

Titre en français :

Forces mécaniques induites par ultrasons pour stimuler les mécanorécepteurs C à bas-seuil

Titre en anglais :

Ultrasound-induced mechanical forces to stimulate C-low threshold mechanoreceptors

Nom du directeur de thèse : Emilie FRANCESCHINI (HDR, DR CNRS)

Tel : 04 84 52 42 86 **E-Mail :** emilie.franceschini@univ-amu.fr

Laboratoire : Laboratoire de Mécanique et d'Acoustique LMA

Financement : demandé

Type de financement : Contrat doctoral (ED 353)

Résumé en français :

La neurostimulation par ultrasons focalisés est une technique alternative prometteuse pour le traitement de la douleur chronique. Une étude *ex vivo* sur des fibres nerveuses de la peau a récemment démontré que les ultrasons focalisés sont capables d'activer les neurones sensoriels de différents sous-types, notamment les *neurones nociceptifs* jouant le rôle de senseurs de la douleur et les *mécanorécepteurs C à bas seuil* identifiés comme des modulateurs de la douleur [1]. L'activation sélective des mécanorécepteurs C à bas seuil pourrait constituer une cible de choix dans le développement de nouveaux traitements des douleurs chroniques pathologiques. **Les objectifs de cette thèse sont d'identifier les paramètres ultrasonores permettant d'activer sélectivement les mécanorécepteurs C à bas seuil, et de comprendre les mécanismes physiques impliqués dans ce processus via l'évaluation des forces mécaniques induites par ultrasons.**

L'étudiant réalisera des expériences *in vitro* sur un dispositif expérimental basé sur l'imagerie calcique afin de suivre les réponses calciques sur des neurones sensoriels soumis à des stimuli ultrasonores. Ces neurones sensoriels issus de souris transgéniques seront marqués par fluorescence afin d'identifier les sous-types de neurones répondant aux ultrasons. Afin d'**identifier les paramètres ultrasonores permettant d'activer sélectivement les mécanorécepteurs C à bas seuil**, nous étudierons une large gamme de fréquences ultrasonores f_c (1, 5 et 20 MHz), pressions acoustiques P_a (0.1-10 MPa) et durées d'impulsion (0.1-10 ms).¹

En parallèle de ces expériences sur des neurones en culture, des campagnes de mesures seront conduites pour **évaluer quels mécanismes physiques (force de radiation acoustique, streaming acoustique, élévation en température) sont responsables de l'activation pour différents stimuli ultrasonores**. Deux forces mécaniques sont mises en jeu dans notre dispositif expérimental : les forces de radiation acoustique et les forces hydrodynamiques induites par streaming acoustique. Les forces de radiation seront évaluées en mesurant l'écrasement de microsphères de polyacrylamide sous l'effet des ultrasons focalisés, l'élasticité des microsphères étant connue. Par ailleurs, l'écoulement induit par streaming acoustique seraensemencé par des particules-traceurs, et leur suivi par une caméra ultra-rapide permettra d'estimer les vitesses des particules puis les forces hydrodynamiques.

Enfin, ces connaissances seront transférées *in vivo* chez des souris pour valider l'activation des mécanorécepteurs C à bas seuil grâce à une technique de marquage immuno-histochimique.

Ces travaux seront menés en collaboration avec Aziz Moqrich à IBDM-Marseille, expert en neurosciences et douleur chronique.

¹ La séquence ultrasonore idéale devrait utiliser une pression acoustique faible et/ou une fréquence élevée. En effet, la force de radiation augmente alors que la probabilité de cavitation acoustique diminue avec l'augmentation de la fréquence d'excitation. La cavitation acoustique est à éviter puisqu'elle peut engendrer la destruction des tissus, mais son occurrence est peu probable pour des indices mécaniques $IM = P_a / \sqrt{f_c} < 1.9$.

Résumé en anglais :

Focused ultrasound neurostimulation is a promising alternative technique for the treatment of chronic pain. An ex vivo study on skin nerve fibers recently demonstrated that focused ultrasound is able to activate sensory neurons of different subtypes, including nociceptive neurons acting as pain sensors and low-threshold C-mechanoreceptors identified as pain modulators [1]. Selective activation of low-threshold C-mechanoreceptors could be a target of choice in the development of new treatments for chronic pathologic pain. **The aims of this PhD thesis are to identify the ultrasound parameters that enable selective activation of low-threshold C-mechanoreceptors, and to understand the physical mechanisms involved in this process by assessing ultrasound-induced mechanical forces.**

The PhD student will carry out in vitro experiments on an experimental set-up based on calcium imaging to monitor calcium responses on sensory neurons subjected to ultrasound stimuli. These sensory neurons, derived from transgenic mice, will be fluorescently labeled to identify the subtypes of neurons responding to ultrasound. To identify the ultrasonic parameters that selectively activate low-threshold C mechanoreceptors, we will study a wide range of ultrasonic frequencies f_c (1, 5 and 20 MHz), acoustic pressures P_a (0.1-10 MPa) and pulse durations (0.1-10 ms).

In parallel of these experiments on cultured neurons, measurement campaigns will be carried out to assess which physical mechanisms (acoustic radiation force, acoustic streaming, temperature rise) are responsible for activation to different ultrasonic stimuli. Two mechanical forces are at play in our experimental set-up: acoustic radiation forces and hydrodynamic forces induced by acoustic streaming. Radiation forces will be evaluated by measuring the squeezing of polyacrylamide microspheres under the effect of focused ultrasound, the microsphere elasticity being known. The flow induced by acoustic streaming will be seeded with tracer particles, and their tracking by high speed imaging will enable to estimate particle velocities and then hydrodynamic forces.

Finally, this knowledge will be transferred in vivo to mice to validate the activation of low-threshold C-mechanoreceptors using an immunohistochemical labeling technique.

This work will be carried out in collaboration with Aziz Moqrich at IBDM-Marseille, an expert in neuroscience and chronic pain.

Profil du candidat recherché : Master 2 ou Ingénieur, possédant de bonnes compétences en acoustique, physique ou biophysique, ainsi qu'une bonne maîtrise de la programmation Matlab ou Python et un intérêt pour l'expérimental.

Publications sur le sujet :

- [1] Hoffmann et al., Focused ultrasound excites action potentials in mammalian peripheral neurons in part through the mechanically gated ion channel PIEZO2, PNAS 119(21), 2022 (doi: 10.1073/pnas.2115821119)
- [2] Lee et al., Displacement imaging for focused ultrasound peripheral nerve modulation, IEEE Trans. on Medical Imaging 39(11):3391-3402, 2020
- [3] Menz et al., Radiation force as a physical mechanism for ultrasonic neurostimulation of the ex vivo retina, The Journal of Neuroscience 39(32): 6251-6264, 2019

Insertion professionnelle après thèse : publique et/ou privée