouvrent en réaction au chauffage [52, 120]. Certains canaux ioniques de la famille TRP [3, 86], les canaux TRPV1 [46] et TRPV4 [120], semblent être de bons candidats pour cela. De nombreux neurones contiennent ces canaux ioniques, comme certains neurones du cerveau, de la colonne vertébrale ou des nerfs périphériques. Ce mécanisme a été testé expérimentalement. Nakatsuji et al. [46] démontrent l'implication du canal TRPV1 dans leurs résultats d'observation d'un influx de calcium dans une expérience de SNAN sur des neurones du ganglion dorsal du rat. Des nanobâtons fonctionnalisés sont utilisés. Lorsque les nanobâtons sont absents lors de l'irradiation, ou lorsqu'un antagoniste du canal TRPV1 comme la capsazépine est utilisé, l'effet sur la concentration en calcium est alors négligeable. De leur côté, Albert et al. [120] montrent l'implication du canal TRPV4 dans leur expérience de NSI sur des neurones sensoriels. Les auteurs proposent comme mécanisme qu'après l'ouverture des canaux TRPV4 causée par le chauffage, des ions calcium pénètrent dans la cellule et ce courant produit une dépolarisation de la membrane. Cette dépolarisation entraîne alors l'ouverture d'autres canaux à calcium, cette fois dépendants du potentiel. Une dépolarisation encore plus importante s'ensuit, provoquant l'ouverture de canaux à sodium, qui génèrent alors des potentiels d'action. L'utilisation de la capsazépine, un bloqueur du canal TRPV1, ne supprime pas le phénomène, indiquant que le canal TRPV4 est impliqué, mais pas le canal TRPV1.

Courant capacitif La seconde possibilité consiste à supposer qu'un courant capacitif est causé par le déplacement de charges électriques à proximité de la membrane [6]. Ce courant est provoqué par la modification de la capacité électrique de la membrane. Par ailleurs, la variation de cette capacité électrique dépend de la dérivée de la température par rapport au temps, $\frac{dT}{dt}$, et non de la température en elle-même, T . Cette variation de la capacité peut-être calculée mathématiquement à partir de l'équation de Poisson-Boltzmann et de la théorie des doubles-couches électriques [121]. Shapiro et al. ont réalisé des expériences dans lesquelles un chauffage transitoire a provoqué ce courant capacitif, dans des cellules biologiques mais aussi sur des bicouches artificielles, en l'absence de canaux ioniques [6]. Si l'amplitude de ce courant est suffisante, il peut dépolariser la membrane. Carvalho-de-Souza et al. [49] avancent l'idée que ce mécanisme est responsable de leurs résultats de SNAN, et que les canaux ioniques ne sont pas impliqués. Dans leur expérience, une forte concentration de particules est utilisée et des potentiels d'action sont observés. Pour soutenir leur affirmation, Carvalho-de-Souza

et al. [49] reproduisent leurs conditions d’irradiation sur une bicouche artificielle, sans canal ionique, et observent un courant dépolarisant d’amplitude proche à celui observé sur les neurones.

Hypothèse photomécanique

Wells et al. ont également analysé expérimentalement la possibilité d’un effet mécanique lors de la NSI [33]. La propagation d’une onde de pression pourrait en effet induire des contraintes sur la membrane et avoir une influence sur les canaux ioniques sensibles à la pression. Cependant, les expériences effectuées semblent contredire cette hypothèse. Si des potentiels d’action ont été obtenus pour plusieurs fluences, les longueurs d’impulsion utilisées étaient trop grandes pour être dans une situation de confinement de la contrainte. On parle de confinement de la contrainte lorsque l’énergie optique s’accumule dans le tissu plus rapidement que le temps nécessaire à la propagation d’une onde de pression. Ceci nécessite typiquement des longueurs d’impulsion inférieures à 500 ns. Or, avec les paramètres laser utilisés par Wells et al., qui sont des impulsions supérieures à 10 μs , on se trouve plutôt dans la zone de confinement thermique [122, 123]. Ceci implique que la contrainte mécanique générée devrait être négligeable.

Une autre observation expérimentale allant à l’encontre de l’hypothèse photomécanique est que la fluence minimale pour obtenir des potentiels d’action est indépendante de la durée de l’impulsion [33]. Pour une même énergie totale déposée, la contrainte mécanique sera d’autant plus grande que le temps de déposition est court. La stimulation étant indépendante de ce paramètre, on peut penser que l’effet de la contrainte mécanique n’est pas central. Wells et al. ont également effectué une expérience dans laquelle des impulsions de pression étaient délivrés directement à la membrane du neurone. Ces impulsions de pression étaient analogues à celles qui auraient été produites par les impulsions laser mais leur amplitude était 30 fois plus grande, et aucun potentiel d’action n’a été obtenu.

Dans le cas de Wells et al., l’hypothèse photomécanique est donc peu probable pour la NSI. Toutefois, il est possible que dans d’autres configurations de laser quant à la longueur d’impulsion ou la fluence, ou dans des expériences de SNAN, un effet photomécanique joue un rôle.

Hypothèse photochimique

Dans le cadre de la NSI, il est peu probable qu’un mécanisme photochimique soit prépondérant [31, 32]. Les photons du faisceau laser infrarouge utilisé par Wells et al. ont une énergie

inférieure à 1 eV, ce qui donne une énergie de liaison inférieure à 1 kJ/mol. Or les énergies de liaison typiques pour les ions sont dans la gamme 100-1000 kJ/mol. Par ailleurs, Wells et al. n'ont pas identifié une longueur d'onde particulièrement efficace pour la NSI, entre 2000 nm et 10000 nm. Or, une telle observation aurait été un signe potentiel d'un mécanisme photochimique. L'hypothèse d'un mécanisme photochimique est donc assez peu probable, en tout cas pour cette expérience de Wells et al, qui est rappelons-le, une expérience de NSI, mais pas de SNAN. Dans ce dernier cas, il se pourrait que l'interaction entre la particule et le laser favorise la création de dérivés réactifs de l'oxygène, qui pourraient avoir un effet chimique sur le milieu environnant.

Autres hypothèses

D'autres hypothèses peuvent aussi être formulées pour tenter de comprendre les expériences de SNAN et de NSI. Un effet dû à la densité électronique résultant du champ électrique proche de la nanoparticule pourrait être déterminant. Par ailleurs, un trou dans la membrane pourrait également se former, laissant alors les ions diffuser librement et déclenchant alors possiblement une dépolarisation. Une transition de phase des lipides de la membrane neuronale pourrait avoir lieu [124]. Ces hypothèses n'ont à notre connaissance pas été discutées aussi activement que les hypothèses précédentes, et n'ont pas été testées expérimentalement. Nous présenterons quelques arguments à leur sujet dans le chapitre de discussion de ce travail 4.1.

2.4 Conclusion et objectifs

Au terme de cette revue de littérature, nous constatons que la question de savoir comment expliquer les expériences de SNAN n'a pas encore de réponse claire. Les mécanismes possibles semblent multiples, et pourraient même se combiner entre eux. Nous voyons aussi que les publications rapportant la SNAN ne convergent pas entre elles pour tenter d'expliquer le mécanisme. Certains déclarent que les canaux ioniques sont impliqués [46], d'autres qu'ils ne le sont pas [49].

Une complexité décuplée En plus de la diversité des mécanismes possibles, il se pourrait, étant donné la nature biologique des neurones, qu'un mécanisme puisse expliquer un phénomène à un instant donné, et qu'un autre mécanisme soit à l'oeuvre à l'instant suivant. En effet, la membrane neuronale, comme la membrane de toute cellule organique, est vivante, et sujette à des changements structuraux en fonction du temps. Les protéines que

sont les canaux ioniques se déplacent dans la membrane, ainsi que les lipides qui la constituent [125, 126]. Le coefficient de diffusion d'une molécule à la surface de la membrane est de l'ordre de $2 \times 10^{-11} \text{cm}^2/\text{s}$ [125]. Pendant un temps de 1 milliseconde, nous pouvons alors estimer l'ordre de grandeur du déplacement moyen par \sqrt{Dt} , qui est de l'ordre de 1 nanomètre. Au cours d'une expérience de SNAN, un tel déplacement ne devrait pas avoir un impact très conséquent sur le résultat : en effet, nous estimerons dans la suite de ce travail que la zone chauffée par l'irradiation laser autour de la particule est de l'ordre du micromètre carré. En revanche, il se pourrait qu'une seconde expérience réalisée plusieurs minutes plus tard fournisse un résultat différent et que cette différence soit liée au déplacement du canal ionique.

Devant une telle variété de mécanismes, nous voulons maintenant avoir des estimations numériques sur les possibilités d'explication de la SNAN, mais nous ne pourrions vraisemblablement pas conclure de façon ferme vers une cause unique et définitive.

Le chauffage comme première hypothèse Le chauffage est le mécanisme le plus commenté et le plus mis en avant dans la littérature. Il semble donc naturel d'étudier cette possibilité en premier et nous le ferons à la section suivante. Nous chercherons comment modéliser numériquement l'effet du chauffage sur un neurone afin d'évaluer la possibilité qu'il soit responsable de la SNAN.

CHAPITRE 3 MÉCANISMES BASÉS SUR LA TEMPÉRATURE

3.1 Hypothèse et approche

On propose de comprendre les résultats des expériences de SNAN en faisant l'hypothèse qu'un chauffage localisé est la principale cause de la stimulation neuronale. Au vu de la discussion présentée dans la revue de littérature, il semblerait que ce mécanisme soit le plus logique sur lequel on devrait s'attarder en premier lieu. Nous souhaitons parvenir à modéliser un influx de calcium, et l'effet du chauffage sur le potentiel de la membrane. L'approche est résumée à la figure 3.1.

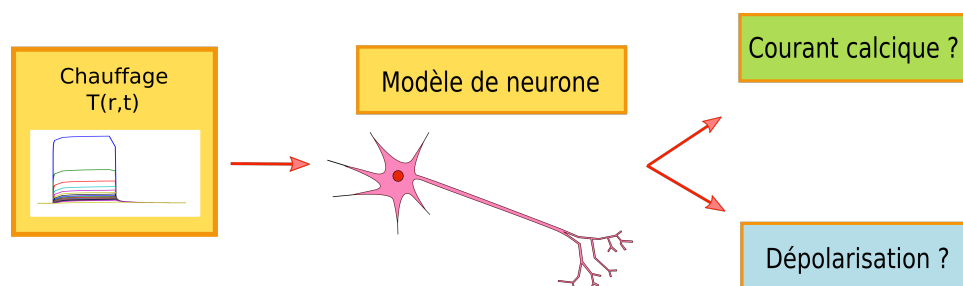


Figure 3.1 Hypothèse du chauffage.

Notre objectif est maintenant de parvenir à modéliser l'influence d'un chauffage localisé sur le comportement d'un neurone, afin de confronter des modèles numériques aux hypothèses expérimentales au sujet de la SNAN. Pour construire le modèle global, nous avons besoin de plusieurs éléments, dont un modèle de neurone, qui permettrait d'étudier l'influx de calcium et le potentiel de la membrane. Par ailleurs, nous avons aussi besoin d'un modèle pour le chauffage. Enfin, nous aurons besoin de compléter cela par des modèles spécifiques de canaux ioniques. Pour avoir une valeur au regard des expériences de SNAN réalisées, tous ces modèles devraient être *dynamiques* et intégrer le temps comme une composante à part entière.

Nous commençons par présenter une quantification du chauffage localisé qui a lieu lors de l'irradiation laser d'une nanoparticule. Nous verrons ensuite comment intégrer ce chauffage dans les modèles numériques décrivant des neurones, par l'intermédiaire des canaux ioniques. Enfin, nous présenterons une autre théorie faisant intervenir la température, la théorie de Gouy-Chapman-Stern [6].

Les modèles basés sur les canaux ioniques seront testés avec le chauffage calculé pour l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10]. Le modèle basé sur le courant capacitif sera analysé

avec le chauffage de Lavoie-Cardinal et al. [10] et celui de Eom et al. [45]. Rappelons que nous souhaitons analyser deux effets principaux : un effet sur la concentration intracellulaire en calcium, et un effet sur le potentiel de la membrane (une dépolarisation).

3.2 Estimation du chauffage provoqué par l'interaction entre la particule et le laser

Comme nous l'avons vu lors de la revue de littérature, les nanoparticules plasmoniques peuvent absorber l'énergie lumineuse d'un laser. Pour quantifier cette absorption, on utilise une grandeur appelée *section efficace d'absorption*. Connaissant l'intensité lumineuse à laquelle elle est exposée, cette grandeur permet d'obtenir l'énergie effectivement absorbée par la particule.

3.2.1 Modèle numérique

Afin d'évaluer la distribution de température autour de la nanoparticule irradiée par laser dans le cas des expériences de SNAN avec un coût de calcul abordable, nous utilisons un modèle à symétrie sphérique, ce qui revient à un problème unidimensionnel sur la composante radiale. Nous considérons deux milieux, à savoir l'or de la nanoparticule et le milieu biologique, représenté par de l'eau, ainsi qu'illustré à la figure 3.2. En effet, les propriétés d'absorption et de conduction thermique d'un milieu organique sont bien représentées par les propriétés de l'eau [127].

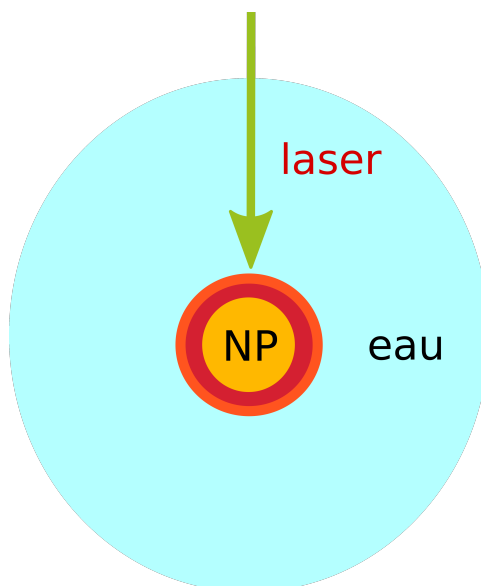


Figure 3.2 Représentation des domaines utilisés pour le calcul du chauffage.

Dans ces deux milieux, on calcule la température avec l'équation de la chaleur. L'absorption de la particule étant très grande devant l'absorption de l'eau, on néglige l'absorption d'énergie et donc la création de chaleur dans celle-ci. Ainsi, la seule source de chaleur dans le modèle est la nanoparticule. Voici donc les équations qui gouvernent le modèle :

$$\begin{cases} \rho_g C_g \frac{\partial T_g}{\partial t} - k_g \Delta T_g = I \frac{\sigma_{abs}}{V_{NP}} & si \quad x \in \Omega_{or} \\ \rho_e C_e \frac{\partial T_{eau}}{\partial t} - k_e \Delta T_{eau} = 0 & si \quad x \in \Omega_{eau} \end{cases} \quad (3.1)$$

Où Ω_{or} désigne le milieu de la particule d'or et Ω_{eau} désigne l'eau. Δ désigne le Laplacien sphérique. Les significations des différents variables et paramètres de l'équation 3.1 sont regroupées dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1 Variables et paramètres de l'équation de la chaleur.

Variable	Signification	Dimension	Ordre de grandeur
T_g	Température dans l'or	K	Objet du calcul
T_{eau}	Température dans l'eau	K	Objet du calcul
ρ_g	Masse volumique de l'or	Kg/m^3	19×10^3
ρ_{eau}	Masse volumique de l'eau	Kg/m^3	1
C_g	Capacité thermique de l'or	$J/(Kg.K)$	19×10^3
C_{eau}	Capacité thermique de l'eau	$J/(Kg.K)$	4×10^3
k_g	Conductivité thermique de l'or	$W/(m.K)$	317
k_{eau}	Conductivité thermique de l'eau	$W/(m.K)$	0.604
I	Intensité de l'irradiation	$W/(m^2)$	7×10^9
σ_{abs}	Section efficace d'absorption	m^2	5×10^{-16}
V_{NP}	Volume de la nanoparticule	m^3	5×10^{-22}

En réalité, afin d'avoir une simulation plus précise, nous utilisons des valeurs dépendantes de la températures, issues des tables IAPWS pour les conductivités thermiques, les masses volumiques et les capacités thermiques [128, 129]. Tous les calculs de chauffage sont effectués avec l'aide du logiciel Comsol Multiphysics ®[130].

Conditions aux limites et conditions initiales Initialement, la température est uniforme et vaut 30 °C pour l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10], et 37 °C pour l'expérience de Eom et al. [45]. On utilise des conditions aux limites de Dirichlet (température fixée) loin de la particule. On vérifie que cette condition aux limites n'influence pas le résultat en le comparant avec une simulation utilisant une condition de Neumann (dérivée de la température fixée).

3.2.2 Résultats

Nous présentons ici le résultat de ce modèle de chauffage dans le cas de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10], ainsi que dans le cas de l'expérience de Eom et al. [45]. Les paramètres de chauffage de ces expériences sont rassemblés dans le tableau 3.2. La longueur d'onde d'irradiation est indiquée dans ce tableau : en effet, la section efficace d'absorption d'une particule est dépendante de la longueur d'onde. Pour les deux expériences, c'est la longueur d'onde de résonance plasmonique qui est utilisée, afin d'exploiter le maximum d'absorption des particules. Les résultats de chauffages sont présentés à la figure 3.4. Les différentes courbes correspondent à différentes distances à la surface de la particule.

Tableau 3.2 Paramètres d'irradiation pour deux expériences de SNAN

Expérience	Fluence moyenne J/cm^2	Particules	Longueur d'onde (nm)	Impulsion
Lavoie-Cardinal et al. [10]	2.8×10^5 , Puissance laser moyenne de l'ordre de 1 mW	AuNP, 100 nm	800 nm	Pulsé 140 fs
Eom et al. [45]	1	AuNR 15.3nm × 80.4nm	980 nm	Continu 1 ms

Expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10] Cette expérience utilise un laser ultrarapide, avec impulsions lumineuses de l'ordre de 140 fs, à une fréquence de 90 MHz. Le faisceau est un faisceau gaussien avec une largeur à mi hauteur de 400 nm. Le laser produit des séries de paquets d'impulsions, que nous appellerons *balayage*. Un balayage est une série d'impulsions ultrarapides, dont on estime la durée à 40 μs . Pendant un balayage, le faisceau laser se déplace à une vitesse de l'ordre de 10 $\mu m/s$. Ainsi, on estime que la particule est irradiée pendant 40 μs pendant un balayage.

Lors d'une expérience, le laser balaie une surface autour de la particule, en faisant plusieurs allers-retours. Des balayages sont produits à chaque milliseconde. Le nombre de balayages effectivement reçus par la particule est difficile à contrôler expérimentalement en raison de la taille des AuNP (inférieure à la limite de diffraction), mais on estime qu'il est en général compris entre 4 et 40.

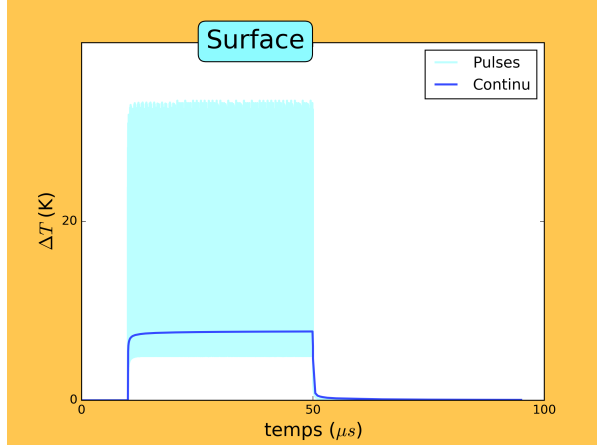
Numériquement, on observe pendant un balayage une saturation de la température autour d'une valeur moyenne, après quelques dizaines d'impulsions ultrarapides. La figure 3.2.2 présente une comparaison des résultats du modèle de chauffage, d'une part en prenant en compte

les impulsions femtosecondes, et d'autre part en simplifiant le modèle en considérant que l'irradiation est une irradiation continue avec la même énergie moyenne déposée.

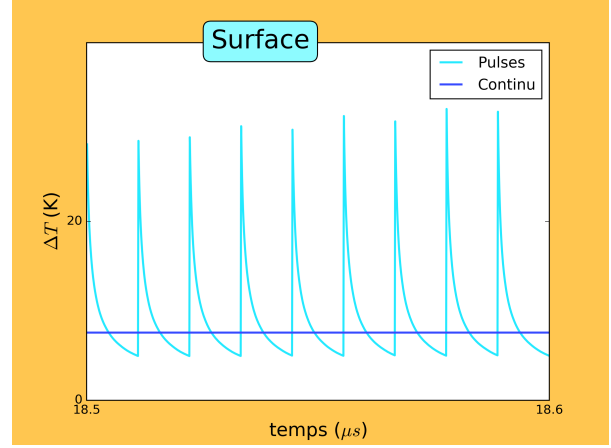
Selon le modèle prenant en compte les impulsions femtosecondes, la température oscille très rapidement autour de la valeur calculée pour le modèle continu (voir figure 3.2.2). Cette oscillation se fait sur une période de l'ordre de la dizaine de picosecondes. Or, l'échelle typique du temps de réaction des objets biologiques comme les neurones est plutôt de l'ordre de la milliseconde ou de la microseconde. On fait donc l'hypothèse qu'on peut se contenter de décrire le chauffage par le résultat obtenu à partir du modèle continu : on suppose alors qu'au niveau du neurone, les impulsions femtosecondes et leurs effets sur la variation très rapide de la température n'ont pas d'influence. Dans ce cadre, on utilise les résultats fournis par le modèle continu.

D'un point de vue technique, cette hypothèse permet aussi de gagner beaucoup de temps de calcul. En effet, une discrétisation temporelle de l'ordre de la picoseconde ou de la femtoseconde pour décrire un phénomène sur une durée de plusieurs milliseconde est extrêmement lourde numériquement.

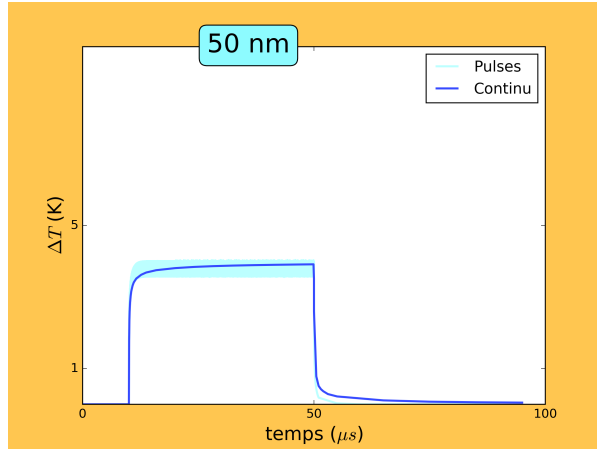
Autres phénomènes Lors de l'interaction entre une nanoparticule plasmonique et un laser femtoseconde, d'autres phénomènes physiques peuvent avoir lieu en plus du chauffage, en raison du temps très court de la déposition d'énergie. Par exemple, en fonction de l'intensité de l'irradiation, une forte amplification du champ électrique proche peut provoquer une augmentation de la densité électronique à proximité de la particule, et même engendrer un plasma [56]. Ce plasma peut entraîner la génération d'une bulle nanométrique dans le cadre de la nanocavitation, et une onde de pression peut se propager, en lien avec la création de la bulle nanométrique [139]. Dans ce chapitre, nous ne prenons pas en compte ces phénomènes pour nous concentrer uniquement sur l'effet du chauffage. Cependant, dans le chapitre 4, nous analyserons la possibilité que ces phénomènes soient impliqués dans le phénomène de SNAN.



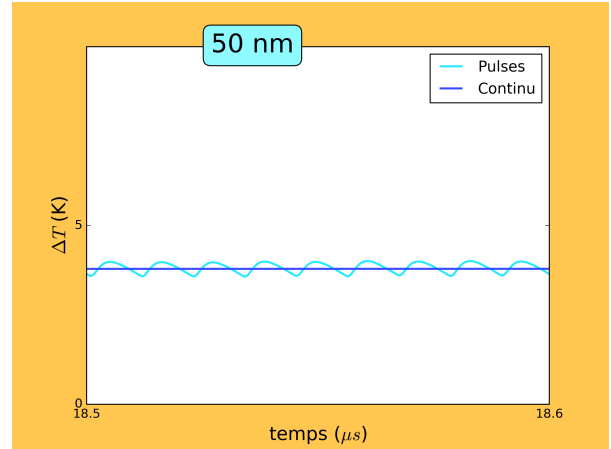
(a) Chauffage à la surface de la particule pour les modèles pulsé et continu. On observe une saturation au bout d'une centaine d'impulsions femtoseconde.



(b) Agrandissement temporel : la température oscille autour d'une valeur moyenne à une fréquence très rapide.



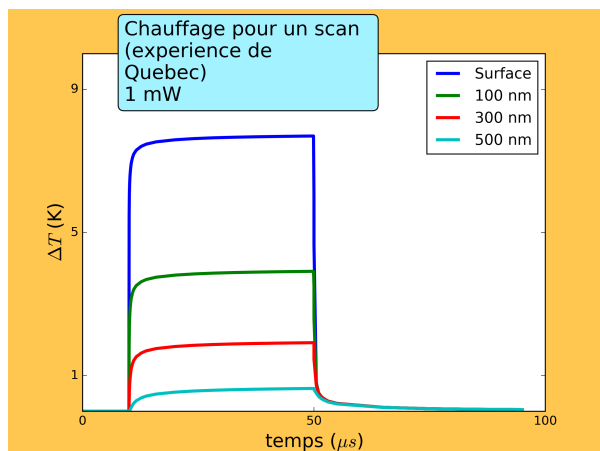
(c) Chauffage à 50 nanomètres de la particule pour les modèles pulsé et continu.



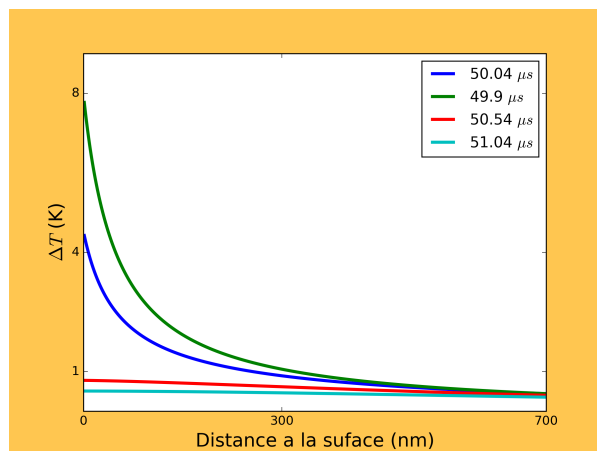
(d) Agrandissement temporel à 50 nanomètres de la particule.

Figure 3.3 Comparaison des résultats pour le modèle prenant en compte les impulsions femtosecondes et le modèle continu. Dans la suite du travail, on utilise le chauffage calculé pour le modèle continu, dans le cas de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10].

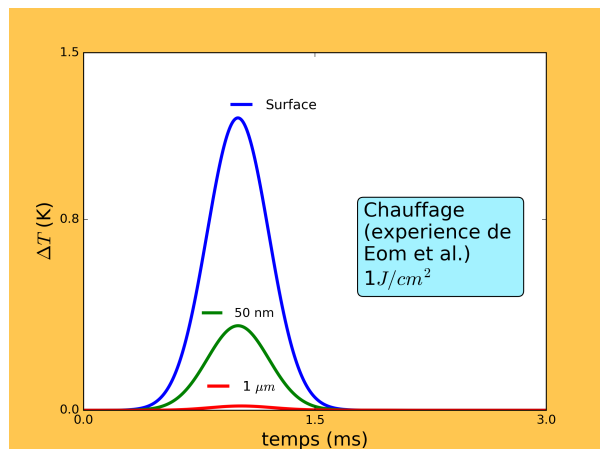
Expérience de Eom et al. [45] Cette expérience utilise des impulsions de 1 milliseconde. Pour simplifier le modèle, étant donné la polarisation aléatoire des nanobâtons, on utilise des nanoparticules sphériques qui absorbent une énergie équivalente.



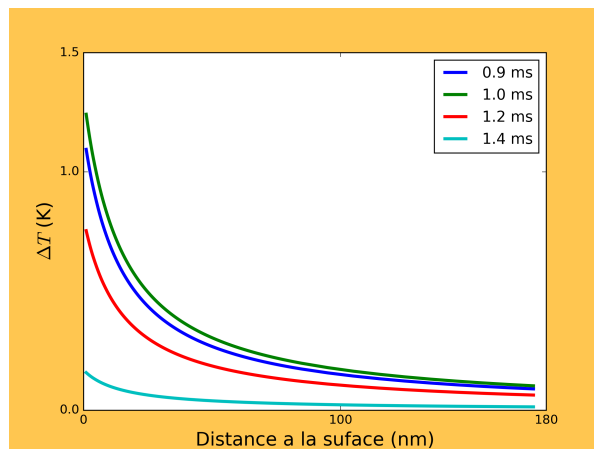
(a) Chauffage pour un balayage de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al., en fonction du temps, pour plusieurs distances.



(b) Chauffage pour un balayage de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al., à en fonction de la distance à la surface de la AuNP.



(c) Chauffage pour un balayage de l'expérience de Eom et al., en fonction du temps.



(d) Chauffage pour un balayage de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al., à en fonction du temps.

Figure 3.4 Résultats de chauffage obtenus à partir du modèle numérique sous l'hypothèse d'une symétrie sphérique.

Nous disposons maintenant d'informations sur le chauffage provoqué par l'irradiation laser des nanoparticules dans les expériences de SNAN. Nous allons utiliser ces informations pour étudier l'influence de ce chauffage sur les modèles de neurones.

3.3 Modèles numériques basés sur les canaux ioniques

3.3.1 Position du problème

Nous souhaitons maintenant proposer des modèles numériques basés sur les canaux ioniques pour quantifier l'effet d'un chauffage sur un neurone, et les comparer aux résultats des expériences de SNAN afin de soutenir ou de réfuter l'hypothèse d'un mécanisme basé sur les canaux ioniques. Comme nous l'avons vu dans la revue de littérature à la section 2.1.4, plusieurs types de modèles existent pour décrire les neurones en général, et les canaux ioniques en particulier. Cependant, ces modèles n'ont pas encore été confrontés aux résultats de SNAN et de NSI.

Dans cette optique, tout modèle de canal ionique permettant d'intégrer une variation dynamique de la température pourrait être utile. Une autre qualité de ce modèle serait qu'il s'applique à un canal perméable au calcium, puisque nous voulons évaluer la variation du calcium intracellulaire. Idéalement, le canal décrit serait aussi un canal connu pour être présent à la surface des neurones que nous avons considéré précédemment, comme un neurone hippocampal de rat ou de ganglion spinal.

Des modèles de Hodgkin-Huxley, un modèle thermodynamique et des modèles de Markov remplissent les conditions précédentes.

3.3.2 Modèle de Hodgkin-Huxley

Le modèle le plus simple étant le modèle de Hodgkin-Huxley (HH), il est naturel de le tester en premier. La température est directement intégrée au modèle HH par l'intermédiaire de coefficients, appelés facteurs Q_{10} [131]. Ces facteurs permettent de quantifier l'influence de la température sur plusieurs grandeurs du modèle. Les facteurs Q_{10} classiques sont ceux qui permettent de moduler les taux de transition des équations 2.6. Ainsi, le taux α est modifié selon :

$$\alpha(T_2) \leftarrow \alpha(T_1) Q_{10}^{\frac{T_2 - T_1}{10}} \quad (3.2)$$

Où T_1 et T_2 sont deux températures. En général, T_1 est une température de référence à partir de laquelle on calcule l'effet du chauffage sur les taux de transition. Les facteurs Q_{10} sont obtenus de façon expérimentale et sont souvent de l'ordre de 1 ou 2, et même supérieurs à 10 dans des cas extrêmes [91, 93].

Application à un modèle dans l’environnement NEURON Nous avons intégré le chauffage calculé dans la section 3.2 dans un modèle de neurone hippocampal de rat issu de la base de données ModelDB [113]. Ce modèle est lié à l’article de Hemmond et al. [7] et contient de nombreux canaux ioniques de type HH. Bien plus complet que le modèle Hodgkin-Huxley primitif car il contient bien plus de types de canaux ioniques (plus de 10), ce modèle est par ailleurs plus adapté à notre besoin puisqu’il modélise un neurone hippocampal et non pas un axone de calamar. Enfin, il contient des canaux calciques, dont par exemple des canaux T-type et L-type. Chacun de ces canaux ioniques est modélisé dans un fichier écrit dans le langage NMODL (Neuron Model Description Language). La plupart contient un des facteurs Q_{10} précédemment mentionnés, variant entre 1 et 5.

L’annexe E présente des informations utiles à propos de la modélisation numérique dans l’environnement NEURON, concernant par exemple la topologie du neurone, la précision de la discrétisation, et le calcul de grandeurs physiques comme le courant calcique.

Résultats L’inclusion du chauffage dynamique de l’expérience de Lavoie-Cardinal et al. ainsi que du chauffage de l’expériences de Eom al al. donne une variation négligeable du courant calcique et du potentiel de la membrane. Les deux quantités varient de moins de 0.1%. Un modèle HH incluant une dépendance en température matérialisée par les facteurs Q_{10} n’est donc pas suffisant pour reproduire une augmentation de la concentration intracellulaire en calcium, ou une dépolarisation. Nous avons donc besoin d’éléments supplémentaires pour espérer comprendre les résultats de SNAN. Ceci n’est pas très surprenant, étant donnée la nature des facteurs Q_{10} , qui sont obtenus de façon exclusivement expérimentale et dont la valeur est discutable physiquement [132], surtout dans le cas d’un chauffage dynamique.

3.3.3 Modèle thermodynamique

Les modèles thermodynamiques font naturellement intervenir la température et il semble pertinent d’analyser leurs prédictions en réponse à un chauffage. Destexhe et Huguenard proposent des modèles thermodynamiques pour modéliser le courant des canaux T-type [5] pour des neurones thalamiques. Si ces neurones ne sont pas des neurones hippocampaux ou spinaux, il est tout de même intéressant d’étudier les prédictions de ce modèle. Quatre portes de type Hodgkin-Huxley sont utilisées, trois portes de type m et une porte p , si bien que la probabilité d’ouverture d’un canal s’écrit m^3p . Le modèle le plus performant est un modèle thermodynamique fortement non linéaire dans lequel l’énergie libre de transition inclut des termes d’ordre 3. Les équations de ce modèle sont présentées à l’annexe C.

Nous avons calculé l’effet des chauffages calculés pour les expériences de Lavoie-Cardinal et

al. et Eom et al. sur ce modèle. L'impact du chauffage est très faible : les variables m et p varient de moins de 0.1%, ainsi que la probabilité d'ouverture du canal. Ce modèle ne permet donc pas de prédire l'influx de calcium observé dans les expériences de SNAN.

Cependant, il est important de noter que ce modèle est obtenu davantage pour reproduire le comportement du canal sur une gamme de potentiels, et non sur une gamme de températures. Malgré sa forme thermodynamique, il n'a donc pas l'ambition de permettre de prédire la probabilité d'ouverture du canal après un chauffage.

3.3.4 Modèles de Markov

Nous allons nous intéresser à trois modèles de Markov qui décrivent des canaux ioniques tels que le canal TRPV1, le canal TRPM8 et le canal « T-type ». Nous analyserons d'abord l'influence d'une température constante sur ces canaux, puis nous inclurons le canal TRPV1 dans un modèle de neurone hippocampal à l'aide de l'environnement NEURON.

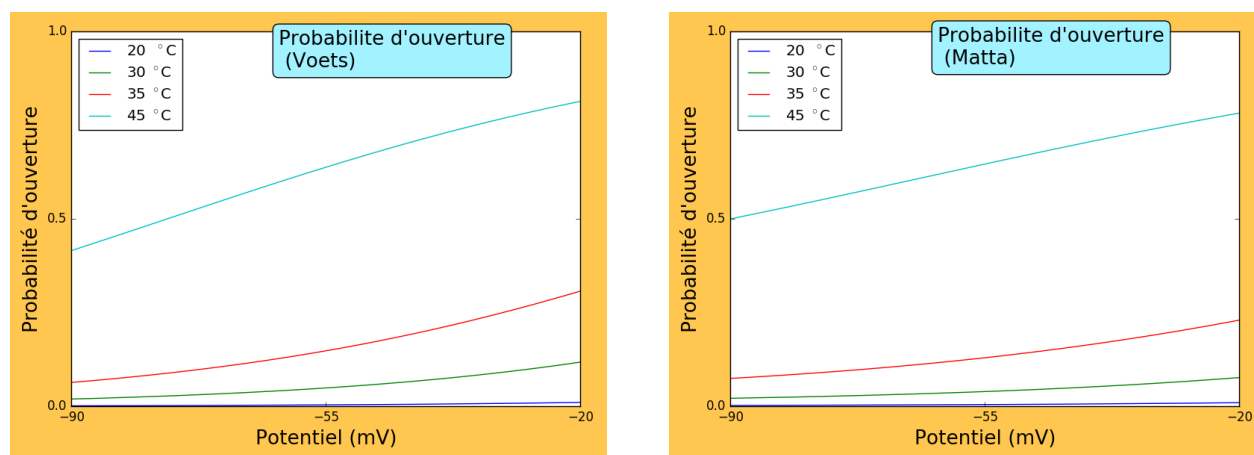
Influence de la température

Canal TRPV1 Le canal TRPV1 est l'un des canaux les plus étudiés de la famille TRP [8, 73, 82, 89, 90, 106, 133]. Il est connu pour être sensible à un chauffage et pour s'activer quand la température dépasse 42 °C. Voets et al. ont proposé un modèle de Markov à deux états pour ce canal, dont les taux de transition sont basés sur la théorie des taux de réaction d'Eyring [8]. Si α désigne le taux de transition vers l'état ouvert en partant de l'état fermé, et β le taux de transition inverse, comme à la figure 2.6, nous avons

$$\begin{cases} \alpha = A \exp\left(-\frac{E_{ouverture}}{RT}\right) \exp\left(\frac{\delta z F V}{RT}\right) \\ \beta = B \exp\left(-\frac{E_{fermeture}}{RT}\right) \exp\left(-\frac{(1-\delta z F V)}{RT}\right) \end{cases} \quad (3.3)$$

Où A et B désignent respectivement des facteurs préexponentiels homogènes à des fréquences et $E_{ouverture}$ et $E_{fermeture}$ désignent les énergies d'ouverture et de fermeture du canal. Ces paramètres sont obtenus de façon expérimentale par Voets et al. Ils permettent de reproduire le comportement du canal TRPV1 au moins entre 15 °C et 42 °C [8]. La possibilité de modéliser le canal TRPV1 par un modèle à seulement deux états a été mise en doute [3, 133]. Latorre et al. [133] affirment qu'un modèle minimal décrivant le canal TRPV1 devrait comporter aux moins deux états fermés. Cependant, il n'existe pas à notre connaissance un tel modèle quantitatif dans la littérature. De plus, un modèle à deux états procure des informations importantes sur le canal, même s'il s'agit d'une simplification.

Par ailleurs, un modèle allostérique de type MWC a également été proposé [90]. La figure 3.5 présente la probabilité d'ouverture du canal TRPV1 en fonction du potentiel, pour plusieurs températures, à l'état stationnaire, selon les deux modèles précédents. Nous calculons la probabilité d'ouverture à l'aide du langage Python (Python Software Foundation, disponible à l'adresse <http://www.python.org>). On observe que les résultats de ces deux modèles sont semblables.



(a) Modèle de Voets à deux états [8]

(b) Modèle allostérique de Matta [90]

Figure 3.5 Probabilité d'ouverture stationnaire du canal TRPV1 pour deux différents modèles de type Markov. Le modèle allostérique permet de prendre en compte un plus grand nombre d'états mais ne permet pas de quantifier la dynamique d'ouverture du canal (c'est-à-dire sa cinétique, ou la vitesse d'ouverture et de fermeture).

Il apparaît que les modèles numériques permettent de décrire une forte influence de la température sur ce canal. Comme nous l'avons évoqué dans la revue de littérature de ce travail, les modèles allostériques fournissent des constantes d'équilibre, mais ne permettent pas de décrire la dynamique d'un canal. Pour effectuer une simulation stochastique de l'ouverture du canal TRPV1, nous devons donc utiliser le modèle à deux états.

Afin d'étudier le caractère probabiliste du canal, on simule un grand nombre de trajectoires stochastiques à partir du modèle de Voets et al. [8], à l'aide d'un script que nous écrivons de nouveau en langage Python. Par la suite, nous utiliserons ce langage pour générer toutes les trajectoires stochastiques. Pour chaque trajectoire, le canal est ouvert pendant une certaine fraction du temps et fermé le reste du temps. On va analyser l'impact de la température sur cette statistique, sous la forme du pourcentage de temps ouvert.

Afin d'analyser les résultats statistiques, on les représente de façon graphique. Lancer un grand nombre de simulations probabilistes permet d'obtenir une distribution de valeurs aléa-

toires. La figure 3.6 expose les différents éléments de représentation de la statistique de la distribution. On montre en particulier la valeur moyenne, et la médiane. Les boîtes colorées contiennent les deux quartiles centraux, c'est-à-dire 50% de la distribution.

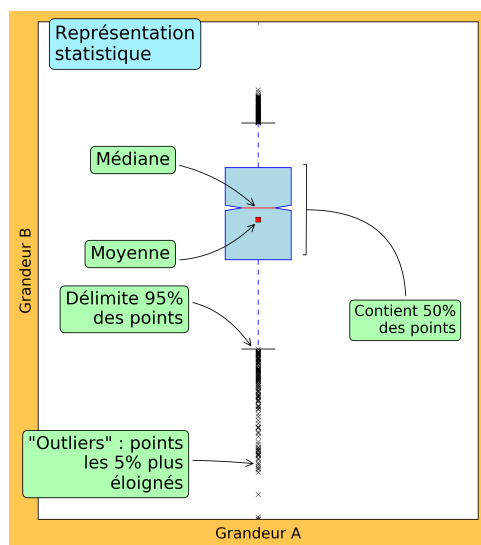


Figure 3.6 Représentation statistique d'une distribution de valeurs. Les pointillés délimités par des traits horizontaux délimitent 95 % de la population. Parfois, on représente les points extrêmes de la distribution, nommés « outliers ».

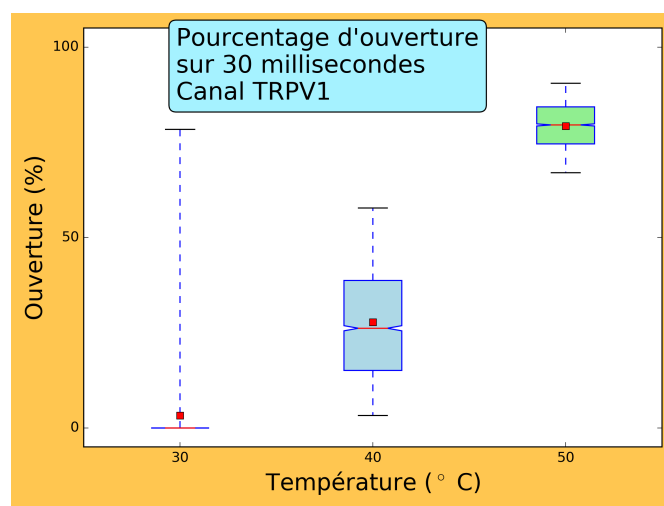


Figure 3.7 Représentation statistique de l'ouverture du canal TRPV1 par le modèle de Markov à deux états [8]. Pour plusieurs températures, on représente la distribution du pourcentage d'ouverture du canal pendant une simulation probabiliste de 30 millisecondes. Le carré rouge représente la moyenne, la ligne rouge la médiane. Par exemple, en moyenne, le canal est ouvert près de 80% du temps pour une température de 50 °C. Les boîtes colorées contiennent la moitié de la distribution et 95% des données sont contenues entre les prolongements pointillés.

La figure 3.7 présente la statistique du pourcentage d'ouverture du canal pour une simulation stochastique de 30 millisecondes, à partir de 3000 essais (comme tous les représentations statistiques suivantes). Pour chaque température considérée, on représente la moyenne du pourcentage d'ouverture pendant la simulation, et des informations statistiques sur cette distribution. Par exemple, pour une température de 30 °C, le canal est en moyenne ouvert moins de 5% du temps, tandis que pour une température de 50 °C, le canal est ouvert en moyenne près de 80 % du temps. On représentera par la suite les résultats statistiques de façon similaire. On constate que pour une température ambiante de 30 °C (qui est la température ambiante dans l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10]), un chauffage de l'ordre de 10 °C favorise donc nettement l'ouverture des canaux TRPV1.

Canal TRPM8 Afin d'apporter une illustration complémentaire, nous présentons les résultats obtenus pour un modèle à deux états pour le canal TRPM8. Au contraire du canal TRPV1, le canal TRPM8 s'active en réaction au froid [8]. Le résultat est présenté à la figure 3.8.

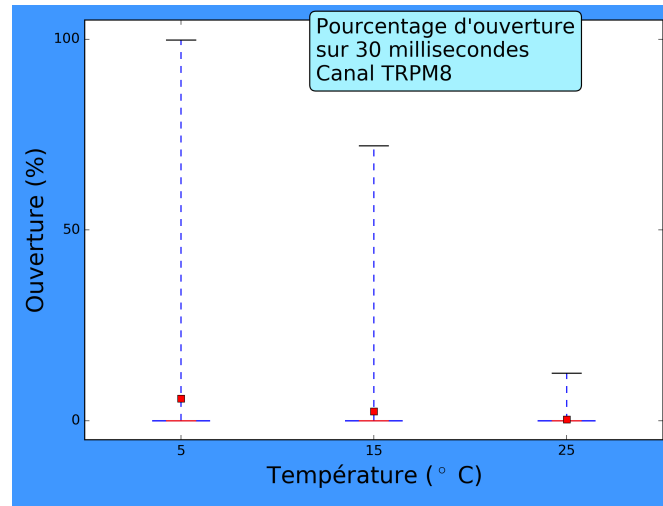


Figure 3.8 Représentation statistique de l'ouverture du canal TRPV1 par le modèle de Markov à deux états [8]. La représentation statistique est similaire à celle de la figure 3.7.

Canal T-type Chen et al. proposent un modèle de Markov à cinq états pour les canaux T-type [9, 100], pour le neurone thalamique. Certains taux de transition sont constants dans ce modèle. Les autres sont exprimés en fonction de l'énergie électrostatique et de l'agitation thermique, de façon analogue à un taux de réaction d'Eyring sans prise en compte d'une énergie intrinsèque de changement de configuration. Par exemple, l'un de ces taux s'écrit $6.4 \exp(q(V - s)/RT)$ (en ms^{-1}), où $s = -5mV$ est un paramètre expérimental permettant

de décaler la dépendance en température du canal et correspondre aux données empiriques. Les équations pour ce modèle sont présentées à l'annexe D.

Contrairement au modèle de Voets et al. [8], le modèle de Chen et al. n'est pas conçu explicitement pour la température, mais plutôt pour reproduire le comportement du canal pour plusieurs potentiels de la membrane. Cependant, il est tout de même intéressant d'étudier l'impact d'un chauffage sur ce modèle. Le résultat est présenté à la figure 3.9.

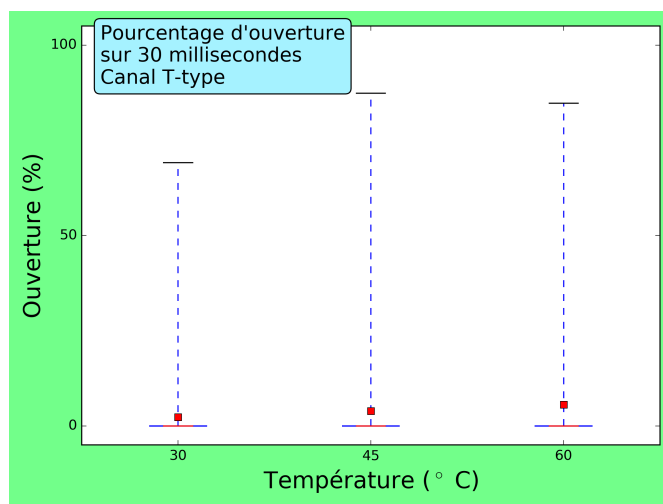


Figure 3.9 Représentation statistique de l'ouverture du canal TRPV1 par le modèle à cinq états pour un canal T-type thalamique [9], pour trois températures différentes. La procédure de calcul est la même qu'à la figure 3.7. L'influence de la température est moins nette dans ce modèle que dans les modèles à deux états des canaux TRP.

Conclusion Le canal TRPV1 semble donc être un très bon candidat pour être à l'origine d'un influx de calcium après un chauffage. De plus, on dispose d'un modèle numérique permettant de prédire une augmentation conséquente de son activité avec un chauffage. Cet effet est bien moins apparent dans le modèle de canaux T-type de Chen et al. Afin d'analyser l'effet de ce canal sur un neurone, nous allons maintenant l'inclure dans un modèle complet de neurone hippocampal à l'aide de l'environnement NEURON.

Inclusion du TRPV1 dans un modèle global de neurone

On souhaite inclure le canal TRPV1 dans le modèle de neurone hippocampal de rat de Hemond et al. [7], en supposant ainsi que ce canal est présent sur la membrane, au niveau d'un dendrite. En effet, l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10] est effectuée sur les dendrites d'un neurone hippocampal dans la majorité des cas. Le modèle de neurone contient une dizaine d'autres types de canaux ioniques pour le calcium, le sodium et le potassium [7].

La figure 3.10 récapitule les différents éléments du modèle global : le modèle de Markov pour le canal TRPV1 [8], les modèles de Hodgkin-Huxley pour les autres canaux ioniques [7], le modèle de propagation du potentiel membranaire (équation du câble), le modèle de chauffage, et le modèle de diffusion du calcium prenant en compte la diffusion radiale et longitudinale du calcium ainsi que le buffering [134]. Le buffering est un phénomène biologique très complexe qui est lié à l'utilisation du calcium dans la cellule (voir annexe E).

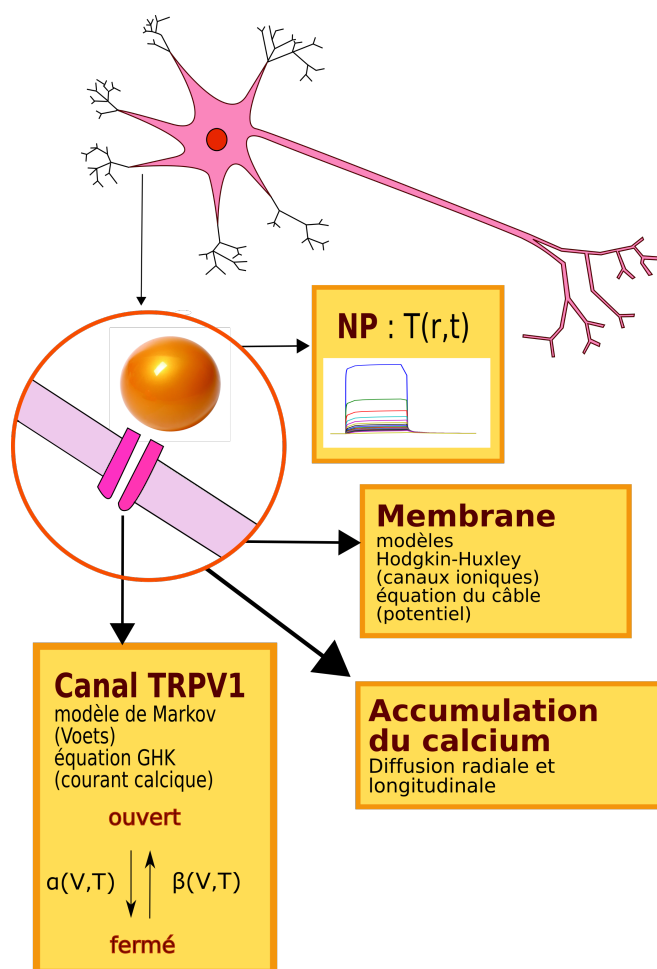


Figure 3.10 Modèle complet pour l'inclusion d'un chauffage dynamique du canal TRPV1 par le modèle de Markov à deux états [8]

Deux modèles possibles En réalité, nous avons deux possibilités pour modéliser la présence du canal TRPV1 à la surface du dendrite, à partir du modèle de Markov. La première possibilité est de simuler le canal de façon stochastique. On considère alors une trajectoire aléatoire pour le canal, dont la loi de probabilité suit le modèle de Markov de Voets et al. [8]. La seconde possibilité est d'utiliser un modèle continu. En effet, si un grand nombre de canaux

sont présents, leur statistique générale peut être approximée en moyenne par leur probabilité d'ouverture. Dans ce cadre, on calcule la fraction de canaux ouverts avec le modèle de Markov. Pour avoir un sens dans le cas présent, cette approche nécessite que de nombreux canaux soient présents dans la zone de chauffage. Avec le modèle numérique de chauffage présenté à la section 3.2.2, on peut estimer que cette aire est de l'ordre du μm^2 . Ainsi, pour être valable, un modèle continu utilisant le modèle de Markov nécessite une densité garantissant un grand nombre de canaux TRPV1 dans une surface de $1 \mu m^2$, par exemple 50 canaux par μm^2 .

La densité surfacique des canaux à la surface d'un neurone n'est pas une grandeur uniforme. De plus, elle varie d'un neurone à l'autre. Par ailleurs, il n'existe pas à notre connaissance de données numériques quantifiant la densité surfacique des canaux TRPV1 à la surface des neurones. La littérature rapporte des valeurs numériques très diverses concernant la densité : à titre d'exemple, Arem et al. [78] rapportent des densités allant de 1 canal par μm^2 à 2000 canaux par μm^2 , pour des canaux à sodium de neurones de rats. Ainsi, si nous ne pouvons pas avoir la certitude que nous sommes dans la région de validité d'un modèle continu, il reste possible que ce modèle soit valable. Nous présentons maintenant les résultats obtenus pour les deux modèles : le modèle stochastique et le modèle continu.

Modèle stochastique Dans le cadre du modèle stochastique, le comportement du canal est simulé de façon indépendante, hors de l'environnement NEURON, dans un programme Python séparé. Ce programme génère un grand nombre de trajectoires, dont la statistique est déterminée par la température. On utilise la température calculée par le modèle numérique pour l'expérience de Lavoie-Cardinal et al., avec 30 balayages et une irradiation de 30 millisecondes. Expérimentalement, on estime en effet que la particule reçoit entre 4 et 40 balayages, comme nous l'avons vu précédemment. Utiliser 30 balayages devrait nous donner une bonne indication sur l'effet du chauffage sur le canal TRPV1 et le neurone. L'effet serait moins prononcé avec moins de balayages, et davantage prononcé avec plus de balayages.

La figure 3.11 présente les résultats du programme stochastique et permet d'évaluer l'impact de la distance entre la particule et le canal sur la statistique d'ouverture de celui-ci. Elle représente de façon statistique le temps d'ouverture du canal TRPV1 en fonction de la puissance moyenne d'irradiation, pour plusieurs distances entre la surface de la nanoparticule et le canal TRPV1 (respectivement 1 nanomètre et 20 nanomètres). D'une part, l'augmentation de la puissance laser augmente la probabilité que le canal soit ouvert. Mais d'autre part, plus la distance entre la particule et le canal est faible, plus l'effet est important, puisque le chauffage perçu par le canal est plus fort. L'effet est encore visible pour une distance de l'ordre de 100 nanomètres, mais son amplitude est naturellement moindre (données non montrées).

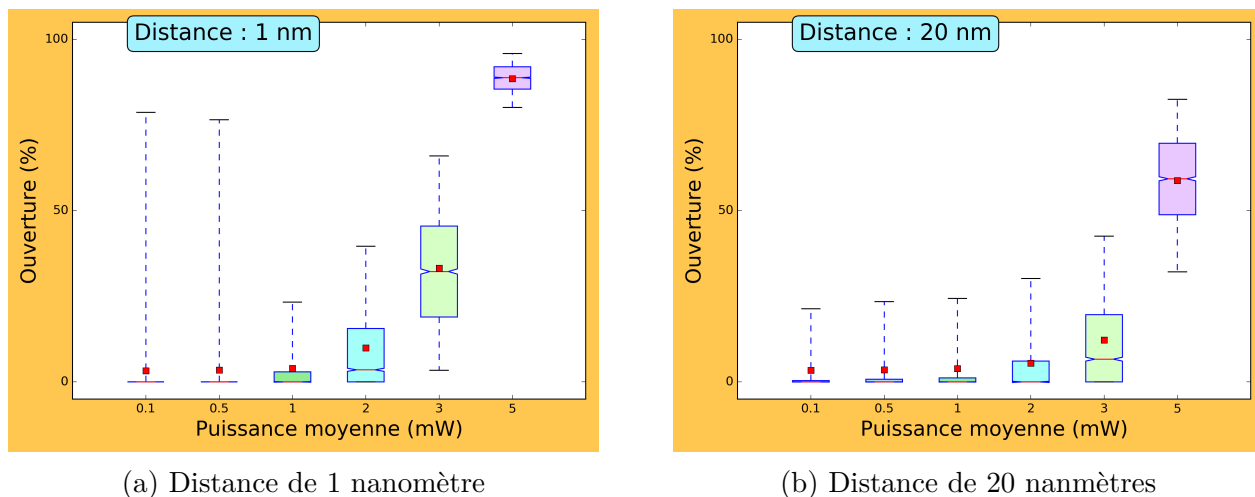


Figure 3.11 Ouverture statistique du canal TRPV1 en fonction de la puissance moyenne d'irradiation, pour différentes distances entre la surface de la nanoparticule et le canal TRPV1. L'augmentation de la puissance laser augmente la probabilité que le canal soit ouvert. Une plus grande distance entre les deux objets atténue l'effet, puisque le chauffage perçu par la particule sera d'autant plus faible que cette distance est grande.

Lors des simulations du modèle complet incorporant le canal TRPV1 dans le neurone, on suppose que le canal est très proche de la surface de la particule (distance de l'ordre du nanomètre). On contrôle alors l'ouverture du canal par les trajectoires stochastiques.

Afin de quantifier l'effet sur le neurone, on suppose que le canal possède une conductance unitaire de 20 pS pour le calcium, en nous basant sur Caterina et al. [135] ainsi que sur les ordres de grandeurs fournis sur la base de donnée « Guide to pharmacology » [85]. La conductance indiquée par ces sources dépend du potentiel de la membrane, et les valeurs indiquées peuvent différer de plusieurs dizaines de pS. Cependant, toutes les valeurs disponibles dans la littérature sont supérieures à 20 pS.

Initialement, la concentration calcique intracellulaire est de 50 nM et la concentration calcique extracellulaire est de 2 mM. Cette forte différence de concentration est à l'origine d'un fort gradient thermodynamique, dû au gradient de concentration.

La figure 3.12 montre un exemple de simulation. Le canal s'ouvre aléatoirement, et provoque courant calcique. Ce courant entraîne une augmentation de la concentration intracellulaire en calcium et une légère dépolarisation. On remarque que l'amplitude du courant n'est pas constante, puisque dans le cadre de l'équation GHK, le courant est calculé de façon thermodynamique en fonction du potentiel et du rapport des concentrations calciques intracellulaire et extracellulaire. L'amplitude du courant diminue avec le temps : en effet, l'ouverture du

canal a tendance à équilibrer les deux côtés de la membrane, en équilibrant les concentrations ioniques.

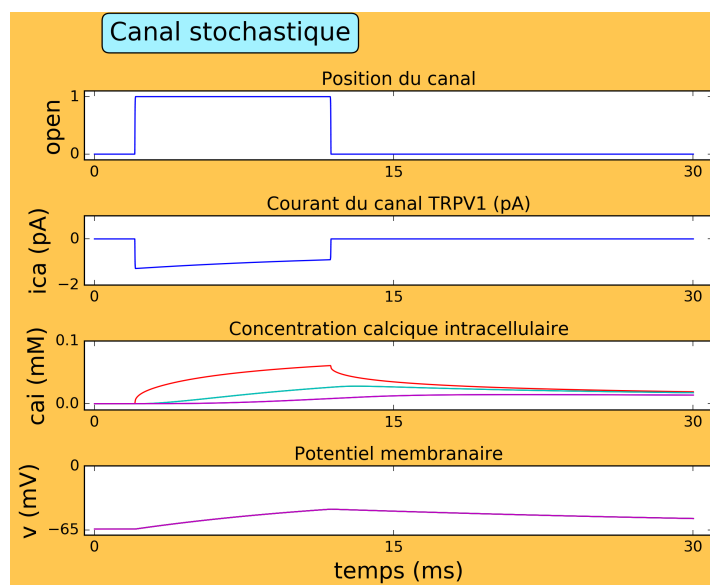
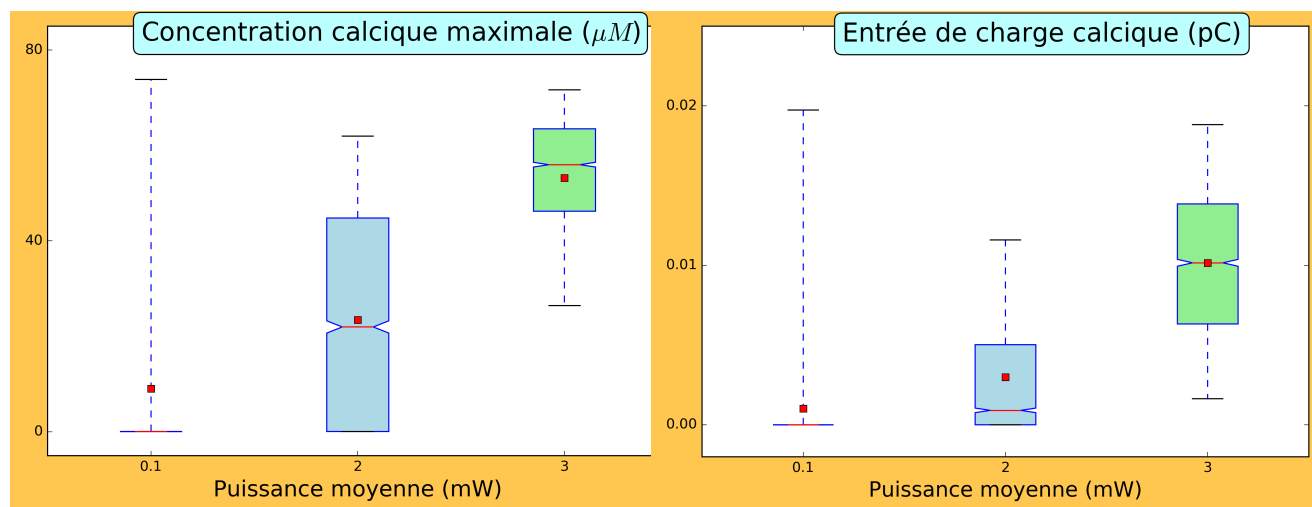


Figure 3.12 Exemple d'une trajectoire pour le modèle stochastique. L'influx de calcium provoque une augmentation de la concentration calcique intracellulaire et une dépolarisation. Pour la concentration calcique, les différentes courbes correspondent à plusieurs points le long de l'axe du dendrite. Plus on s'éloigne de la particule, moins la concentration augmente. Par exemple, la courbe violette correspond à une distance de 160 nm.

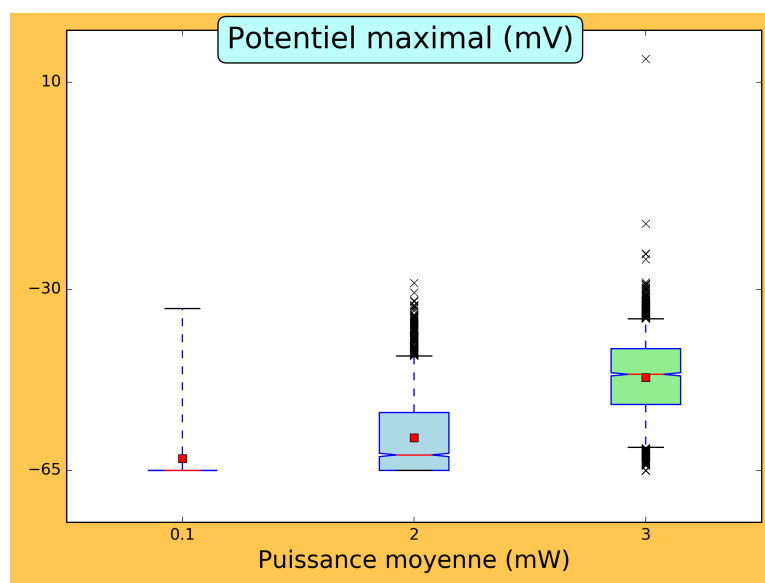
Dans ce modèle, nous avons supposé qu'un canal TRPV1 est présent à la surface du neurone, à proximité de la surface de la particule (distance de l'ordre du nanomètre). Il est difficile de savoir si cette hypothèse est vérifiée expérimentalement, car il est très difficile de contrôler la distance entre la particule et le canal. Si la distance entre la surface de la particule et le canal TRPV1 est plus importante, l'effet sera moindre puisque le chauffage perçu par le canal sera plus faible. Par ailleurs, la présence de plusieurs canaux TRPV1 stochastiques ne pourrait qu'amplifier l'effet.

La figure 3.13 rassemble les résultats du modèle stochastique et les représente de façon statistique. Elle permet de comparer la variation des grandeurs biophysiques pour les trois puissances laser utilisées : on représente la concentration calcique maximale au cours d'une simulation, l'entrée totale de charge calcique, et le potentiel maximal. Plus la puissance laser est importante, plus il est probable d'avoir une variation de grande amplitude d'une des grandeurs biophysiques considérées. L'augmentation de la puissance augmente la probabilité d'observer une entrée de calcium. Dans certains cas extrêmes, un potentiel d'action est même déclenché.



(a) Concentration calcique maximale.

(b) Charge calcique totale.



(c) Potentiel maximal lors des trajectoires stochastiques. On représente ici également les points extrêmes, c'est-à-dire les points qui sont parmi les 5% les plus éloignés de la valeur médiane. Ceci nous permet d'observer qu'un potentiel d'action est déclenché dans une des trajectoires.

Figure 3.13 Influence de la puissance laser sur la concentration calcique maximale, la charge calcique totale, et le potentiel. On présente de façon statistique la variation des grandeurs biophysiques considérées. La probabilité que l'effet soit important augmente avec la puissance. Un potentiel d'action est même déclenché pour une trajectoire stochastique et une puissance de 3 mW.

Augmenter la puissance du laser favorise un courant calcique, une augmentation de la concentration calcique intracellulaire, et favorise une dépolarisation. La probabilité de pouvoir observer un effet sur le neurone augmente lorsqu'une plus grande énergie est déposée. Le modèle permet donc de reproduire des résultats en accord avec les expériences, puisque nous avons utilisé des puissances laser en accord avec les puissances expérimentales utilisées : dans l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10], le phénomène est observé pour une puissance de l'ordre de 1 ou 2 mW.

Modèle continu Dans le cadre du modèle continu, on considère que plusieurs canaux TRPV1 sont présents dans la membrane du neurone. Les canaux sont alors à l'origine non pas d'un courant ponctuel exprimé en ampères, mais d'une densité de courant exprimée en ampères par unité de surface. On suppose toujours une conductance de 20 pS pour un canal seul, et on utilise une densité de canaux de 50 canaux par μm^2 , afin d'être dans les conditions de validité du modèle continu (voir la section 3.3.4). Le courant est donné par l'équation GHK multipliée par la fraction p_o des canaux ouverts, qui varie entre 0 et 1. Celle-ci est donnée par le modèle de Markov et Voets et al. [8] et suit l'équation

$$\frac{\partial p_o}{\partial t} = \alpha(V, T)p_o - \beta(V, T)(1 - p_o) \quad (3.4)$$

La figure 3.14 montre un exemple de simulation avec le modèle continu. On présente la température probabilité d'ouverture, la densité de courant calcique, la concentration calcique intracellulaire et le potentiel de la membrane en fonction du temps, en supposant que la particule reçoit 30 balayages.

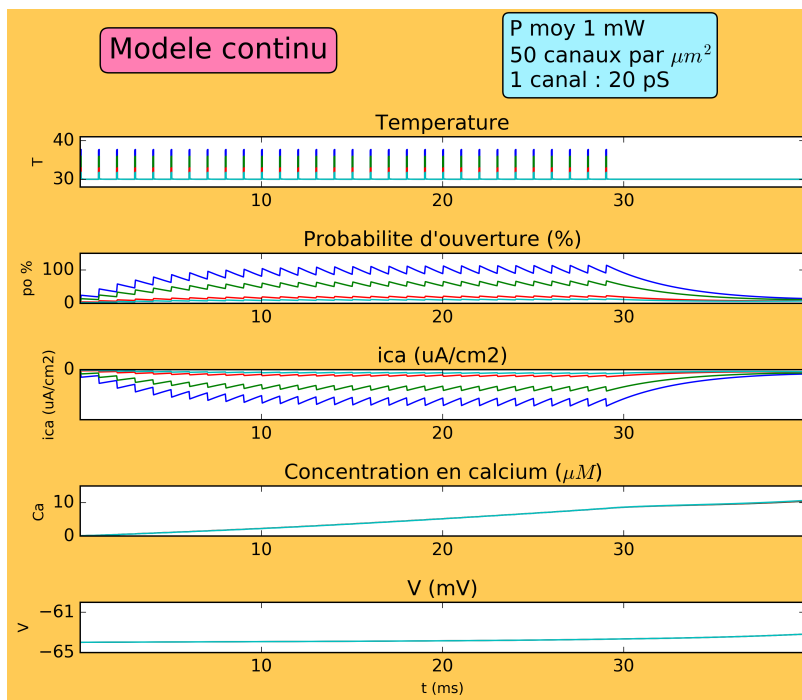
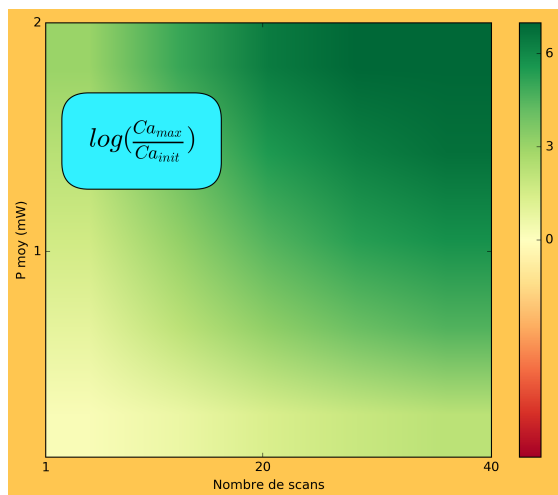
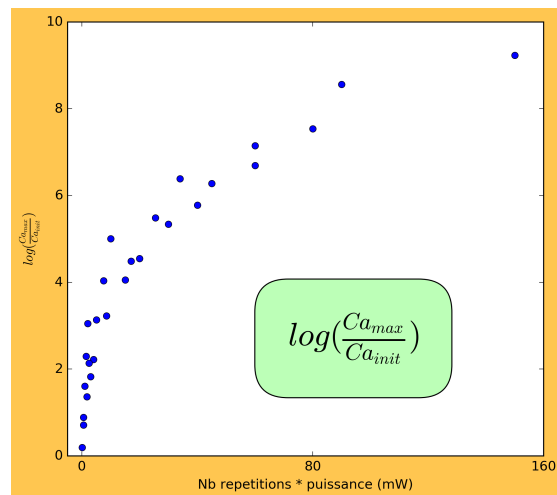


Figure 3.14 Simulation de l'effet sur le neurone d'une irradiation avec une puissance moyenne de 1 mW avec le modèle continu. Les différentes courbes correspondent à différentes distances à la particule.



(a) Augmentation relative de la concentration calcique intracellulaire au niveau de la particule, en fonction de la puissance du laser et du nombre de balayages reçus.



(b) Effet du produit de la puissance laser et du nombre de balayages reçus.

Figure 3.15 Influence de la puissance laser et du nombre de balayages reçus par la particule sur la concentration.

La figure 3.15 présente l'influence des paramètres laser sur la variation des différentes grandeurs physiques. Comme le modèle stochastique, le modèle continu prédit une accentuation de l'effet sur le neurone lorsque la puissance laser augmente : la concentration calcique intracellulaire maximale est plus importante quand l'énergie déposée augmente.

Les expériences de SNAN n'apportent pas d'information quantitative au sujet de la variation de concentration calcique intracellulaire, car il est très difficile de faire le lien entre la fluorescence (qui est la grandeur détectée) et la concentration effective. Malgré cela, le modèle est encourageant car il permet de dégager une tendance en accord avec l'expérience, c'est-à-dire une augmentation de la concentration intracellulaire, et même une dépolarisation.

La concentration calcique intracellulaire maximale fournie par le modèle stochastique est en moyenne de l'ordre de $60 \mu M$ pour une puissance de 3 mW avec 30 balayages (voir figure 3.13). Dans le cas du modèle continu, on obtient une concentration maximale de l'ordre de $50 \mu M$ pour une puissance de 2 mW et 40 balayages. Les deux modèles fournissent donc des ordres de grandeur semblables.

3.4 Théorie de Gouy-Chapman-Stern et courant capacitif

3.4.1 Courant capacitif et formalisme

Il existe une théorie radicalement différente qui pourrait permettre d'évaluer l'effet du chauffage causé par la nanoparticule sur la membrane neuronale. Celle-ci est issue du travail de Shapiro et al. [6], qui tente d'expliquer la stimulation infrarouge de cellules. Dans leurs expériences, un chauffage laser génère un courant dépolarisant. Shapiro et al. affirment que cette stimulation est liée à un courant capacitif dû aux propriétés de la bicouche lipidique, mais pas aux canaux ioniques. Pour soutenir leur affirmation, Shapiro et al. effectuent des mesures sur des bicouches artificielles qui ne contiennent pas de canaux ioniques et ils observent effectivement les courants dépolarisants.

Cette approche pourrait permettre d'évaluer la dépolarisation provoquée par le chauffage. Toutefois, le courant spécifique du calcium n'est pas explicite dans le modèle que nous présentons ci-dessous. Les cellules utilisées initialement par Shapiro et al. ne sont pas des neurones, mais par exemple des ovocytes. Toutefois, nous pouvons tout de même utiliser leur travail pour faire une évaluation de l'ordre de grandeur de la dépolarisation causée par le courant capacitif.

Le travail de Shapiro et al. se base sur la théorie Gouy-Chapman-Stern (GCS) des doubles couches électriques. Ce formalisme permet de déterminer la variation de la charge électrique de part de d'autre de la membrane en fonction temps, ce qui correspond à un courant. Il

s'appuie en partie sur le travail de Genet et al. [121], qui étudie les conditions de validité de différentes approximations pour le calcul des charges membranaires de surface.

Deux équations principales de départ sont utilisées dans ce cadre : l'équation de Poisson pour le potentiel électrostatique, et l'équation de Poisson-Boltzmann. Cette dernière (équation 3.5) permet de faire le lien entre l'énergie électrostatique en tout point et la distribution de concentration d'une espèce ionique j .

$$c_j(x) = c_j(\infty) \exp\left(-\frac{z_j F \phi(x)}{RT}\right) \quad (3.5)$$

Où F est la constante de Faraday, z la valence de l'espèce ionique, ϕ est le potentiel électrique, et $c_j(\infty)$ la concentration à l'infini. Nous présentons en annexe les équations finales de ce modèle. Il s'agit d'un système de 6 équations à 6 inconnues. La température apparaît explicitement à plusieurs endroits de ces équations, comme par exemple dans la permittivité de la solution aqueuse, $\epsilon_{sol}(T)$ et dans des termes d'agitation thermique RT . Elles permettent de déterminer la densité surfacique de charge, σ , exprimée en C/m^2 . Cette densité surfacique de charge peut être décomposée en deux termes. Un premier terme σ_0 indépendant de la température, et un terme $\delta\sigma(T)$ dépendant de la température. Nous avons alors :

$$\sigma(T) = \sigma_0 + \delta\sigma(T) \quad (3.6)$$

La figure 3.16 représente la partie variable $\delta\sigma(T)$ en fonction de la température, pour les paramètres utilisés dans le modèle de Shapiro et al.

3.4.2 Résultats

Nous présentons le résultat de ce modèle dans le cas de l'irradiation laser de nanoparticules, afin de déterminer l'amplitude totale du courant transmembranaire capacitif. Pour obtenir la densité surfacique de courant $j(x, t)$ à partir de $\sigma(T)$, on utilise le produit de dérivation :

$$j(x, t) = \frac{\partial\sigma(T(x, t))}{\partial T} \times \frac{\partial T(x, t)}{\partial t} \quad (3.7)$$

Il suffit alors d'intégrer $j(x, t)$ en fonction de la position, afin d'obtenir un courant $I(t)$ selon :

$$I(t) = \iint_S j(x, t) dx \quad (3.8)$$

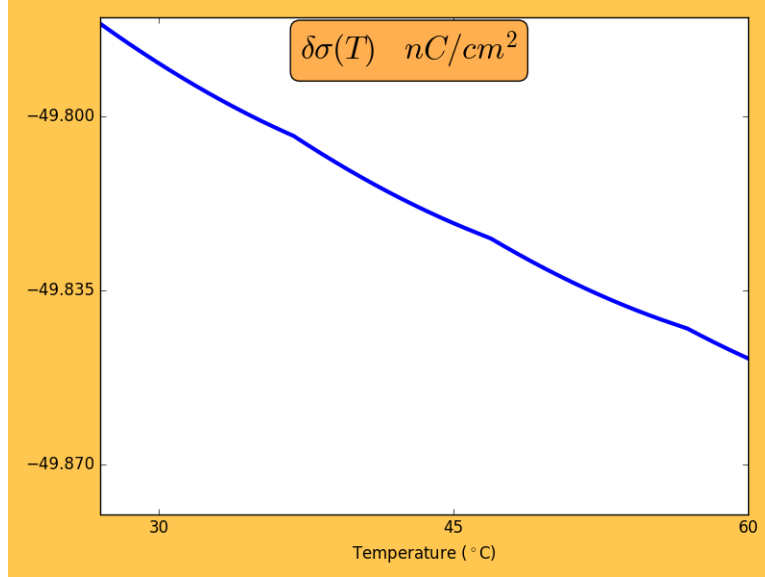


Figure 3.16 Partie variable $\delta\sigma(T)$ de la densité surfacique de charge

Où x couvre la surface d'intégration. En réalité, la température ne dépendant que de la distance à la particule r , nous pouvons utiliser une intégrale unidimensionnelle et tirer parti de la symétrie cylindrique :

$$I(t) = \int j(r, t) \times 2\pi r dr \quad (3.9)$$

Nous présentons les résultats de cette méthode pour l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10] à la figure 3.17 et de Carvalho-de-Souza et al. [49] à la figure 3.18.

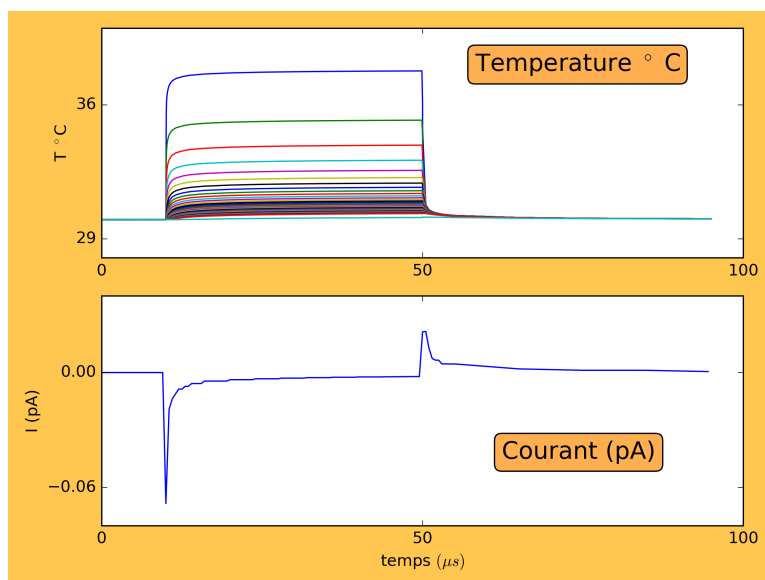


Figure 3.17 Température et courant capacitif issu du modèle de Shapiro et al. pour le chauffage de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. à une puissance moyenne de 1mW. Les différentes courbes correspondent à différents points de la géométrie (différentes distances à la particule).

Dans le cas de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al., on montre le résultat pour un seul balayage. On observe bien un courant dépolarisant, pour une puissance de 1 mW. Ce courant est d'une amplitude et d'une durée trop faibles pour avoir un effet notable sur le potentiel de la membrane (inférieur à 0.1 pA pendant moins de 10 μs). En l'occurrence, le but n'étant pas de provoquer des potentiels d'action mais de stimuler localement la membrane sans stimulation globale du neurone, c'est un résultat plutôt encourageant. Lavoie-Cardinal et al. n'observent pas de potentiel d'action dans la majorité de leurs enregistrements électrophysiologiques [10].

Dans le cas de l'expérience de Carvalho-de-Souza et al., nous présentons le résultat du calcul effectué pour une seule particule. Le courant obtenu est également trop faible pour avoir un effet sur le potentiel de la membrane. Or, lors de l'expérience effectivement réalisée, une concentration de particules est utilisée. Il y a en réalité un grand nombre de particules à proximité de la membrane du neurone. La concentration surfacique de ces particules n'est pas explicitée dans leur travail et il est donc difficile de calculer le courant total. Cependant, en utilisant une concentration de particules, l'effet serait augmenté de façon significative. Une méthode alternative utilisant un modèle continu est proposée par Carvalho et al, qui ne précisent pas s'ils parviennent à modéliser des potentiels d'action.

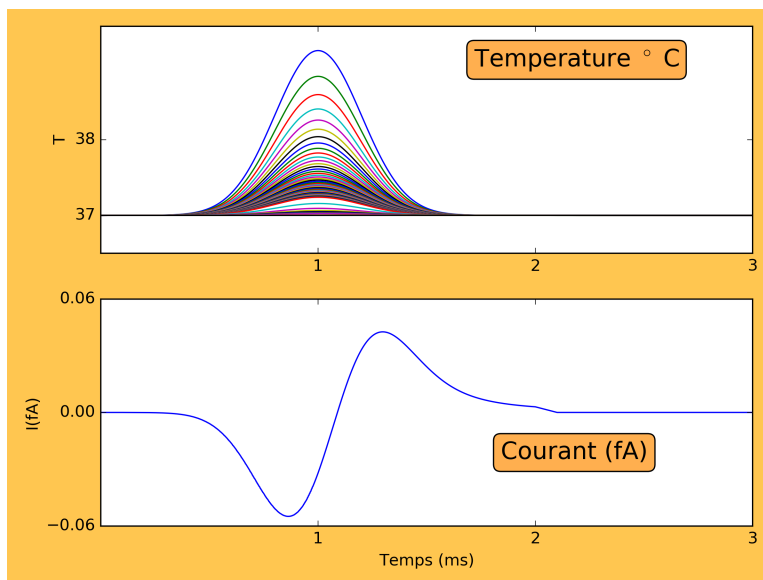


Figure 3.18 Température et courant capacitif issu du modèle de Shapiro et al. pour le chauffage de l'expérience de Carvalho-de-Souza et al. et une intensité de 30 kW/cm^2 . Ce courant est calculé pour une seule particule. En réalité, de nombreuses particules sont utilisées dans cette expérience, car une concentration de particules est injectée dans le dispositif expérimental. Les différentes courbes correspondent à différents points de la géométrie.

3.5 Conclusion et discussion

Nous avons donc utilisé plusieurs modèles basés sur la température pour tenter de comprendre les résultats des expériences de SNAN. Les modèles de Hodgkin-Huxley [7] et le modèle thermodynamique [9] que nous avons utilisés pour évaluer l'impact d'un chauffage ne permettent pas de reproduire un influx de calcium ou une dépolarisation.

Le modèle basé sur le canal TRPV1 est la réunion de plusieurs modèles indépendants, à travers une approche stochastique et une approche déterministe, en supposant que la densité de canaux TRPV1 est suffisamment importante. Il permet d'obtenir une augmentation significative de la concentration intracellulaire en calcium, comme observé expérimentalement, et une dépolarisation, en fonction des paramètres laser.

Le modèle basé sur le courant capacitif est l'application d'un modèle publié par Shapiro et al. avec des chauffages des expériences de SNAN. Dans le cas de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al., ce modèle ne produit pas de potentiel d'action, et ces derniers sont rarement observés expérimentalement. Dans le cas de l'expérience de Carvalho-de-Souza et al, le courant produit est également très faible mais il est plus difficile de faire le lien avec l'expérience en raison de l'utilisation d'une concentration de particules, par opposition à une particule seule.

En conclusion, dans le cadre de l’hypothèse d’un chauffage dynamique, le seul modèle permettant de prédire des résultats en accord avec l’expérience est le modèle incluant le canal TRPV1.

3.5.1 Commentaires sur la validité des modèles

Nous discutons ici quelques hypothèses qui sont implicitement nécessaires pour pouvoir utiliser les modèles précédents dans le cadre de l’hypothèse du chauffage.

Distance à la membrane Dans les expériences réalisées, la distance entre la particule et la membrane n’est pas bien contrôlée et peut même fluctuer au cours d’une expérience. Cette distance semble avoir une importance déterminante sur les résultats expérimentaux, ce qui serait tout à fait cohérent avec les modèles précédents, qui dépendent directement de l’amplitude du chauffage.

Présence du canal TRPV1 La présence du canal TRPV1 n’est pas garantie dans les neurones hippocampaux de rat, mais possible selon la base de données « guide to pharmacology » [85]. Il serait possible de la tester en utilisant des bloqueurs ou des activateurs comme ceci fut fait par Nakatsuji et al. [46] pour une expérience de SNAN sur des neurones du ganglion dorsal du rat.

Nombre de particules Dans l’expérience de Lavoie-Cardinal et al., nous avons utilisé une particule seule. Cependant, il est possible que dans l’expérience, quelques particules supplémentaires soient irradiées par le laser et qu’on ne puisse pas les distinguer au microscope. En effet, leur taille est inférieure à la limite de diffraction. Cependant, la présence de plusieurs particules ne pourrait qu’augmenter l’effet si celui est effectivement provoqué par le chauffage. Modéliser la situation avec une particule seule est donc un point de départ raisonnable.

Validité du modèle de chauffage Le modèle de chauffage est une simplification de la réalité. Les nanoparticules sont, dans certains cas, entourées d’anticorps, de lipides, qui pourraient modifier légèrement les propriétés d’absorption d’énergie et de conductivité thermique.

Géométrie du neurone Dans notre application du modèle de Shapiro et al., nous avons calculé le courant total par l’intermédiaire d’une intégrale unidimensionnelle, comme si la bicouche lipidique était une surface plane. En réalité, la géométrie d’un dendrite ou d’un axone est plus proche de celle d’un cylindre et présente un rayon de courbure et pourrait

modifier le résultat. Cependant, l'ordre de grandeur du courant obtenu devrait rester le même dans ce cas de figure.

Conclusion Nous voyons donc que les modèles que nous avons utilisés sont valables sous certaines hypothèses qui ne sont peut-être pas vérifiées dans toutes les situations. Toutefois, les modèles ont permis d'obtenir des résultats plutôt cohérents avec les expériences. Si des études supplémentaires sont nécessaires au niveau expérimental, théorique et computationnel, ils fournissent des éléments intéressants dans l'objectif de comprendre la SNAN.

CHAPITRE 4 AUTRES MÉCANISMES POSSIBLES ET DISCUSSION

4.1 Autres mécanismes possibles

Comme nous l'avons évoqué dans la revue de littérature, plusieurs mécanismes pourraient expliquer les observations de SNAN, en plus du chauffage. Nous présentons ici quelques remarques et résultats au sujet de ces mécanismes.

4.1.1 Mécanismes liés à une contrainte mécanique

Certains canaux sont connus pour être sensibles à des contraintes mécaniques : on les appelle canaux *mécanosensibles* [136]. Dans le cadre des expériences de SNAN en général et de celui de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. en particulier, il est possible que les impulsions laser ultrarapides déclenchent une onde de pression qui se propage dans le milieu en raison du dépôt rapide d'énergie. Cette onde de pression pourrait avoir des répercussions sur la configuration des canaux ioniques par l'intermédiaire de plusieurs mécanismes possibles.

Par exemple, les canaux TRPC5 et TRPC1 sont connus pour être plus probablement activés après un étirement de la membrane. Par ailleurs, ces deux canaux sont présents dans le cerveau du rat et de la souris, en particulier dans l'hippocampe [85].

Plus spécifiquement, la modification de la tension de la membrane pourrait agir comme une force sur le canal ionique et avoir tendance à l'ouvrir. Cette tension peut ajouter un terme au bilan énergétique des forces s'appliquant au canal et ainsi déplacer sa probabilité d'ouverture [136, 137]. On peut modéliser ce déplacement de la probabilité d'équilibre en ajoutant un terme prenant en compte la tension, exprimée en N/m , à l'énergie libre globale [70]. Sous certaines hypothèses, la courbe de la probabilité d'ouverture des canaux en fonction du potentiel est déplacée lorsque la tension de surface est ajoutée aux équations [71].

Adrien Dagallier a proposé un modèle pour estimer la pression générée par un pulse femto-seconde sur une nanoparticule plasmonique dans de l'eau [139]. Ce modèle décrit l'eau par les équations de Navier-Stokes, de façon couplée au modèle de Boulais et al [58] décrivant le plasma résultant de l'effet d'une irradiation laser ultrarapide sur une nanoparticule plasmonique. En utilisant son modèle pour une particule de 100 nanomètres de diamètre et une fluence de 7 mJ/cm^2 (qui correspond à une puissance moyenne typique de 2 mW), on peut calculer qu'une onde de pression se propage à partir de la nanoparticule. Le maximum de pression alors obtenu est de 11 bar, pour une valeur de repos de 1 bar. L'onde de pression se propage de 350 nanomètres en 200 picosecondes, et la masse volumique de l'eau varie

de moins de 2%. Un temps de 200 picosecondes semble très court comparé aux temps de réaction biologiques. Cependant, nous n'avons pas de modèle complet à notre disposition nous permettant d'évaluer la valeur de l'hypothèse d'une onde de pression pour expliquer la SNAN dans le cas de l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. [10].

La détermination de l'influence de cette onde de pression sur la membrane neuronale est un problème à part entière. La modélisation de l'interaction entre la nanoparticule, dont on ignore la position exacte par rapport à la membrane, l'onde de pression provoquée par l'irradiation laser, et les lipides de la membrane en tant que milieu mécanique, pourrait faire l'objet d'une modélisation. Avec le niveau de connaissance acquis dans ce travail, nous ne pouvons pas proposer de modèle complet pour le mécanisme de pression comme nous l'avons fait avec la température.

4.1.2 Densité électronique et champ électrique proche

L'interaction entre un laser ultrarapide et une nanoparticule plasmonique provoque une amplification du champ électrique proche de la particule [58]. Ce champ électrique peut, en fonction de son intensité, causer une augmentation de la densité électronique. Une forte augmentation de la densité électronique pourrait avoir un effet au niveau moléculaire sur les protéines que sont les canaux ioniques.

Nous avons utilisé le modèle numérique d'Adrien Dagallier [139] pour obtenir une estimation de l'augmentation de la densité électronique dans les conditions de l'expérience de Lavoie et al.. Le résultat est que l'augmentation relative de la concentration en électrons libres est négligeable par rapport à l'état de repos pour les fluences utilisées : en effet, à la fin d'un pulse femtoseconde, la densité électronique moyenne de 4.1 électrons dans une sphère de 400 nanomètres de rayon autour de la particule, alors qu'initialement cette densité était de 3.8. Entre deux pulses, la densité électronique revient à sa valeur de repos, la période entre deux pulses étant de 11 nanosecondes.

4.1.3 Transition de phase de la bicouche lipidique

Dans certaines conditions, des régions de la bicouche lipidique peuvent entrer en transition de phase. Ceci peut se produire en réaction à un chauffage de l'ordre de la dizaine de degrés par rapport aux températures physiologiques [124, 138]. Lors de cette transition de phase, on peut observer une forte augmentation du courant transmembranaire [138]. Les réarrangements structuraux des phospholipides sont probablement à l'origine de cette forte augmentation de la conductance effective de la membrane. Si le mécanisme physique n'est pas compris dans

son intégralité, des explications thermodynamiques de ce phénomène ont été proposées et prédisent cette apparition de courants transmembranaires [138].

Il se pourrait donc que ce mécanisme soit impliqué dans la SNAN, puisqu'un chauffage de l'ordre de la dizaine de degrés peut avoir lieu. Toutefois, davantage de connaissances au niveau moléculaire seront là aussi nécessaires avant de pouvoir tirer des conclusions au sujet de cette hypothèse dans notre cas.

4.1.4 Nanoporation

Dans le cas des expériences utilisant des nanoparticules et des lasers ultrarapides [10], il est possible que le dépôt d'énergie en un temps ultracourt à proximité de la membrane ouvre un trou dans celle-ci, possiblement par l'intermédiaire de la formation d'une bulle, c'est à dire la nanocavitation [58]. Par conséquent, les ions peuvent diffuser librement à travers la membrane et la dépolariser. On peut penser qu'un potentiel d'action pourrait être généré dans cette situation, en fonction de l'amplitude de cette dépolarisation. Toutefois, il n'existe pas à notre connaissance d'expérience de SNAN ayant prouvé la présence d'un trou dans la membrane à ce jour. De plus, on ignore la durée de vie qu'aurait ce trou dans la membrane cellulaire.

Le modèle d'Adrien Dagallier permet de déterminer des seuils de nanocavitation portant sur la fluence des pulses femtosecondes [139], c'est-à-dire la fluence minimale pour qu'une bulle soit générée, en fonction des paramètres du laser et des dimensions de la particule. Pour une nanoparticule d'or de 100 nanomètres de diamètre irradiée à une longueur d'onde de 800 nanomètres, l'ordre de grandeur d'un seuil est de 140 mJ/cm^2 . Les fluences utilisées dans l'expérience de Lavoie-Cardinal et al. sont plutôt de l'ordre de 7 mJ/cm^2 . Elles sont donc très faibles en comparaison des seuils de nanocavitation et l'on peut donc écarter cette hypothèse si l'on se base sur ce modèle.

4.2 Discussion des données expérimentales et bilan

Il ne semble pas y avoir de convergence expérimentale concernant le mécanisme précis responsable de la SNAN. Toutefois, les différents groupes ayant publié des résultats semblent converger vers une explication thermique [45, 46, 49]. Mais si certains soutiennent l'idée d'un mécanisme lié aux canaux ioniques [46], d'autres soutiennent l'hypothèse inverse qui est d'affirmer que les canaux ioniques ne sont pas impliqués [49]. Plusieurs phénomènes sont donc peut-être parallèlement à l'œuvre.

La réponse se trouve probablement au niveau moléculaire et davantage de connaissances sur

la membrane, les canaux ioniques, et leur comportement en réaction à un chauffage ou un autre effet seront nécessaires avant de parvenir à une conclusion. Des études de dynamique moléculaire pourraient contribuer à une meilleure compréhension de la SNAN et de la NSI.

CHAPITRE 5 CONCLUSION

5.1 Synthèse des travaux

Dans ce travail, nous avons analysé les mécanismes possibles pour expliquer les résultats de stimulation neuronale dans les expériences de SNAN. Nous avons fait un état des lieux des connaissances et des propositions faites à ce sujet, puis nous avons élaboré des modèles pour apporter des informations numériques à l'hypothèse d'un chauffage. Pour cela, nous avons proposé un modèle en faisant appel à plusieurs sous-modèles indépendants, en se basant sur un mécanisme de canaux ioniques. Nous avons ensuite utilisé un modèle basé sur un courant capacitif.

Les résultats de ces modélisations sont plutôt en accord avec les observations expérimentales. Dans le cas du mécanisme basé sur les canaux ioniques, on observe une augmentation de la concentration du calcium, dont l'amplitude dépend du chauffage. Une légère dépolarisation est en général calculée. Dans certains cas extrêmes, un potentiel d'action est produit. Ce résultat est en accord avec les observations expérimentales de Lavoie-Cardinal et al. [10], qui observent des potentiels d'actions seulement dans un petit nombre de cas.

Dans le cas du mécanisme basé sur le courant capacitif, le courant obtenu est trop faible pour produire une dépolarisation notable de la membrane. Dans le cas de l'expérience de Lavoie et al., ceci est, comme nous venons de le mentionner, plutôt un bon résultat. Dans le cas d'autres expériences comme celle de Carvalho-de-Souza et al., le résultat n'est pas facilement exploitable car en réalité, une concentration de particules est utilisée, et non une particule seule.

Nous avons enfin apporté quelques éléments simples pour évaluer la possibilité d'autres mécanismes possibles qui seraient responsables de la SNAN. Un mécanisme issu d'une contrainte mécanique pourrait notamment avoir un rôle dans le phénomène. Il se pourrait que plusieurs mécanismes agissent conjointement.

5.2 Validité de la solution proposée

Comme nous l'avons vu dans la partie de discussion 3.5.1, plusieurs hypothèses de notre modèle numérique de chauffage sont discutables. Mais le modèle que nous avons proposé a pour objectif d'analyser la possibilité d'un mécanisme basé sur les canaux, et ne prétend pas décrire toute la complexité du fonctionnement biophysique du neurone.

A l'heure actuelle, de nombreux procédés de la membrane neuronale et du fonctionnement du neurone ne sont pas encore très bien compris. *A fortiori*, on ignore encore comment modéliser mathématiquement de nombreuses situations et de nombreux sous-systèmes dans les cellules en général et les neurones en particulier.

Nous ne disposons pas de modèles numériques qui décriraient d'autres canaux ioniques de façon spécifique comme nous l'avons fait avec le canal TRPV1. Cependant, de tels modèles seraient très utiles pour compléter celui présenté dans ce travail. Par exemple, des modèles décrivant l'activation dynamique des canaux de la famille Cav seraient d'une importance capitale, car ces derniers pourraient être impliqués dans le phénomène, comme nous l'avons vu à la section 2.1.3. La température pourrait alors être impliquée de façon encore plus explicite dans un modèle numérique. Cependant, de tels modèles, plus précis physiquement qu'une description par des facteurs Q10, ne nous sont pas connus.

5.3 Pistes pour des études supplémentaires

Quelques possibilités pourraient être étudiées dans le futur afin de parvenir à une meilleure compréhension des résultats de SNAN.

Expériences Plusieurs expériences complémentaires pourraient être réalisées ou sont en cours de réalisation. Des molécules bloquant ou activant les canaux ioniques de façon spécifique pourraient être utilisées afin d'inspecter leur implication dans le phénomène. D'autres types d'irradiation laser pourraient être utilisés, en terme de temps d'impulsion, de durée d'irradiation, ou de longueur d'onde.

Hypothèse mécanique L'hypothèse d'une explication des expériences de SNAN basée sur une contrainte mécanique n'est pas à exclure. Pour obtenir plus de données et de résultats à ce sujet, une modélisation de l'interaction entre le laser et la particule est nécessaire d'un point de vue mécanique. Ceci est possible à l'heure actuelle. Cependant, l'étape la plus importante sera de faire le lien entre cette interaction et son effet sur la membrane neuronale, qui devrait être modélisée en tant que structure mécanique.

Électrodiffusion Dans ce travail, nous n'avons pas étudié la distribution des ions dans les solutions ioniques de part et d'autre de la membrane. Une description précise de ces milieux peut être faite grâce aux équations Poisson-Nernst-Planck (PNP). Ces équations décrivent la diffusion des ions en fonction du gradient thermodynamique, qui prend en compte le gradient de concentration, les forces électrostatiques, et l'agitation thermique. L'inclusion

d'un chauffage dynamique dans un modèle de Poisson-Nernst-Planck pourrait donner des résultats intéressants. Des travaux de modélisation de la membrane neuronale ou des canaux ioniques par les équations PNP ont été publiés [94–96]. Cependant, ces modèles nécessitent eux aussi l'inclusion explicite de canaux ioniques. Les canaux ioniques joueront dans tous les cas un rôle prépondérant dans les modèles et seront les briques de base d'un modèle tentant de décrire la SNAN. Les équations PNP pourraient donc servir à raffiner le modèle, mais seulement à condition que les canaux ioniques soient déjà bien modélisés.

Dynamique moléculaire Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'état des connaissances au niveau moléculaire est faible devant la complexité réelle des situations biologiques. Pour modéliser un phénomène aussi complexe et dynamique que la SNAN, il est possible que des études numériques de dynamique moléculaire soient nécessaires. Pour cela, il faudrait savoir quelles molécules modéliser, et surtout quels canaux ioniques. Par ailleurs, des simulations de dynamique moléculaire nécessitent une expertise dans ce domaine. Davantage de données au niveau expérimental et moléculaire seront probablement nécessaires avant de parvenir à une simulation moléculaire de la SNAN.

RÉFÉRENCES

- [1] W Gladstone and William Shakespeare. Biological Electricity and the Hodgkin–Huxley Model. *Gwu.Edu*, pages 681–716.
- [2] M. Iftinca, B. E. McKay, T. P. Snutch, J. E. McRory, R. W. Turner, and G. W. Zamponi. Temperature dependence of T-type calcium channel gating. *Neuroscience*, 142(4) :1031–1042, 2006.
- [3] D E Clapham, L W Runnels, and C Strübing. The TRP ion channel family. *Nature reviews. Neuroscience*, 2(6) :387–396, 2001.
- [4] Alan Loyd Hogkin and Andrew Huxley. A Quantitative Description Of Membrane Current And Its Application To Conduction And Excitation In Nerve. pages 500–544, 1952.
- [5] Alain Destexhe and John R. Huguenard. Nonlinear thermodynamic models of voltage-dependent currents. *Journal of Computational Neuroscience*, 9(3) :259–270, 2000.
- [6] Mikhail G Shapiro, Kazuaki Homma, Sebastian Villarreal, Claus-Peter Richter, and Francisco Bezanilla. Infrared light excites cells by changing their electrical capacitance. *Nature communications*, 3 :736, 2012.
- [7] Peter Hemond, Daniel Epstein, Angela Boley, Michele Migliore, Giorgio A. Ascoli, and David B. Jaffe. Distinct classes of pyramidal cells exhibit mutually exclusive firing patterns in hippocampal area CA3b. 18(4) :411–424, 2015.
- [8] Thomas Voets, Guy Droogmans, Ulrich Wissenbach, Annelies Janssens, Veit Flockerzi, and Bernd Nilius. The principle of temperature-dependent gating in cold- and heat-sensitive TRP channels. *Nature*, 430(7001) :748–754, 2004.
- [9] C F Chen and P Hess. Mechanism of gating of T-type calcium channels. *The Journal of general physiology*, 96(3) :603–30, 1990.
- [10] Flavie Lavoie-Cardinal, Charleen Salesse, Eric Bergeron, Michel Meunier, and Paul De Koninck. Gold nanoparticle-assisted all optical localized stimulation and monitoring of Ca²⁺ signaling in neurons. *Scientific Reports*, 6 :20619, 2016.
- [11] M L Hines, N T Carnevale, and Michael L Hines. The NEURON Simulation Environment. pages 1–9, 2002.
- [12] Dimitri Plotnikov, Bernhard Rumpe, Inga Blundell, Tammo Ippen, Jochen Martin, and Abigail Morrison. NESTML : a modeling language for spiking neurons. pages 93–108, 2016.

- [13] James M Bower and David Beeman. The Book of Genesis - Exploring Realistic Neural Models with the GEneral NEural SIMulation System. In *Genesis*, page 2003. 2003.
- [14] Karl J Friston. *Statistical Parametric Mapping : The Analysis of Functional Brain Images*. 2006.
- [15] David Attwell and Costantino Iadecola. The neural basis of functional brain imaging signals. *Trends in Neurosciences*, 25(12) :621–625, 2002.
- [16] Jürgen Schmidhuber. Deep Learning in neural networks : An overview. *Neural Networks*, 61 :85–117, 2015.
- [17] Henry Markram. The blue brain project. *Nature reviews. Neuroscience*, 7(2) :153–60, 2006.
- [18] Daniel Gardner, Huda Akil, Giorgio A. Ascoli, Douglas M. Bowden, William Bug, Duncan E. Donohue, David H. Goldberg, Bernice Grafstein, Jeffrey S. Grethe, Amarnath Gupta, Maryam Halavi, David N. Kennedy, Luis Marengo, Maryann E. Martone, Perry L. Miller, Hans Michael Müller, Adrian Robert, Gordon M. Shepherd, Paul W. Sternberg, David C. Van Essen, and Robert W. Williams. The neuroscience information framework : A data and knowledge environment for neuroscience. *Neuroinformatics*, 6(3) :149–160, 2008.
- [19] Subhashini Sivagnanam, Amit Majumdar, Kenneth Yoshimoto, Vadim Astakhov, Anita Bandrowski, Maryann Martone, and Nicholas T. Carnevale. Introducing the neuroscience gateway. *CEUR Workshop Proceedings*, 993, 2013.
- [20] Mark H. Histed, Vincent Bonin, and R. Clay Reid. Direct Activation of Sparse, Distributed Populations of Cortical Neurons by Electrical Microstimulation. *Neuron*, 63(4) :508–522, 2009.
- [21] Miguel a Faria. Violence, mental illness, and the brain - A brief history of psychosurgery : Part 2 - From the limbic system and cingulotomy to deep brain stimulation. *Surgical neurology international*, 4 :75, 2013.
- [22] Aslihan Selimbeyoglu and Josef Parvizi. Electrical stimulation of the human brain : perceptual and behavioral phenomena reported in the old and new literature. *Frontiers in human neuroscience*, 4(May) :46, 2010.
- [23] Michel Vaneau. Valuation des appareils de neurostimulation électrique transcutanée. *Haute Autorité de santé*, pages 1–38, 2009.
- [24] Barbara M Doucet, Amy Lam, and Lisa Griffin. Neuromuscular electrical stimulation for skeletal muscle function. *The Yale journal of biology and medicine*, 85 :201–215, 2012.

- [25] Edward J. Tehovnik. Electrical stimulation of neural tissue to evoke behavioral responses. *Journal of Neuroscience Methods*, 65(1) :1–17, 1996.
- [26] F. Rattay. The basic mechanism for the electrical stimulation of the nervous system. *Neuroscience*, 89(2) :335–346, 1999.
- [27] D. B. McCreery, W. F. Agnew, T. G H Yuen, and L. Bullara. Charge density and charge per phase as cofactors in neural injury induced by electrical stimulation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 37(10) :996–1001, 1990.
- [28] Daniel R. Merrill, Marom Bikson, and John G R Jefferys. Electrical stimulation of excitable tissue : Design of efficacious and safe protocols. *Journal of Neuroscience Methods*, 141(2) :171–198, 2005.
- [29] L. Colodetti, J. D. Weiland, S. Colodetti, A. Ray, M. J. Seiler, D. R. Hinton, and M. S. Humayun. Pathology of damaging electrical stimulation in the retina. *Experimental Eye Research*, 85(1) :23–33, 2007.
- [30] R L Fork. Laser stimulation of nerve cells in Aplysia. *Science (New York, N.Y.)*, 171(1968) :907–908, 1971.
- [31] Claus-peter Richter, Agnella Izzo Matic, Jonathon D Wells, E Duco Jansen, and Joseph T Jr Walsh. Neural stimulation with optical radiation. *Laser Photonics Review*, 5(1) :68–80, 2011.
- [32] Jonathon Wells, Chris Kao, Karthik Mariappan, Jeffrey Albea, E Duco Jansen, Peter Konrad, and Anita Mahadevan-Jansen. Optical stimulation of neural tissue in vivo. *Optics letters*, 30(5) :504–506, 2005.
- [33] Jonathon Wells, Chris Kao, Peter Konrad, Tom Milner, Jihoon Kim, Anita Mahadevan-Jansen, and E Duco Jansen. Biophysical mechanisms of transient optical stimulation of peripheral nerve. *Biophysical journal*, 93(7) :2567–80, 2007.
- [34] Agnella D Izzo, Joseph T Walsh, Heather Ralph, Jim Webb, Mark Bendett, Jonathon Wells, and Claus-Peter Richter. Laser stimulation of auditory neurons : effect of shorter pulse duration and penetration depth. *Biophysical journal*, 94(8) :3159–3166, 2008.
- [35] Ingo Ulrik Teudt, Adam E Nevel, Agnella D Izzo, Joseph T Walsh, and Claus-Peter Richter. Optical stimulation of the facial nerve : a new monitoring technique? *The Laryngoscope*, 117(9) :1641–1647, 2007.
- [36] Jonathan M. Cayce, Robert M. Friedman, Gang Chen, E. Duco Jansen, Anita Mahadevan-Jansen, and Anna W. Roe. Infrared neural stimulation of primary visual cortex in non-human primates. *NeuroImage*, 84 :181–190, 2014.

- [37] Jonathon Wells, Peter Konrad, Chris Kao, E. Duco Jansen, and Anita Mahadevan-Jansen. Pulsed laser versus electrical energy for peripheral nerve stimulation. *Journal of Neuroscience Methods*, 163(2) :326–337, 2007.
- [38] Mykyta Mikhailovich Chernov, Gang Chen, and Anna Wang Roe. Histological assessment of thermal damage in the brain following infrared neural stimulation. *Brain Stimulation*, 7(3) :476–482, 2014.
- [39] Jonathon D. Wells, Sharon Thomsen, Peter Whitaker, E. Duco Jansen, Chris C. Kao, Peter E. Konrad, and Anita Mahadevan-Jansen. Optically mediated nerve stimulation : Identification of injury thresholds. *Lasers in Surgery and Medicine*, 39(6) :513–526, 2007.
- [40] Lief Fenno, Ofer Yizhar, and Karl Deisseroth. The development and application of optogenetics. *Annual review of neuroscience*, 34 :389–412, 2011.
- [41] Thomas Knöpfel, Michael Z. Lin, Anselm Levskaya, Lin Tian, John Y. Lin, and Edward S. Boyden. Toward the second generation of optogenetic tools. *The Journal of Neuroscience*, 30(45) :14998–15004, 2010.
- [42] Benjamin Migliori, Massimiliano Di Ventra, and William Kristan. Photoactivation of neurons by laser-generated local heating. *AIP Advances*, 2(3), 2012.
- [43] Heng Huang, Savas Delikanli, Hao Zeng, Denise M. Ferkey, and Arnd Pralle. Remote control of ion channels and neurons through magnetic-field heating of nanoparticles. *Nature Nanotechnology*, 5(August) :602–606, 2010.
- [44] Katherine Lugo, Xiaoyu Miao, Fred Rieke, and Lih Y Lin. Remote switching of cellular activity and cell signaling using light in conjunction with quantum dots. *Biomedical optics express*, 3(3) :447–54, 2012.
- [45] Kyungsik Eom, Jinhyung Kim, Jong Min Choi, Taekyeong Kang, Jin Woo Chang, Kyung Min Byun, Sang Beom Jun, and Sung June Kim. Enhanced infrared neural stimulation using localized surface plasmon resonance of gold nanorods. *Small*, 10(19) :3853–3857, 2014.
- [46] Hirotaka Nakatsuji, Tomohiro Numata, Nobuhiro Morone, Shuji Kaneko, Yasuo Mori, Hiroshi Imahori, and Tatsuya Murakami. Thermosensitive Ion Channel Activation in Single Neuronal Cells by Using Surface-Engineered Plasmonic Nanoparticles. *Angewandte Chemie - International Edition*, 54(40) :11725–11729, 2015.
- [47] Chiara Paviolo, John W. Haycock, Peter J. Cadusch, Sally L. Mcarthur, and Paul R. Stoddart. Laser exposure of gold nanorods can induce intracellular calcium transients. *Journal of Biophotonics*, 7(10) :761–765, 2014.

- [48] Chiara Paviolo, John W. Haycock, Peter J. Cadusch, Sally L. Mcarthur, and Paul R. Stoddart. Laser exposure of gold nanorods can induce intracellular calcium transients. *Journal of Biophotonics*, 7(10) :761–765, 2014.
- [49] Joao L. Carvalho-de Souza, Jeremy S. Treger, Bobo Dang, Stephen B H Kent, David R. Pepperberg, and Francisco Bezanilla. Photosensitivity of neurons enabled by cell-targeted gold nanoparticles. *Neuron*, 86(1) :207–217, 2015.
- [50] Jiawey Yong, Karina Needham, William G A Brown, Bryony A. Nayagam, Sally L. Mcarthur, Aimin Yu, and Paul R. Stoddart. Gold-nanorod-assisted near-infrared stimulation of primary auditory neurons. *Advanced Healthcare Materials*, 3 :1862–1868, 2014.
- [51] Sangjin Yoo, Soonwoo Hong, Yeonho Choi, Ji Ho Park, and Yoonkey Nam. Photothermal inhibition of neural activity with near-infrared-sensitive nanotransducers. *ACS Nano*, 8(8) :8040–8049, 2014.
- [52] Chiara Paviolo, Jiawey Yong Alexander C. Thompson, William GA Brown, and Paul R. Stoddart. Nanoparticle-enhanced infrared neural stimulation. *Journal of neural engineering*, 11(6) :065002, 2014.
- [53] Qiang Liu, Micah J. Frerck, Holly A. Holman, Erik M. Jorgensen, and Richard D. Rabbitt. Exciting cell membranes with a blustering heat shock. *Biophysical Journal*, 106(8) :1570–1577, 2014.
- [54] Mark I. Stockman. Nanoplasmonics : past, present, and glimpse into future. *Nano Letters*, 11(10) :4309–4313, 2011.
- [55] S Jain, D G Hirst, and J M O’Sullivan. Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *The British journal of radiology*, 85(1010) :101–13, 2012.
- [56] M.Meunier E.Boulais, R.Lachaine. Plasma Mediated off -Resonance Plasmonic Enhanced Ultrafast Laser- Induced Nanocavitation. 2012.
- [57] Peter Zijlstra, Pedro M R Paulo, and Michel Orrit. Optical detection of single non-absorbing molecules using the surface plasmon resonance of a gold nanorod. *Nature nanotechnology*, 7(6) :379–382, 2012.
- [58] E. Boulais, R. Lachaine, A. Hatef, and M. Meunier. Plasmonics for pulsed-laser cell nanosurgery : Fundamentals and applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology C : Photochemistry Reviews*, 17 :26–49, 2013.
- [59] Judith Baumgart, Laure Humbert, Étienne Boulais, Rémi Lachaine, Jean Jaques Lebrun, and Michel Meunier. Off-resonance plasmonic enhanced femtosecond laser optoporation and transfection of cancer cells. *Biomaterials*, 33(7) :2345–2350, 2012.

- [60] S. Link, C. Burda, Z. L. Wang, and M. a. El-Sayed. Electron dynamics in gold and gold-silver alloy nanoparticles : The influence of a nonequilibrium electron distribution and the size dependence of the electron-phonon relaxation. *J. Chem. Phys.*, 111(3) :1255–1264, 1999.
- [61] Stephan Link and Mostafa A. El-Sayed. *Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals*, volume 19. 2000.
- [62] C. K. Sun, F. Vallée, L. H. Acioli, E. P. Ippen, and J. G. Fujimoto. Femtosecond-tunable measurement of electron thermalization in gold. *Physical Review B*, 50(20) :15337–15348, 1994.
- [63] Anne-Marie Dowgiallo and Kenneth L. Knappenberger. Ultrafast electron-phonon coupling in hollow gold nanospheres. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 13(48) :21585–92, 2011.
- [64] R. W. Schoenlein, W. Z. Lin, J. G. Fujimoto, and G. L. Eesley. Femtosecond studies of nonequilibrium electronic processes in metals. *Physical Review Letters*, 58(16) :1680–1683, 1987.
- [65] R A Sperling, P Rivera gil, F Zhang, M Zanella, and W J Parak. Biological applications of gold nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, 37(9) :1896–1908, 2008.
- [66] Thomas Wriedt. Mie theory : A review, 2012.
- [67] A. Vogel, J. Noack, G. Hüttman, and G. Paltauf. Mechanisms of femtosecond laser nanosurgery of cells and tissues. *Applied Physics B : Lasers and Optics*, 81(8) :1015–1047, 2005.
- [68] Bertil Hille. Ion Channel Excitable Membranes, 2001.
- [69] Kenjiro Yoshimura and Masahiro Sokabe. Mechanosensitivity of ion channels based on protein-lipid interactions. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*, 7 Suppl 3 :S307–20, 2010.
- [70] Marcus-Alexander Assmann and Peter Lenz. Membrane tension influences the spike propagation between voltage-gated ion channel clusters of excitable membranes. *Phys Biol*, 11(4) :046006, 2014.
- [71] D. Schmidt, J. del Marmol, and R. MacKinnon. Mechanistic basis for low threshold mechanosensitivity in voltage-dependent K⁺ channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(26) :10352–10357, 2012.
- [72] William A. Catterall. Voltage-gated calcium channels. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(8) :1–23, 2011.
- [73] Bernd Nilius, Karel Talavera, Grzegorz Owsianik, Jean Prenen, Guy Droogmans, and Thomas Voets. Gating of TRP channels : a voltage connection? *The Journal of physiology*, 567(Pt 1) :35–44, 2005.

- [74] Ardem Patapoutian, Andrea M Peier, Gina M Story, and Veena Viswanath. Thermo-TRP channels and beyond : mechanisms of temperature sensation. *Nature reviews. Neuroscience*, 4(7) :529–539, 2003.
- [75] Haoxing Xu, I Scott Ramsey, and Suhas A Kotecha. TRPV3 is a calcium-permeable temperature-sensitive cation channel. 418(July) :181–186, 2002.
- [76] Karel Talavera, Keiko Yasumatsu, Thomas Voets, Guy Droogmans, Noriatsu Shigemura, Yuzo Ninomiya, Robert F Margolskee, and Bernd Nilius. Heat activation of TRPM5 underlies thermal sensitivity of sweet taste. *Nature*, 438(7070) :1022–5, 2005.
- [77] Anatoly Shcherbatko, Fumihito Ono, Gail Mandel, and Paul Brehm. Voltage-Dependent Sodium Channel Function Is Regulated Through Membrane Mechanics. *Biophysical Journal*, 77(4) :1945–1959, 1999.
- [78] Peter Århem and Clas Blomberg. Ion channel density and threshold dynamics of repetitive firing in a cortical neuron model. *BioSystems*, 89(1-3) :117–125, 2007.
- [79] Ernesto Vargas, Vladimir Yarov-Yarovoy, Fatemeh Khalili-Araghi, William A Catterall, Michael L Klein, Mounir Tarek, Erik Lindahl, Klaus Schulten, Eduardo Perozo, Francisco Bezanilla, and Benoît Roux. An emerging consensus on voltage-dependent gating from computational modeling and molecular dynamics simulations. *The Journal of general physiology*, 140(6) :587–94, 2012.
- [80] Chapel Hill, A Jain, H Takemoto, M D Silver, S V S Nagesh, C N Ionita, D R Bednarek, and S Rudin. A molecular framework for temperature-dependent gating of ion channels. *Proceedings of SPIE–the International Society for Optical Engineering*, 73(4) :389–400, 2015.
- [81] Jörg Grandl, Sung Eun Kim, Valerie Uzzell, Badry Bursulaya, Matt Petrus, and Ardem Patapoutian. Temperature-induced opening of TRPV1 ion channel is stabilized by the pore domain. 13(6) :708–714, 2010.
- [82] Beiying Liu, Kwokyin Hui, and Feng Qin. Thermodynamics of heat activation of single capsaicin ion channels VR1. *Biophysical journal*, 85(5) :2988–3006, 2003.
- [83] J. B. Peloquin, C. J. Doering, R. Rehak, and J. E. McRory. Temperature dependence of Cav1.4 calcium channel gating. *Neuroscience*, 151(4) :1066–1083, 2008.
- [84] Karel Talavera and Bernd Nilius. Biophysics and structure-function relationship of T-type Ca²⁺ channels. *Cell Calcium*, 40(2) :97–114, 2006.
- [85] Guide to pharmacology. <http://www.guidetopharmacology.org/>.
- [86] Stine Falsig Pedersen, Grzegorz Owsianik, and Bernd Nilius. TRP channels : An overview. *Cell Calcium*, 38(3-4 SPEC. ISS.) :233–252, 2005.

- [87] Christopher D. Benham, Martin J. Gunthorpe, and John B. Davis. TRPV channels as temperature sensors. *Cell Calcium*, 33(5-6) :479–487, 2003.
- [88] Emily R Liman. Thermal gating of TRP ion channels : food for thought ? *Science's STKE : signal transduction knowledge environment*, 2006(March) :pe12, 2006.
- [89] Jing Yao, Beiyong Liu, and Feng Qin. Kinetic and energetic analysis of thermally activated TRPV1 channels. *Biophysical Journal*, 99(6) :1743–1753, 2010.
- [90] José A Matta and Gerard P Ahern. Voltage is a partial activator of rat thermosensitive TRP channels. *The Journal of physiology*, 585(Pt 2) :469–82, 2007.
- [91] Beiyong Liu, Kwokyin Hui, and Feng Qin. Thermodynamics of heat activation of single capsaicin ion channels VR1. *Biophysical journal*, 85(5) :2988–3006, 2003.
- [92] Narendra R. Gavva, Lana Klionsky, Yusheng Qu, Licheng Shi, Rami Tamir, Steve Edenson, T. J. Zhang, Vellarkad N. Viswanadhan, Attila Toth, Larry V. Pearce, Todd W. Vanderah, Frank Porreca, Peter M. Blumberg, Jack Lile, Yax Sun, Ken Wild, Jean Claude Louis, and James J S Treanor. Molecular Determinants of Vanilloid Sensitivity in TRPV1. *Journal of Biological Chemistry*, 279(19) :20283–20295, 2004.
- [93] A. L. Hodgkin and Huxley A.F. the Components of Membrane Conductance in the Giant Axon of Loligo. *The Journal of physiology*, 116(4) :473–496, 1952.
- [94] R.D. Coalson and M.G. Kurnikova. Poisson-Nernst-Planck Theory Approach to the Calculation of Current Through Biological Ion Channels. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 4(1) :81–93, 2005.
- [95] Jurgis Pods, Johannes Schönke, and Peter Bastian. Electrodifusion models of neurons and extracellular space using the poisson-nernst-planck equations - Numerical simulation of the intra- and extracellular potential for an axon model. *Biophysical Journal*, 105(1) :242–254, 2013.
- [96] Jurgis Pods. A Comparison of Computational Models for the Extracellular Potential of Neurons. pages 1–13, 2015.
- [97] Henry Eyring. The Activated Complex in Chemical Reactions. 107(1935), 1972.
- [98] F Bezanilla. The voltage sensor in voltage-dependent ion channels. *Physiological reviews*, 80(2) :555–92, 2000.
- [99] Martin Fink and Denis Noble. Markov models for ion channels : versatility versus identifiability and speed. *Philosophical Transactions of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367(1896) :2161–2179, 2009.
- [100] Alain Destexhe and John R. Huguenard. 5. Which formalism to use for modeling voltage-dependent conductances ? *Computational Neuroscience : Realistic Modeling for Experimentalists*, pages 129–157, 2000.

- [101] L a Irvine, M S Jafri, and R L Winslow. Cardiac sodium channel Markov model with temperature dependence and recovery from inactivation. *Biophysical journal*, 76(4) :1868–1885, 1999.
- [102] L Sun, J S Fan, J W Clark, and P T Palade. A model of the L-type Ca^{2+} channel in rat ventricular myocytes : ion selectivity and inactivation mechanisms. *The Journal of physiology*, 529 Pt 1 :139–158, 2000.
- [103] C.A. Vandenberg and F. Bezanilla. A sodium channel gating model based on single channel, macroscopic ionic, and gating currents in the squid giant axon. *Biophysical Journal*, 60(6) :1511–1533, 1991.
- [104] Lorin S Milesescu, Gustav Akk, and Frederick Sachs. Maximum likelihood estimation of ion channel kinetics from macroscopic currents. *Biophysical journal*, 88(4) :2494–2515, 2005.
- [105] Jean-Pierre Changeux. 50 years of allosteric interactions : the twists and turns of the models. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 14(12) :819–29, 2013.
- [106] Sebastian Brauchi, Patricio Orio, and Ramon Latorre. Clues to understanding cold sensation : thermodynamics and electrophysiological analysis of the cold receptor TRPM8. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(43) :15494–15499, 2004.
- [107] Larry S. Liebovitch and J. Michael Sullivan. Fractal analysis of a voltage-dependent potassium channel from cultured mouse hippocampal neurons. *Biophysical journal*, 52(6) :979–988, 1987.
- [108] G L Millhauser, E E Salpeter, and R E Oswald. Diffusion models of ion-channel gating and the origin of power-law distributions from single-channel recording. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(5) :1503–7, 1988.
- [109] S.J. Korn and Richard Horn. Statistical discrimination of fractal and Markov models of single-channel gating. *Biophysical Journal*, 54(5) :871–877, 1988.
- [110] Larry Liebovitch. Testing fractal and Markov models of ion channel kinetics. *Biophysical Society*, 55(February) :373–377, 1989.
- [111] M S P Sansom and C J Kerry. of Ion Channel Gating. 56(1988) :1229–1243, 1989.
- [112] Michael L Hines, Andrew P Davison, and Eilif Muller. NEURON and Python. *Frontiers in neuroinformatics*, 3(January) :1, 2009.
- [113] Modeldb. <https://senselab.med.yale.edu/modeldb/>.

- [114] Erwin Neher and Takeshi Sakaba. Multiple Roles of Calcium Ions in the Regulation of Neurotransmitter Release. *Neuron*, 59(6) :861–872, 2008.
- [115] William A. Catterall and Alexandra P. Few. Calcium Channel Regulation and Presynaptic Plasticity. *Neuron*, 59(6) :882–901, 2008.
- [116] Michael J. Higley and Bernardo L. Sabatini. Calcium Signaling in Dendrites and Spines : Practical and Functional Considerations. *Neuron*, 59(6) :902–913, 2008.
- [117] Luke J Campbell, David James Sly, and Stephen John O’Leary. Prediction and control of neural responses to pulsatile electrical stimulation. *Journal of neural engineering*, 9(2) :026023, 2012.
- [118] Tanya S. Hauck, Robin E. Anderson, Hans C. Fischer, Susan Newbigging, and Warren C W Chan. In vivo quantum-dot toxicity assessment. *Small*, 6(1) :138–144, 2010.
- [119] Qiang Liu, Micah J. Frerck, Holly A. Holman, Erik M. Jorgensen, and Richard D. Rabbitt. Exciting cell membranes with a blustering heat shock. *Biophysical Journal*, 106(8) :1570–1577, 2014.
- [120] E. S. Albert, J. M. Bec, G. Desmadryl, K. Chekroud, C. Travo, S. Gaboyard, F. Bardin, I. Marc, M. Dumas, G. Lenaers, C. Hamel, a. Muller, and C. Chabbert. TRPV4 channels mediate the infrared laser-evoked response in sensory neurons. *Journal of Neurophysiology*, 107(12) :3227–3234, 2012.
- [121] Stéphane Genet, Robert Costalat, and Jacques Burger. A few comment son electrostatic interactions in cell physiology. pages 273–287, 2001.
- [122] V Shusterman, P J Jannetta, B Aysin, A Beigel, M Glukhovskoy, and I Usiene. Direct mechanical stimulation of brainstem modulates cardiac rhythm and repolarization in humans. *J Electrocardiol*, 35 Suppl :247–256, 2002.
- [123] Stephen J Norton. Can ultrasound be used to stimulate nerve tissue? *Biomedical engineering online*, 2 :6, 2003.
- [124] Jill Gallaher, Katarzyna Wodzinska, Thomas Heimburg, and Martin Bier. Ion-channel-like behavior in lipid bilayer membranes at the melting transition. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 81(6) :1–5, 2010.
- [125] Y Sako and A Kusumi. Compartmentalized structure of the plasma membrane for receptor movements as revealed by a nonometer-level motion analysis. *J. Cell Biol.*, 125(6) :1251–1264, 1994.
- [126] Akihiro Kusumi, Chieko Nakada, Ken Ritchie, Kotonno Murase, Kenichi Suzuki, Hideji Murakoshi, Rinshi S Kasai, Junko Kondo, and Takahiro Fujiwara. Paradigm shift of the plasma membrane concept from the two-dimensional continuum fluid to the partitioned

- fluid : high-speed single-molecule tracking of membrane molecules. *Annual review of biophysics and biomolecular structure*, 34 :351–378, 2005.
- [127] Alfred Vogel and Vasan Venugopalan. Kinetics of phase transitions in pulsed IR laser ablation of biological tissues. *Proceedings of SPIE*, 4961 :66–74, 2003.
- [128] J R Cooper and R B Dooley. The International Association for the Properties of Water and Steam Revised Release on the IAPWS Industrial Formulation 1997 for the Thermodynamic Properties of Water and Steam. *International Association for the Properties of Water and Steam*, pages 3–49, 2009.
- [129] IAPWS. The International Association for the Properties of Water and Steam September 2009 Revised Release on the IAPWS Formulation 1995 for the Thermodynamic Properties of Ordinary Water Substance for General and Scientific Use The IAPWS Formulation 1995 for the. (September 2009), 2009.
- [130] COMSOL. COMSOL Multiphysics Version 4.0 released. *Sealing Technology*, 2010.
- [131] A L Hodgkin and B Katz. the Effect of Temperature on the Electrical Activity of the Giant Axon of the Squid. *J. Physiol. (1949) Lucas Gasser Schoepfle & Erlanger Cardot & Arvanitaki*, 09 :240–249, 1908.
- [132] Thomas Voets. Quantifying and Modeling the Temperature-Dependent Gating of TRP Channels. *Review in physiological Biochemistry Pharmacology*, 159(April) :1–77, 2012.
- [133] Ramon Latorre, Sebastian Brauchi, Gerardo Orta, Cristián Zaelzer, and Guillermo Vargas. ThermoTRP channels as modular proteins with allosteric gating. *Cell Calcium*, 42(4-5) :427–438, 2007.
- [134] M L Hines and N T Carnevale. Expanding NEURON’s repertoire of mechanisms with NMODL. *Neural computation*, 12(5) :995–1007, 2000.
- [135] M J Caterina, M A Schumacher, M Tominaga, T A Rosen, J D Levine, and D Julius. The capsaicin receptor : a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389(6653) :816–824, 1997.
- [136] Kisileva Irina Kamkin Andre. *Mechanosensitive Ion Channels*, volume 1. 2015.
- [137] V. S. Markin and F. Sachs. Thermodynamics of Mechanosensitivity. *Current Topics in Membranes*, 58 :87–119, 2007.
- [138] B. Wunderlich, C. Leirer, A. L. Idzko, U. F. Keyser, A. Wixforth, V. M. Myles, T. Heimburg, and M. F. Schneider. Phase-state dependent current fluctuations in pure lipid membranes. *Biophysical Journal*, 96(11) :4592–4597, 2009.
- [139] Adrien Dagallier, Étienne Boulais, Christos Boutopoulos, Rémi Lachaine, and Michel Meunier. Multiscale modeling of plasmonic enhanced cavitation around laser-excited nanoparticles. *To be published*, 2016.

- [140] Juan A. Gilabert. Cytoplasmic calcium buffering. *Advances in experimental medicine and biology*, 740 :483–98, 2012.
- [141] David C. Grahame. The electrical double layer and the theory of electrocapillarity. *Chemical Reviews*, pages 441–501, 1947.

ANNEXE A Canaux ioniques à calcium dépendant du potentiel

Tableau A.1 Données fonctionnelles usuelles pour les canaux de la famille Cav. Ces données sont issues de la base « Guide to pharmacology » [85].

Canal	Abréviation	Nom	Activateur physique	Distribution
HVA (High voltage-activated, high threshold)	L-type (Longlasting, high-threshold)	Cav 1.1	Souris : V=8.0mV	Hippocampe et DRG du rat + autres
•	•	Cav1.2	Rat : V=4.5 mV	Hippocampe et DRG du rat + autres
•	•	Cav1.3	Rat : V=-20 mV	Autres
•	•	Cav1.4	Mouse : V=-15 mV	DRG de la souris
•	P/Q	Cav 2.1	Rat : V=-10 mV	Hippocampe du rat, autres
•	N (Neither L-nor T-type)	Cav 2.2	Rat : V=-15 mV	Cerveau du rat, autres
•	R	Cav 2.3	Rat : V=-10 mV	Cerveau du rat, autres
LVA (Low voltage-activated, low threshold)	T-type (Transient, low threshold)	Cav 3.1	Rat : V=-63 mV	Hippocampe du rat, hppothalamus, autres
•	•	Cav 3.2	DRG du rat : V=-47.5 mV	Hippocampe et DRG du rat
•	•	Cav 3.3	HEK 293 : V = -40 mV	Hippocampe du rat

ANNEXE B Equation de Goldman-Hodgkin-Katz

L'équation de flux de Goldman-Hodgkin-Katz permet de calculer le courant transmembranaire pour une espèce ionique donnée. C'est une solution des équations d'électrodiffusion de Poisson-Nernst-Planck sous certaines hypothèses [68]. Le mouvement des ions est dans ce cadre le résultat du gradient de concentration et de la différence de potentiel. Physiquement, ceci est plus proche de la réalité que la loi d'Ohm qui ne prend en compte que la différence de potentiel pour calculer le courant. Pour une espèce ionique donnée, l'équation s'écrit comme suit :

$$\phi = Pz^2 \frac{V_m F^2}{RT} \frac{[S]_i - [S]_o \exp(-\frac{zV_m F}{RT})}{1 - \exp(-\frac{zV_m F}{RT})} \quad (\text{B.1})$$

Le tableau B.1 rassemble les paramètres de ces équations et leur signification. On donne des ordres de grandeur des paramètres utilisés pour le calcium.

Tableau B.1 Paramètres et grandeurs de l'équation GHK et leur ordre de grandeur pour le calcium. La perméabilité est issue de [5], tandis que les concentration sont les ordres de grandeur usuels.

Grandeur	Signification	Valeur	Unité
ϕ	Calculé	Valeur	A/m^2
P	Perméabilité	$3e-8$	m/s
z	Valence	2	1
$[S]_i$	Concentration intracellulaire	10^{-4}	mM
$[S]_o$	Concentration extracellulaire	1.5	mM
V_m	Potentiel de la membrane	-65	mV
T	Température	300	K
R	Constante des gaz parfaits	8.31	J/K/mol
F	Constante de Faraday	96485	sA/mol

ANNEXE C Équations du modèle thermodynamique non linéaire de Destexhe et al. pour les canaux T-type

Nous présentons ici les équations du modèle thermodynamique non linéaire proposé par Destexhe et al. [5] pour décrire le comportement des canaux calciques de la famille T-type des neurones thalamiques. Ce modèle utilise des portes de type Hodgkin-Huxley. La probabilité d'ouverture du canal ionique est donnée par $p_o = m^3p$, car on considère trois portes de type m et une porte de type p . La dépendance temporelle de m et p est calculée de la façon suivante :

$$\begin{cases} \frac{dm}{dt} = \alpha_m(V, T)(1 - m) - \beta_m(V, T)m \\ \frac{dp}{dt} = \alpha_p(V, T)(1 - p) - \beta_p(V, T)p \end{cases} \quad (C.1)$$

Les paramètres α_m , α_p , β_m , et β_p sont alors donnés par :

$$\alpha_m = A_m \exp \left(-\frac{b_{m1}(V - V_m) + c_{m1}(V - V_m)^2 + d_{m1}(V - V_m)^3}{RT} \right) \quad (C.2)$$

$$\beta_m = A_m \exp \left(-\frac{b_{m2}(V - V_m) + c_{m2}(V - V_m)^2 + d_{m2}(V - V_m)^3}{RT} \right) \quad (C.3)$$

$$\alpha_h = A_h \exp \left(-\frac{b_{h1}(V - V_h) + c_{h1}(V - V_h)^2 + d_{h1}(V - V_h)^3}{RT} \right) \quad (C.4)$$

$$\beta_h = A_h \exp \left(-\frac{b_{h2}(V - V_h) + c_{h2}(V - V_h)^2 + d_{h2}(V - V_h)^3}{RT} \right) \quad (C.5)$$

Les paramètres optimaux pour ce modèle, c'est-à-dire ceux qui reproduisent le mieux les résultats expérimentaux, sont donnés par $A_m = 0.053ms^{-1}$, $V_m = -56mV$, $b_{m1} = -260J/mV$, $c_{m1} = 2.2J/mV^2$, $d_{m1} = 0.052J/mV^3$, $b_{m2} = 64.85J/mV$, $c_{m2} = 2.02J/mV^2$, $d_{m2} = 0.036J/mV^3$, $A_h = 0.0017ms^{-1}$, $V_h = -80mV$, $b_{h1} = 163J/mV$, $c_{h1} = 4.96J/mV^2$, $d_{h1} = 0.062J/mV^3$, $b_{h2} = -438J/mV$, $c_{h2} = 8.73J/mV^2$, $d_{h2} = -0.057J/mV^3$.

ANNEXE D Équations du modèle de Markov de Chen et al. pour les canaux T-type

Nous présentons ici les équations du modèle de Markov proposé par Chen et al. [9] pour décrire le comportement des canaux calciques de la famille T-type. La structure du modèle est présentée à la figure D.1. Il comporte un état ouvert O, deux états fermés C1 et C2, et deux états intermédiaires I1 et I2.

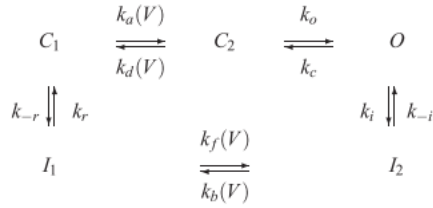


Figure D.1 Structure du modèle de Markov de Chen et al. [9] pour les canaux calciques T-type [9].

Les taux de transitions de ce modèle de Markov, exprimés en ms^{-1} , sont donnés par $k_a = 6.4 \exp\left(\frac{qF(V-s)}{RT}\right)$, $k_d = 0.000502 \exp\left(\frac{-qF(V-s)}{RT}\right)$, $k_f = 16 \exp\left(\frac{qF(V-s)}{RT}\right)$, $k_b = 2 \times 10^{-6} \exp\left(\frac{-qF(V-s)}{RT}\right)$, $k_o = 3$, $k_c = 0.7$, $k_i = 0.036$, $k_{-i} = 8 \times 10^{-5}$, $k_r = 0.001$, $k_{-r} = 0.003$.

ANNEXE E Utilisation de l'environnement NEURON

Aspects informatiques : contrôle de la géométrie dans NEURON Nous présentons ici quelques aspects importants de l'environnement NEURON. Par défaut, dans les modèles préparés pour l'environnement NEURON dans les langages *hoc* et *NMODL*, la température est une grandeur uniforme dans l'espace et constante dans le temps, et désignée par la variable *celsius*. Cependant, les modèles mis en ligne sur ModelDB sont *open source*, et il est donc possible de modifier cela. En l'occurrence, nous pouvons contrôler la discrétisation spatiale et temporelle afin de pouvoir décrire les variations spatiales dynamiques du chauffage, et intégrer une température dépendante de la position et du temps.

Topologie dans NEURON Dans l'environnement NEURON, un neurone est modélisé en plusieurs *sections*. Ces sections sont numériquement des cylindres et représentent des parties d'un neurone. Une section peut par exemple représenter un dendrite, ou l'axone, ou encore le soma. Pour construire une topologie de neurone, on connecte les sections les unes aux autres. La figure E.1 montre un extrait de la topologie du modèle de Hemmond et al., correspondant au neurone représenté à la figure 2.7.

Discrétisation spatiale Chacune de ces sections est discrétisée en *segments*, le long de l'axe du cylindre. Il est possible de changer la précision de cette discrétisation. Dans notre cas, cela est nécessaire car le chauffage a lieu sur une région plus petite que ce que permet de décrire la discrétisation par défaut de Hemmond et al [7].

Choix de la section Nous construisons le modèle de façon à ce que la particule soit située au niveau du dendrite 44 du modèle de Hemmond et al. représenté à la figure 2.7. Cette section représente un dendrite court, ce qui nous permet de faire une discrétisation fine. De plus, les expériences de Lavoie-Cardinal et al. ciblent en priorité des dendrites des neurones hippocampaux (et non le soma ou l'axone).

Enregistrement de données dans NEURON L'environnement NEURON est conçu pour donner la possibilité de manipuler et enregistrer toutes les grandeurs biophysiques pertinentes pour l'étude des neurones. Par exemple, il peut s'agir du potentiel électrique, qui dépend donc de la position sur la membrane, ou du courant dû à une certaine famille de canaux ioniques.

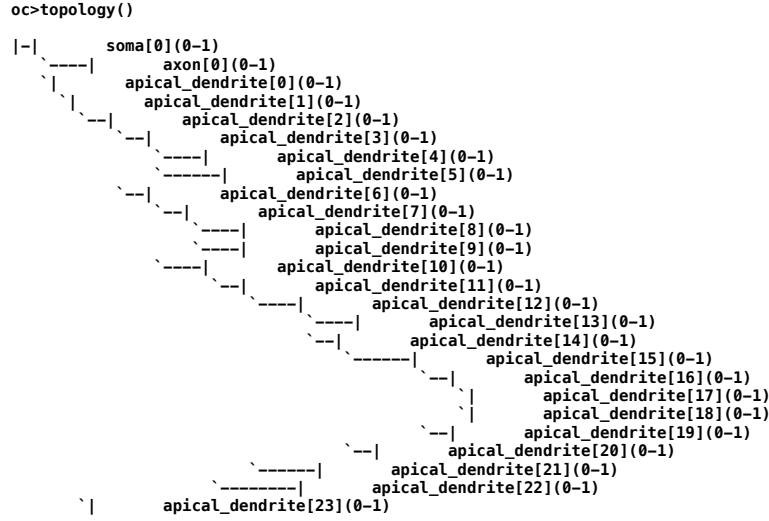


Figure E.1 Un extrait de la topologie du modèle de Hemmond et al. [7], dont la représentation est exposée à la figure 2.7

Dans notre cas, nous sommes tout particulièrement intéressés par le potentiel électrique et la concentration intracellulaire en calcium. Le calcul de celle-ci est contrôlé par un fichier NMODL. Il est possible de choisir les équations qui gouvernent ce calcul et d'en modifier le niveau de complexité. En général, trois phénomènes principaux sont pris en compte pour le calcul de la concentration de calcium.

Courant transmembranaire en calcium Celui-ci peut provoquer une accumulation de charge dans le neurone et potentiellement une augmentation de la concentration. Au repos, la concentration extracellulaire est très supérieure à la concentration intracellulaire en calcium (de l'ordre de 1.5 mM contre 10^{-4} mM). Ainsi, l'ouverture d'un canal ionique a tendance à faire entrer du calcium dans la cellule, ce qui correspond à un courant. Ce courant est calculé par l'équation GHK, présentée à l'annexe B et à la section 2.1.4. Pour le calcium, l'équation GHK est souvent préférée à la loi d'Ohm, selon laquelle on se contente de calculer le courant en fonction de la conductance et de la différence de potentiel, comme expliqué au paragraphe 2.1.4

Diffusion entre régions du neurone Due à l'apparition de gradients de concentration, cette diffusion peut être longitudinale (le long de l'axe d'une section), ou radiale (perpendiculairement à cet axe). Un coefficient de diffusion (exprimé en m^2/s) est nécessaire pour quantifier celle-ci.

Buffering La régulation intracellulaire de calcium, communément appelée « buffering » [140] Cette régulation interne est d'une très grande complexité biologique car elle est le produit de plusieurs phénomènes. Par exemple, le calcium peut se fixer à des protéines intracellulaires. Il peut également être retiré du milieu intracellulaire par les pompes ioniques. En général, pour le modéliser, on ajoute un terme d'ordre 1 à l'équation de diffusion, c'est à dire un terme dépendant linéairement de la concentration intracellulaire, qui a mathématiquement tendance à la ramener à sa valeur d'équilibre.

Paramètres numériques On souhaite avoir le maximum de précision tout en diminuant le temps de calcul. Pour cela, on paramètre l'environnement NEURON pour que son pas de temps soit *adaptif* : si le canal est fermé et qu'il n'y a pas de variation importante des différentes quantités physiques, le pas de temps sera plus grand que dans la situation contraire. Le pas de temps adaptif est calculé selon un algorithme simple qui calcule un pas de temps maximal en fonction du temps restant avant le prochain changement d'état du canal. Ceci est possible puisque nous avons calculé les trajectoires du canal au préalable, indépendamment de NEURON.

La discrétisation spatiale du dendrite est également importante, puisque nous calculons une accumulation de calcium intracellulaire prenant en compte une diffusion radiale et longitudinale (dans le cas le plus complexe). Dans le cas des simulations stochastiques incluant le canal TRPV1, notre observation visuelle est qu'il est suffisant de discrétiser le dendrite en 200 segments pour que le résultat de concentration se stabilise : une discrétisation plus fine donne un résultat très similaire. Cela donne des segments d'une longueur de 100 nm, puisque le dendrite mesure 20 μm .

ANNEXE F Équations de la théorie GCS pour le modèle de Shapiro

Nous présentons les équations du modèle utilisé par Shapiro et al., qui permettent de déterminer la densité surfacique de charge, de chaque côté de la membrane du neurone. Ces équations sont dérivées de la théorie de Stern des doubles couches électriques [141] et du travail de Genet et al. [121] au sujet des interactions électrostatiques proche de la membrane. Le tableau F.1 rassemble les différentes grandeurs et paramètres de ce modèle. Nous avons utilisé les paramètres de Shapiro et al. pour les simulations, car nous ne les connaissons pas dans le cas des expériences de SNAN.

$$\begin{cases} (\sigma_o + \frac{\epsilon_b}{\delta_b}(\phi_i - \phi_o))^2 = 2\epsilon_{sol}(T)RT \sum_{j=1}^n c_j^o(\infty) \times [\exp(-\frac{z_j^o F}{RT}(\phi_o - \Delta\phi_S^o)) - 1] \\ (\sigma_i - \frac{\epsilon_b}{\delta_b}(\phi_i - \phi_o))^2 = 2\epsilon_{sol}(T)RT \sum_{k=1}^n c_k^i(-\infty) \times [\exp(-\frac{z_k^i F}{RT}(\phi_i - V_m - \Delta\phi_S^i)) - 1] \end{cases} \quad (F.1)$$

$$\begin{cases} \Delta\phi_S^o = \frac{\delta_S^o}{\epsilon_S^o}(\sigma_o + \frac{\epsilon_b}{\delta_b}(\phi_i - \phi_o)) \\ \Delta\phi_S^i = \frac{\delta_S^i}{\epsilon_S^i}(\sigma_i - \frac{\epsilon_b}{\delta_b}(\phi_i - \phi_o)) \end{cases} \quad (F.2)$$

$$\begin{cases} \delta_S^o = \delta_{lipide}^o + \frac{\sum_{j=1}^n r_j^o c_j^o(\infty) \exp(-\frac{z_j^o F}{RT}(\phi_o - \Delta\phi_S^o))}{\sum_{j=1}^n c_j^o(\infty) \exp(-\frac{z_j^o F}{RT}(\phi_o - \Delta\phi_S^o))} \\ \delta_S^i = \delta_{lipide}^i + \frac{\sum_{k=1}^n r_k^i c_k^i(-\infty) \exp(-\frac{z_k^i F}{RT}(\phi_i - V_m - \Delta\phi_S^i))}{\sum_{k=1}^n c_k^i(-\infty) \exp(-\frac{z_k^i F}{RT}(\phi_i - V_m - \Delta\phi_S^i))} \end{cases} \quad (F.3)$$

Tableau F.1 Paramètres du modèle de Shapiro [6]. Pour certains paramètres, on a une valeur intracellulaire, indexée par i , et une valeur extracellulaire, indexée par o

Paramètres	Signification	Valeur		Unité
ϕ	Potentiel surfacique de la membrane	Objet du calcul		V
$\Delta\phi_S$	Chute de potentiel due à la couche de Stern	Objet du calcul		V
δ_S	Épaisseur de la couche de Stern	Objet du calcul		nm
V_m	Différence de potentiel entre les deux côtés de la membrane (loin de la surface)	-0.065		V
ϵ_b	Permittivité de la bicouche lipidique	$2.5 \times \epsilon_0$		F/m
$\epsilon_S(T)$	Permittivité de la solution aqueuse	Dépendante de T		F/m
$c_j(\infty)$	Concentration extracellulaire de l'espèce j	Dépendante de l'espèce		mol/m^3
$c_j(-\infty)$	Concentration intracellulaire de l'espèce j	Dépendante de l'espèce		mol/m^3
z_j	Valence de l'espèce j	Dépendance de l'espèce		1
ϵ_S	Constance diélectrique de la couche de Stern	$\epsilon_S(T)/10$		F/m
r_j	Rayon d'hydratation de l'espèce j	Dépendante de l'espèce		nm
		i	o	
σ	Densité surfacique de charge	-0.006	-0.006	C/m^2
δ_{lipid}	Taille du groupe lipidique polarisé	0.45	0.45	nm

ANNEXE G Dynamique du canal TRPV1

La dynamique du canal TRPV1 est contrôlée par un fichier NMODL comme les autres canaux ioniques. Le code ci-dessous implémente la dynamique selon de modèle de Voets et al. [8].

```

UNITS {
    (mA) = (milliamp)
    (nA) = (nanoamp)
    (mV) = (millivolt)
    (molar) = (1/liter)
    (mM) = (millimolar)
    (umho) = (micromho)

    FARADAY = 96520 (coul)
    R = 8.3134 (joule/degC)
    KTOMV = .0853 (mV/degC)
}

PARAMETER {
    v (mV)
    gtrpbar_uS (umho)
    cai = 50.e-6 (mM)
    cao = 2 (mM)
    temperature=30 (degC)
    P_open=0
}

NEURON {
    POINT_PROCESS stoc_current
    USEION ca READ cai,cao WRITE ica
    RANGE i_stoc , gtrpbar_uS , P_open,i_stoc
}

ASSIGNED {

```

```

    i_stoc (nA)
    gcatrp (umho)
    ica (nA)
}

INITIAL {

}

BREAKPOINT {
    gcatrp = gtrpbar_uS*P_open
    i_stoc = gcatrp*ghk(v, cai, cao)
    ica=i_stoc
}

FUNCTION ghk(v(mV), ci(mM), co(mM)) (mV) {
    LOCAL nu, f

    f = KTF(temperature)/2
    nu = v/f
    ghk=f*(1. - (ci/co)*exp(nu))*efun(nu)
}

FUNCTION KTF(temperature (DegC)) (mV) {
    KTF = ((25./293.15)*(temperature + 273.15))
}

FUNCTION efun(z) {
    if (fabs(z) < 1e-4) {
        efun = 1 - z/2
    } else {
        efun = z/(exp(z) - 1)
    }
}

```