



**HAL**  
open science

# Modélisation mathématique de l'activité électrophysiologique des neurones auditifs primaires

Christophe Michel

► **To cite this version:**

Christophe Michel. Modélisation mathématique de l'activité électrophysiologique des neurones auditifs primaires. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc, 2012. Français. NNT : 2012MON20094 . tel-00808610v2

**HAL Id: tel-00808610**

**<https://theses.hal.science/tel-00808610v2>**

Submitted on 30 May 2022

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

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

Université Montpellier II

U.F.R. Sciences et Techniques

Ecole doctorale Sciences Chimiques et Biologiques pour la Santé

Année 2012

N° bibliothèque

## Thèse

Pour obtenir le grade de  
Docteur de l'université Montpellier II

Discipline : Neurosciences Mathématiques

Présentée et soutenue publiquement  
par

**Christophe MICHEL**

Le 13 décembre 2012

Titre

# Modélisation Mathématique de l'Activité Electrophysiologique des Neurones Auditifs Primaires

*Jury*

Pr Jean-Luc PUEL  
Dr Jérôme BOURIEN  
Dr Christine AZEVEDO  
Dr Fabrice WENDLING  
Dr Romain BRETTE  
Dr Dan GNANSIA

Université Montpellier I  
Université Montpellier I  
INRIA  
Université Rennes I  
Ecole Normale Supérieure  
Neurelec

Président  
Directeur de thèse  
Directeur de thèse  
Rapporteur  
Rapporteur  
Invité

## Résumé en français :

En réponse à une stimulation sonore, la cellule ciliée interne libère du glutamate qui va activer des récepteurs distribués sur le bouton post-synaptique. Les courants post-synaptiques vont ensuite dépolariser la terminaison périphérique des neurones auditifs primaires, et initier le déclenchement d'un potentiel d'action. Tandis que la connaissance des mécanismes pré-synaptiques a considérablement progressé ces 10 dernières années, les mécanismes responsables de l'initiation des potentiels d'action sont encore méconnus. Dans cette étude, nous avons déterminé les conductances ioniques nécessaires au déclenchement des potentiels d'action.

Les paramètres biophysiques des conductances ( $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ ) ont été identifiés (algorithme d'identification trace entière) à partir d'enregistrements de patch clamp acquis sur les corps cellulaires. Un modèle mathématique de nœud de Ranvier a ensuite été développé en faisant l'hypothèse que les canaux présents sur le corps cellulaire et sur un nœud de Ranvier étaient de même nature mais en densité différente. Les paramètres de ce modèle ont été identifiés pour reproduire les potentiels d'action extracellulaire au moyen d'un algorithme de descente du gradient.

Nous avons identifié : *i*) un courant  $\text{Na}^+$  entrant rapide ( $G_{\text{Na}}$  activation:  $V_{1/2}=-33$  mV,  $\tau_{act} < 0.5$  ms; inactivation:  $V_{1/2}=-61$  mV,  $\tau_{inact} < 2$  ms) et deux courants  $\text{K}^+$  sortants, un rectifiant retardé activé à haut seuil ( $G_{\text{KH}}$ , activation:  $V_{1/2}=-41$  mV;  $\tau_{act} < 2.5$  ms) et un activé à bas seuil ( $G_{\text{KL}}$ , activation:  $V_{1/2}=-56$  mV;  $\tau_{act} < 5$  ms). Le modèle de nœud de Ranvier génère des potentiels d'action extracellulaire similaires à ceux enregistrés *in vivo*. La différence de durée du potentiel d'action observée le long de l'axe tonotopique (*i.e.* 450  $\mu\text{s}$  de durée pic à pic à 1 kHz contre 250  $\mu\text{s}$  à 20 kHz) s'explique parfaitement par un gradient de densité en canaux ioniques le long de la cochlée ( $G_{\text{Na}} \sim 78$  nS,  $G_{\text{KL}} \sim 9$  nS,  $G_{\text{KH}} \sim 3$  nS à 1 kHz contre  $G_{\text{Na}} \sim 90$  nS,  $G_{\text{KL}} \sim 12$  nS,  $G_{\text{KH}} \sim 6$  nS à 20 kHz).

Cette étude a permis d'identifier les conductances ioniques et les densités de canaux responsables de l'initiation des potentiels d'action dans les neurones auditifs primaires. Elle suggère que la coopération entre le courant  $\text{Na}^+$  et des 2 courants  $\text{K}^+$  est probablement à l'origine de la haute fréquence de décharge de ces neurones. Le modèle de nœud de Ranvier permet en outre de tester de nouvelles stratégies de stimulation électrique dans le contexte de l'implant cochléaire.

## Résumé en anglais :

In response to sound stimulation, inner hair cell triggers glutamate release onto the dendrite-like processes of primary auditory neurons and drives action potentials, which are conveyed to the central nervous system. Whereas knowledge of the transfer function at the ribbon synapse has considerably progressed, little is known about the voltage-gated ionic channels which shape the action potential. Here, we provide a comprehensive computational model bridging the gap between the voltage-dependent currents measured *in vitro* on fresh isolated primary auditory neurons and spikes (extracellular action potentials) recorded *in vivo* from guinea pig auditory nerve fibers.

Voltage-dependent currents ( $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$ ) of SGNs somata patch-clamp recordings were fitted by a Hodgkin-Huxley model with a full trace identification algorithm. Node of Ranvier model was designed from the hypothesis that channels expressed on soma were identical, but differ in density. Simulated spikes were adjusted in order to match *in vivo* single-unit recordings with gradient-descent algorithm.

Computation of the data allows for the identification of: *i*) one fast inward  $\text{Na}^+$  current ( $G_{\text{Na}}$ , activation:  $V_{1/2} = -33$  mV,  $\tau_{\text{act}} < 0.5$  ms; inactivation:  $V_{1/2} = -61$  mV,  $\tau_{\text{inact}} < 2$  ms); and *ii*) two  $\text{K}^+$  conductances, a high voltage-activated delayed-rectifier component ( $G_{\text{KH}}$ , activation:  $V_{1/2} = -41$  mV;  $\tau_{\text{act}} < 2.5$  ms) and a low voltage-activated component ( $G_{\text{KL}}$ , activation:  $V_{1/2} = -56$  mV;  $\tau_{\text{act}} < 5$  ms). Node of Ranvier model generates spikes that fit with *in vivo* recordings. Interestingly, the different spike duration along the tonotopic axis measured *in vivo* (i.e. 450  $\mu\text{s}$  peak-to-peak duration versus 250  $\mu\text{s}$  for 1 to 20 kHz, respectively) was explained by a gradual change in Na and K channel densities along the cochlea ( $G_{\text{Na}} \sim 78$  nS,  $G_{\text{KL}} \sim 9$  nS,  $G_{\text{KH}} \sim 3$  nS at 1 kHz versus  $G_{\text{Na}} \sim 90$  nS,  $G_{\text{KL}} \sim 12$  nS,  $G_{\text{KH}} \sim 6$  nS at 20 kHz).

This study identifies the ionic conductances and densities, which shape the action potential waveform of auditory nerve fibers and suggests that the interplay of fast inward  $\text{Na}^+$  current and the two  $\text{K}^+$  enables the auditory nerve fibers to sustain high firing rates. In addition, this node of Ranvier model provides a valuable tool to design new electrical stimulation strategies for cochlear implants.

# Table des matières

1	Introduction.....	12
2	Rappels .....	14
2.1	Anatomie et Physiologie de la cochlée .....	14
2.1.1	Oreille externe et moyenne des mammifères.....	14
2.1.1.1	Oreille externe .....	14
2.1.1.2	Oreille moyenne .....	15
2.1.2	Oreille interne des mammifères .....	17
2.1.2.1	Structure de la cochlée.....	17
2.1.2.2	Fluides cochléaires.....	18
2.1.2.3	Organe de Corti.....	20
2.1.2.3.1	Cellules sensorielles .....	21
2.1.2.3.2	Innervation de l'organe de Corti .....	24
2.1.3	Physiologie de la cochlée.....	30
2.1.3.1	Codage en fréquence .....	30
2.1.3.1.1	Mécanismes actifs.....	31
2.1.3.1.2	Verrouillage en phase .....	34
2.1.3.2	Codage en intensité .....	35
2.1.3.2.1	Activation de la cellule ciliée interne.....	35
2.1.3.2.2	Activation du neurone auditif primaire.....	35

2.2	Neurones auditifs primaires .....	39
2.3	Conductances dépendantes du voltage.....	41
2.3.1	Conductances glutamatergiques.....	41
2.3.2	Conductances sodiques.....	42
2.3.3	Conductances potassiques .....	42
2.3.4	Conductances activées par l'hyperpolarisation .....	43
2.3.5	Conductances calciques .....	44
2.4	Modélisation mathématique et identification .....	46
2.4.1	Modèle de neurone .....	48
2.4.1.1	Modèles de neurone représentatifs .....	48
2.4.1.2	Généralisation du formalisme d'Hodgkin-Huxley.....	52
2.4.1.2.1	Modèles de courants ioniques dépendants du potentiel .....	52
2.4.1.2.2	Modèles des courbes caractéristiques .....	53
2.4.2	Méthode d'identification des paramètres.....	56
2.4.2.1	Méthode disjointe .....	57
2.4.2.1.1	Courbe d'activation et conductance maximale .....	57
2.4.2.1.2	Courbe d'inactivation.....	59
2.4.2.1.3	Constantes de temps .....	59
2.4.2.2	Points faibles de la méthode disjointe .....	60
2.4.2.3	Méthode trace entière.....	62
3	Matériel et méthodes .....	64
3.1	Enregistrements de patch-clamp .....	64

3.2	Enregistrements unitaires .....	65
3.3	Modèle de neurone .....	65
3.4	Identification des paramètres .....	66
3.5	Reconstruction des potentiels d'action extracellulaires .....	67
3.6	Effet de la température .....	68
3.7	Statistiques .....	69
4	Résultats .....	70
4.1	Algorithme d'identification .....	70
4.1.1	Convergence et sensibilité aux conditions initiales .....	71
4.1.1.1	Courant sodique .....	71
4.1.1.2	Courant potassique à une composante .....	72
4.1.1.3	Courant potassique à deux composantes .....	73
4.1.2	Robustesse de l'algorithme d'identification .....	75
4.1.2.1	Courant sodique .....	75
4.1.2.2	Courant potassique à une composante .....	77
4.1.2.3	Courant potassique à deux composantes .....	79
4.1.2.4	Synthèse des résultats .....	80
4.2	Modèle de corps cellulaire .....	82
4.2.1	Conductances isolées .....	82
4.2.1.1	Conductance sodique .....	82
4.2.1.2	Conductances potassiques .....	86
4.2.1.3	Conductances activées par hyperpolarisation .....	88

4.2.1.4	Synthèse des résultats .....	91
4.2.2	Conductances réunies .....	93
4.2.3	Effets de la température.....	95
4.3	Modèle de nœud de Ranvier .....	96
4.3.1	Evaluation des conductances maximales.....	96
4.3.2	Identification objective des conductances maximales .....	98
4.3.2.1	Le potentiel d'action extracellulaire in vivo .....	98
4.3.2.2	Identification des conductances .....	98
4.3.2.3	Les courants ioniques.....	101
4.4	Le gradient de conductances base/apex .....	101
4.4.1	La durée des potentiels d'action le long de l'axe tonotopique .....	101
4.4.2	Gradient de conductances le long de l'axe tonotopique .....	102
4.5	Propriétés du modèle.....	105
4.5.1	Périodes réfractaires absolue et relative .....	105
4.5.2	Fréquence de décharge maximale .....	107
4.5.3	Effet de la stimulation en courant imposé type implant cochléaire....	109
5	Discussion .....	113
5.1	Courants ioniques à l'origine des potentiels d'action .....	113
5.1.1	Courants sodiques .....	113
5.1.2	Courants potassiques .....	114
5.1.3	Courants activés par hyperpolarisation et courants calciques.....	115
5.2	Propriétés électrophysiologiques des neurones auditifs primaires .....	116

5.2.1	Déclenchement des potentiels d'action .....	116
5.2.2	Périodes réfractaires, fréquence maximale de décharge, et gradient base/apex.....	116
5.3	Stimulation électrique.....	117
5.4	Algorithme d'identification .....	118
5.5	Modèle de neurone .....	119
6	Conclusion et perspectives.....	120

## Table des illustrations

Figure 1, L'organe périphérique de l'audition	13
Figure 2, Coupe transversale de la cochlée	15
Figure 3, Section transversale d'un tour de spire de la cochlée	17
Figure 4, La cellule ciliée interne	19
Figure 5, La cellule ciliée externe	21
Figure 6, Morphologie des neurones du ganglion spiral de type I et II	23
Figure 7, L'innervation de l'organe de Corti	26
Figure 8, Carte fréquentielle chez le mammifère	27
Figure 9, Localisation des différents types de fibres dans le modiulus	35
Figure 10, Morphologie des neurones de type I	36
Figure 11, Classification des modèles de neurones selon le compromis crédibilité physiologique / rapidité de temps de calculs	44
Figure 12, Schéma et caractéristiques d'une cellule excitable et modèle d'Hodgkin-Huxley correspondant	48
Figure 13, Influence des paramètres du modèle sur la forme de l'activation et de l'inactivation	51
Figure 14, Influence des paramètres du modèle sur la forme de la cinétique	52
Figure 15, Protocoles permettant l'identification des paramètres des courants ioniques	55
Figure 16, Sous estimation de la conductance maximale par la mesure du pic	58
Figure 17, Convergence de l'algorithme d'identification trace entière appliqué à des courants sodiques	69

Figure 18, Convergence de l'algorithme d'identification trace entière appliqué à des courants potassiques à une composante	70
Figure 19, Convergence de l'algorithme d'identification trace entière appliqué à des courants potassiques	71
Figure 20, Robustesse de l'algorithme d'identification en présence d'un bruit de mesure	73
Figure 21, Effet du niveau de bruit sur la qualité de l'identification dans le cas d'une composante potassique	75
Figure 22, Effet du niveau de bruit sur la qualité de l'identification dans le cas de deux composantes potassiques	76
Figure 23, Identification des paramètres de la conductance sodique	80
Figure 24, Réponse du modèle de courant sodique à un protocole hybride activation / inactivation	82
Figure 25, Identification des paramètres des courants potassiques	84
Figure 26, Identification des paramètres des courants activés par hyperpolarisation	86
Figure 27, Paramètres du modèle de corps cellulaire	89
Figure 28, Modèle de corps cellulaire, configuration courant imposé et voltage imposé	90
Figure 29, Effet de la température sur les courants sodique et potassiques	91
Figure 30, Evaluation des conductances maximales et calcul du potentiel extra cellulaire	95
Figure 31, Identification des conductances maximales	96
Figure 32, Convergence des conductances lors de la minimisation de l'erreur PA extra mesuré / reconstruit	97

Figure 33, Corrélation de la durée du potentiel d'action avec la fréquence caractéristique	99
Figure 34, Le gradient de conductance base/apex	100
Figure 35, Reconstruction des potentiels d'action suivant l'axe tonotopique	101
Figure 36, Les périodes réfractaires expérimentales et simulées par le modèle le long de la cochlée	103
Figure 37, Les fréquences de décharge maximales le long de la cochlée	105
Figure 38, Influence de la durée et de l'amplitude de l'impulsion sur le déclenchement du potentiel d'action	107
Figure 39, Influence de l'amplitude et de la durée de stimulation sur le déclenchement du potentiel d'action	108

# 1 Introduction

La cochlée a pour fonction de transformer l'environnement sonore en message nerveux interprétable par le cerveau. Dans la cochlée, la mécano-transduction est assurée par les cellules ciliées internes (CCI). En réponse à une stimulation sonore, la CCI se dépolarise ce qui favorise l'ouverture de canaux calciques dépendant du potentiel situés à proximité des rubans synaptiques (Nouvian, Beutner et al. 2006). L'influx de calcium intracellulaire entraîne alors la libération multi-vésiculaire de glutamate. Ce dernier active les récepteurs post-synaptiques de la terminaison d'un neurone auditif (Glowatzki and Fuchs 2002). Les courants post-synaptiques excitateurs dépolarisent ensuite la terminaison périphérique des neurones auditifs primaires, ce qui se traduit par l'émission d'un potentiel d'action (Rutherford, Chapochnikov et al. 2012). Ce dernier se propage vers le système nerveux central.

Les neurones auditifs primaires disposent de propriétés tout à fait particulière telles que : i) le verrouillage de phase pour des sons de fréquence inférieure à 3 kHz (Palmer and Russell 1986), ii) une activité spontanée qui peut atteindre 120 potentiels d'action par seconde et une activité évoquée maximale de 450 potentiels d'action par seconde (Ohlemiller, Echteler et al. 1991), iii) précision temporelle très inférieure à la milliseconde indispensable pour la localisation des sources (Grothe, Pecka et al. 2010), iv) un codage de l'intensité sonore sur une dynamique de 100 dB (Winter, Robertson et al. 1990).

Alors que la compréhension des mécanismes synaptiques a fortement progressé au cours de ces 10 dernières années, les propriétés biophysiques à l'origine du déclenchement du potentiel d'action ne sont toujours pas connues. Une identification des conductances ioniques responsable des potentiels d'action des neurones auditifs permettrait de mieux comprendre le codage en intensité et en fréquence des ondes sonores et d'optimiser les stratégies de stimulation au moyen de l'implant cochléaire.

L'objectif de cette thèse a donc été d'identifier les conductances dépendantes du potentiel responsables du déclenchement des potentiels d'action des neurones auditifs primaires. Pour ce faire, nous avons : i) identifié les conductances du corps cellulaire de neurones auditifs fraîchement isolés, ii) développé un modèle mathématique de nœud de Ranvier en faisant l'hypothèse que les populations de canaux présentes sur le corps cellulaire et sur un nœud de Ranvier étaient de même nature mais de densité différente, iii) validé le modèle de nœud de Ranvier en le comparant à des données expérimentales d'enregistrement unitaire et iv) évalué le seuil en charge du modèle de nœud de Ranvier.

## 2 Rappels

### 2.1 Anatomie et Physiologie de la cochlée

D'un point de vue purement physique, le son est défini comme la partie audible du spectre des vibrations acoustiques. L'audition prend en compte trois paramètres des vibrations acoustiques : la fréquence, le niveau et la durée. La fréquence représente le nombre de vibrations par seconde. Elle est exprimée en Hertz (Hz) et définit la hauteur des sons, aigus ou graves. Le niveau représente l'amplitude de la vibration. Il peut s'exprimer en échelle absolue (décibel *sound pressure level*, dB SPL) avec comme référence une vibration de 20  $\mu$ Pa ou en échelle relative (décibel *hearing level*, dB HL) avec comme référence le seuil auditif d'un sujet normo-entendant. Les mammifères disposent d'une audition dont la gamme fréquentielle couvre ~10 octaves et une dynamique de niveau de ~100 dB dans la zone de meilleure sensibilité.

#### 2.1.1 Oreille externe et moyenne des mammifères

L'oreille des mammifères est constituée de trois parties : l'oreille externe, moyenne et interne. Le rôle principal de l'oreille externe est de capter les sons et celui de l'oreille moyenne est d'assurer une adaptation d'impédance entre le milieu aérien extérieur et le milieu liquidien de l'organe de l'audition, situé dans l'oreille interne, organe transducteur.

##### 2.1.1.1 Oreille externe

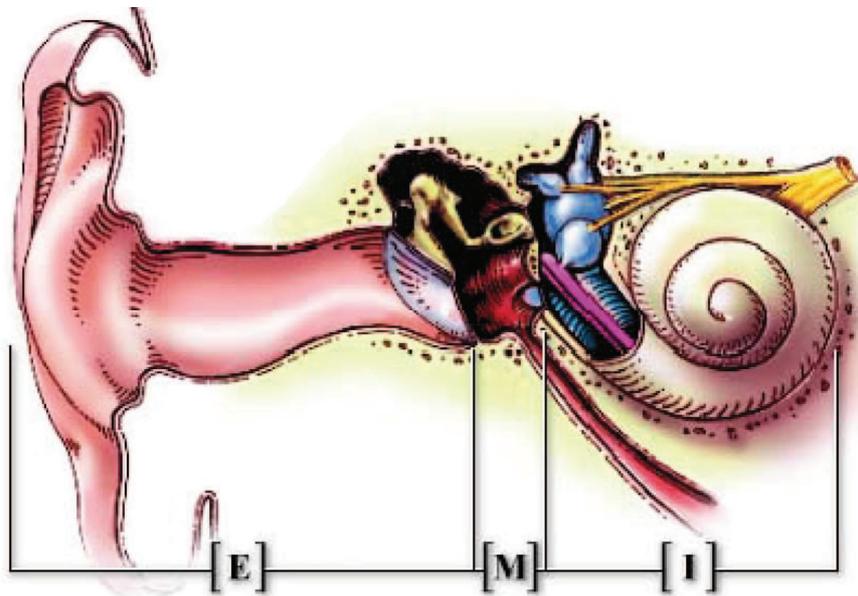
L'oreille externe est constituée de deux ensembles : le pavillon et le conduit auditif externe (**figure 1**). Elle est limitée par une membrane souple, le tympan, qui la sépare de l'oreille moyenne. L'oreille externe a pour fonction de capter les ondes

sonores grâce au pavillon et de les canaliser vers le tympan via le conduit auditif externe, assurant ainsi la transmission des sons vers l'oreille moyenne. Le pavillon, mobile chez la plupart des mammifères, assure un rôle d'antenne acoustique "orientable", ce qui permet d'augmenter les chances de détections des ondes sonores dans une direction donnée. Le conduit auditif externe prolonge le pavillon. C'est un canal cartilagineux et osseux qui fait suite à la conque (dépression profonde en forme d'entonnoir occupant la partie moyenne du pavillon) et qui s'étend jusqu'au tympan.

La conque et le conduit auditif externe amplifient sélectivement certaines fréquences. Le son qui sera transmis à l'oreille moyenne va donc subir des modifications dès l'oreille externe. Chez l'homme, le gain octroyé par cette fonction de transfert est de l'ordre de 10 dB pour les fréquences comprises entre 1.5 et 7 kHz.

#### ***2.1.1.2 Oreille moyenne***

L'oreille moyenne est une cavité osseuse située entre l'oreille externe et l'oreille interne (**Figure 1**). L'oreille moyenne comprend d'avant en arrière la trompe d'Eustache, la caisse du tympan et les cavités mastoïdiennes. Elle forme ainsi une cavité aérienne dans laquelle s'articulent trois os (le marteau, l'enclume et l'étrier) et deux muscles (le tensor tympani et le muscle stapédien). Le marteau, l'enclume et l'étrier forment la chaîne ossiculaire : elle relie le tympan à la fenêtre ovale, membrane souple séparant l'oreille moyenne de l'oreille interne. La fonction de l'oreille moyenne est de transmettre les ondes sonores à l'organe de l'audition à la manière d'un piston. Le rapport des surfaces tympan/fenêtre ovale ( $>20/1$ ) permet une amplification qui assure le transfert des pressions acoustiques entre le milieu aérien et le milieu liquidien de l'organe de l'audition. L'oreille moyenne est donc un



**Figure 1, L'organe périphérique de l'audition.** Le système auditif périphérique permet la transformation des vibrations sonores en un système bioélectrique interprétable par le système nerveux central. Ce système est constitué de trois compartiments : l'oreille externe (E), l'oreille moyenne (M) et l'oreille interne (I). L'oreille externe est constituée du pavillon et du conduit auditif externe. Elle est limitée par une membrane souple, le tympan, qui la sépare de l'oreille moyenne. Elle canalise les ondes sonores vers le tympan. L'oreille moyenne est constituée d'une chaîne de trois osselets : le marteau, l'enclume et l'étrier. Elle transmet les vibrations du milieu extérieur à l'oreille interne. Celle-ci est constituée du vestibule, organe de l'équilibre (en bleu) et de la cochlée, organe de l'audition (spirale). Schéma de S. Blatrix, tiré du Cdrom réalisé par le Pr. R. Pujol : « Promenade autour de la cochlée ».

adaptateur d'impédance sans lequel une très grande partie de l'énergie acoustique serait perdue.

Outre la fonction d'adaptateur d'impédance, l'oreille moyenne joue un rôle protecteur contre les sur-stimulations acoustiques. Ainsi, lorsqu'un son fort est détecté par l'organe de l'audition, l'information est transmise aux neurones des noyaux du tronc cérébral. Une boucle réflexe commande la contraction du muscle stapédien, qui entraîne une augmentation de la rigidité de la chaîne tympano-ossiculaire et une limitation des déplacements aux fréquences basses et moyennes. Ce réflexe, dit stapédien, diminue donc l'énergie transmise à l'organe de l'audition

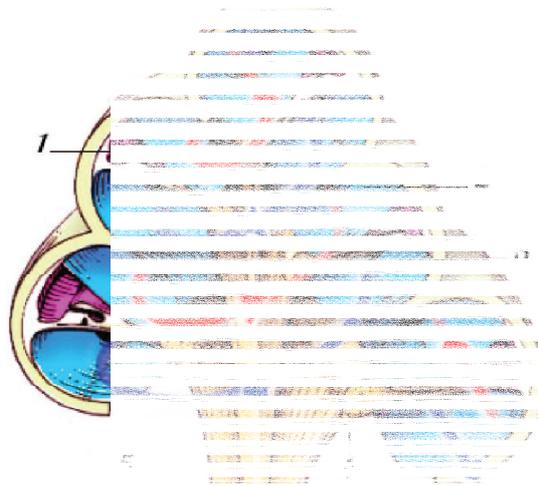
pour des sons de fréquences graves. Cependant, il est fatigable et perd son efficacité pour des stimulations de longue durée.

### 2.1.2 Oreille interne des mammifères

L'oreille interne est composée de deux organes : la cochlée, organe de l'audition et le vestibule, organe de l'équilibre. La cochlée est au contact de la platine de l'étrier qui vient s'appuyer sur la fenêtre ovale (**Figure 1**). Elle se trouve dans la bulle tympanique chez la majorité des mammifères et est enchâssée dans une région poreuse de l'os temporal, le rocher, chez les primates.

#### 2.1.2.1 Structure de la cochlée

La cochlée est recouverte par une paroi osseuse, la capsule otique, et est formée de trois rampes enroulées en spirale autour d'un axe osseux portant le nom de modiolus (**Figure 2**). Les rampes vestibulaires et tympaniques sont remplies de périlymphe et forment le compartiment périlymphatique. Ces deux rampes communiquent entre elles à la partie la plus apicale de la spirale cochléaire, par un orifice portant le nom d'hélicotrème. Les rampes vestibulaires et tympaniques communiquent avec l'oreille moyenne à la partie la plus basale de la spirale cochléaire par la fenêtre ovale et la fenêtre ronde. Ceci permet la circulation des ondes de pression générées par les sons dans la cochlée. L'entrée du signal acoustique est la fenêtre ovale, sur laquelle est attachée la platine de l'étrier. L'onde de pression se propage le long de la spirale formée par la cochlée. Les liquides étant indéformables, la surpression engendrée est compensée par la fenêtre ronde. Les rampes vestibulaires et tympaniques entourent le canal cochléaire rempli d'endolymphe. Le canal cochléaire est délimité par la membrane de Reissner, la paroi latérale osseuse et la lame réticulaire, sur l'organe de Corti (**Figure 3**), siège de la mécano-transduction.



**Figure 2, Coupe transversale de la cochlée.** La cochlée est formée de trois rampes : canal cochléaire (1) contenant l'organe de Corti, la rampe vestibulaire (2) et la rampe tympanique (3) enroulées autour d'un axe osseux le modiolus (5). Les deux dernières rampes communiquent entre elles par un orifice appelé hélicotrème, situé à l'apex de la cochlée. Elles sont disposées de part et d'autre du canal cochléaire. Ce dernier est rempli d'endolymphe, un liquide particulièrement riche en potassium (155 mM). Le canal cochléaire est séparé de la rampe tympanique par la membrane de Reissner, de la rampe vestibulaire par la membrane basilaire et de la capsule otique par la strie vasculaire. Il contient l'épithélium sensoriel : l'organe de Corti. Celui-ci est innervé par les neurones auditifs primaires (5), également appelés neurones du ganglion spiral qui contiennent leurs corps cellulaires (4). Schéma de S. Blatrix, tiré du Cdrom réalisé par le Pr. R. Pujol : « Promenade autour de la cochlée »

### 2.1.2.2 Fluides cochléaires

La périlymphe et l'endolymphe diffèrent profondément par leur contenu ionique. Tandis que la périlymphe a une composition très proche des liquides extracellulaires et du liquide céphalo-rachidien, l'endolymphe se caractérise par une extrême richesse en potassium (150 mM). Cette différence dans la composition ionique des deux fluides cochléaires se traduit par la présence d'un potentiel endolymphatique, appelé potentiel endocochléaire, situé aux environs de +80 mV, chez l'homme. Ce potentiel est le résultat d'une sécrétion active de potassium par la strie vasculaire, l'épithélium tapissant la paroi latérale osseuse du canal cochléaire

**(Figure 3).** Ainsi, l'activité des cellules ciliées dépend de la concentration en potassium de l'endolymphe. Toute modification de l'homéostasie potassique de l'oreille interne diminue les capacités biophysiques de la cochlée à assurer la transformation des ondes sonores en message nerveux.

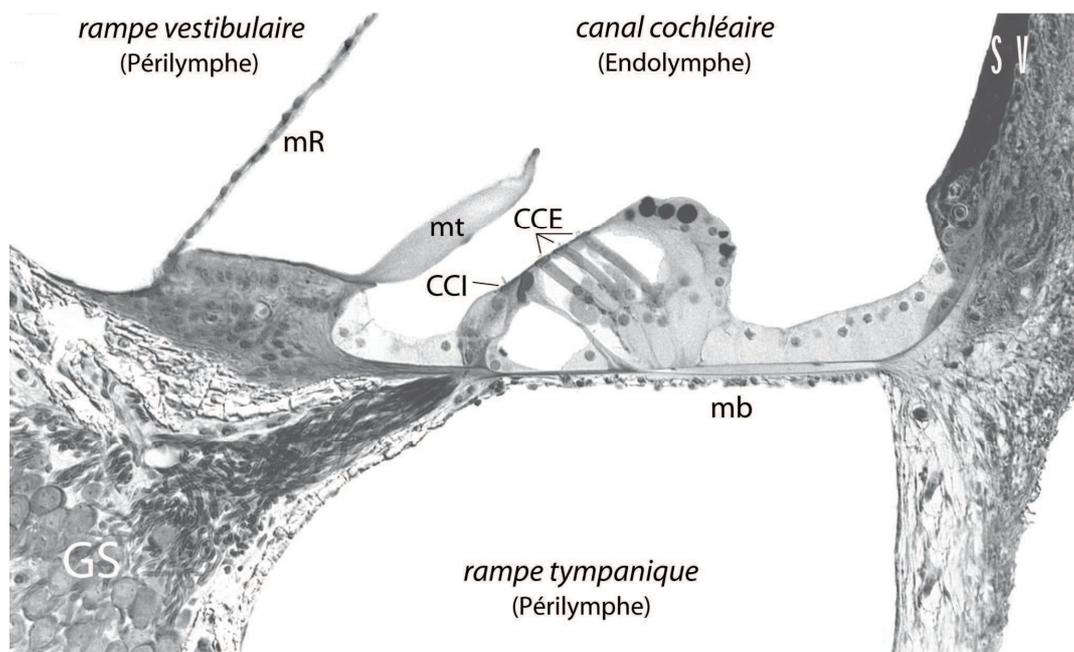
La strie vasculaire est composée de trois types cellulaires : les cellules marginales, les cellules intermédiaires et les cellules basales. La composition ionique de l'endolymphe est assurée partiellement par les cellules marginales qui transportent activement le potassium de l'espace intrastrial dans l'endolymphe et le sodium dans le sens contraire. Les cellules marginales expriment, dans la partie apicale le canal potassique KCNQ1 et sa sous-unité régulatrice KCNE1 (Sakagami, Fukazawa et al. 1991). Dans la partie basolatérale, les canaux chlorure, ClC-K1 et ClC-K2 et leur sous unité régulatrice bartine recyclent le chlorure intracellulaire, ce qui permet une entrée permanente de potassium par le co-transporteur  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$  dans les cellules marginales (Estevez, 2001). De la même façon, l'inactivation du gène *Slc12a2* qui code le co-transporteur  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$  qui entraîne une surdité associée à une diminution de la concentration de potassium dans l'endolymphe. Les cellules marginales expriment également la pompe  $\text{Na}^+, \text{K}^+ - \text{ATPase}$  (Schulte and Steel 1994). L'application de ouabaïne, qui bloque les pompes  $\text{Na}^+, \text{K}^+ - \text{ATPase}$ , provoque une réduction très importante du potentiel endocochléaire, indiquant un rôle majeur de cette pompe dans la sécrétion du potassium dans l'endolymphe (Marcus, Demott et al. 1981).

Le canal rectifiant entrant Kir4.1, exprimé par les cellules intermédiaires, participe également à la formation de l'endolymphe (Takeuchi and Ando 1998). Cette hypothèse a été confirmée par l'étude des souris dont le gène *Kcnj10* (codant ce

canal) a été invalidé. En effet, le potentiel endocochléaire est nul chez les souris homozygotes *Kcnj10*<sup>-/-</sup> (Marcus 2002).

### 2.1.2.3 Organe de Corti

L'organe de Corti doit son nom à l'anatomiste Alfonso Corti, qui en fit la description détaillée en 1851. L'organe de Corti repose sur la membrane basilaire et s'enroule de la base à l'apex de la spirale cochléaire. Il est composé de cellules sensorielles, les cellules ciliées, de fibres nerveuses, de cellules de soutien et de cellules annexes non sensorielles (**Figure 3**).



**Figure 3, Section transversale d'un tour de spire de la cochlée.** Coupe transversale effectuée au troisième tour d'une cochlée de cobaye visualisée en microscopie électronique à balayage. Cette image montre l'organe de Corti, situé entre la membrane basilaire (mb), la membrane de Reissner (mR) et la strie vasculaire (SV). Dans l'organe de Corti, se trouvent les cellules sensorielles, la rangée des cellules ciliées internes (CCI) et les trois rangées de cellules ciliées externes (CCE). Les CCE modulent la transduction sonore par des processus mécaniques actifs. Ceux-ci amplifient les mouvements de la MB en un point précis dépendant de la fréquence, facilitant la stimulation des CCI par la membrane tectoriale (mt). Ces CCI sont chargées de transmettre la vibration au système nerveux central par l'intermédiaire des neurones auditifs primaires dont les corps cellulaires sont situés dans le ganglion spiral (GS). Image Marc Lenoir.

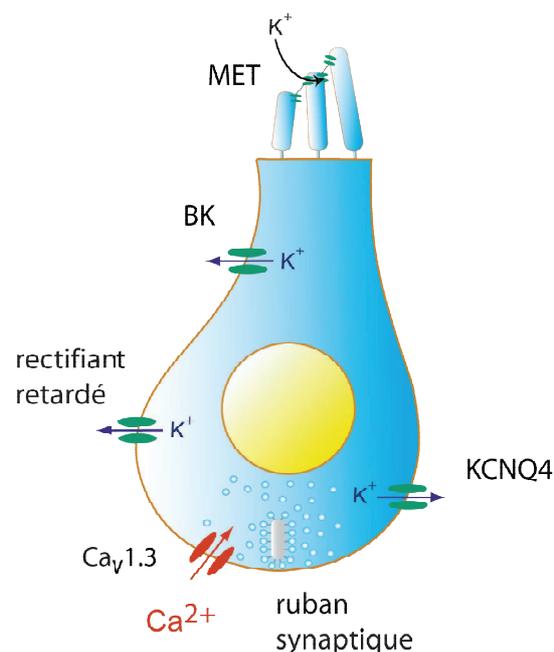
#### 2.1.2.3.1 Cellules sensorielles

La transduction des informations mécaniques en signaux électrochimiques est assurée par les cellules sensorielles. Ces dernières sont coiffées à leur pôle apical de trois rangées de stéréocils, auxquels elles doivent leur nom de cellules ciliées (**Figure 3**). Il existe deux types de cellules ciliées, disposées de part et d'autre du tunnel de Corti : les cellules ciliées externes (CCE, **Figure 3**) et les cellules ciliées internes (CCI, **Figure 3**). Les CCE ont pour rôle d'amplifier l'onde sonore et les CCI transforment l'information sonore en message nerveux. Tandis que les stéréocils des cellules ciliées baignent dans l'endolymphe, leur corps cellulaire est localisé dans le compartiment périlymphatique. Les stéréocils, principalement constitués d'actine, sont au nombre d'une centaine par cellule ciliée et sont disposés sur trois rangées. Ils sont reliés entre eux par de nombreux liens transversaux et par des liens terminaux (tip-links). L'utilisation de rapporteur calcique a démontré que les canaux sensibles à l'étirement, responsables de la transformation de l'onde sonore en signal électrique sont localisés à l'extrémité basse des tip-links, avec 1 à 2 canaux par tip-links (Beurg, Fettiplace et al. 2009). Ces derniers ont une structure en double hélice et sont constitués par l'interaction entre la cadhérine 23 (Siemens, Lillo et al. 2004; Sollner, Rauch et al. 2004) et de protocadhérine 15 (Kazmierczak, Sakaguchi et al. 2007). Les plus longs stéréocils des CCE sont ancrés dans une structure amorphe recouvrant l'organe de Corti : la membrane tectoriale. Cette dernière est composée de fibres de collagène et par des protéines telles que l' $\alpha$ - et  $\beta$ - tectorine et l'otogeline (Cohen-Salmon, El-Amraoui et al. 1997; Legan, Rau et al. 1997).

##### *Cellules ciliées internes*

Les CCI se distinguent des CCE par la forme en poire de leur corps cellulaire (**Figure 4**). Les CCI, au nombre de 3500 par cochlée chez l'homme, sont situées sur

le bord interne de l'organe de Corti et sont organisées sur une seule rangée. Contrairement aux CCE, les stéréocils sont disposés en ligne et ne sont pas ancrés dans la membrane tectoriale. Le noyau est en position médiane et la membrane plasmique latérale est classique. Bien que trois fois moins nombreuses que les CCE, les CCI sont les véritables cellules sensorielles. Elles assurent à la fois la transduction de la vibration mécanique en signal électrique et le transfert de l'information par la libération de neurotransmetteur vers les neurones auditifs primaires (Moser and Beutner 2000; Glowatzki and Fuchs 2002). Les zones actives des CCI se caractérisent par la présence d'une structure dense aux électrons

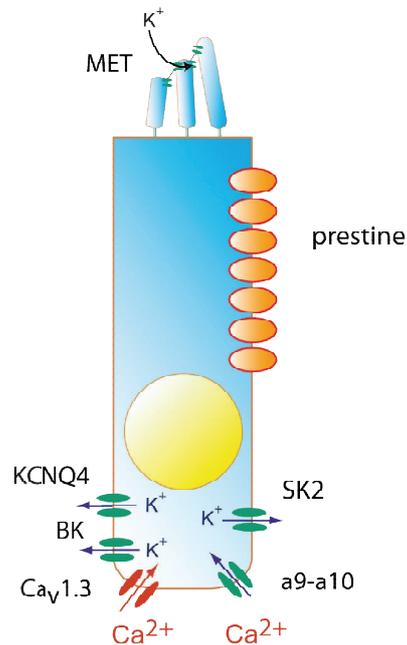


**Figure 4, La cellule ciliée interne.** Représentation schématique d'une cellule ciliée interne. Le noyau de la cellule occupe généralement une position centrale. Au pôle apical de la cellule, trois rangées de stéréocils reposent sur la plaque cuticulaire. L'activité électrique de la cellule ciliée interne est assurée par l'expression de canaux ioniques tels que les canaux mécano-transducteurs (MET), les canaux calciques de type L, les canaux potassiques BK, rectifiants retardés et KCNQ4. La pré synapse est munie d'un corps dense aux électrons : le ruban synaptique (en gris) entouré de vésicules de glutamate

appelés rubans synaptiques (**Figure 4**, voir (Nouvian, Beutner et al. 2006) pour revue). Ces corps synaptiques sont ancrés à la membrane plasmique et entourés de vésicules synaptiques, lesquelles contiennent du glutamate, le neurotransmetteur des CCI (**Figure 4**). La protéine RIBEYE est le principal constituant des rubans synaptiques et l'ancrage des rubans à la membrane plasmique est assuré par Bassoon (Khimich, Nouvian et al. 2005). Généralement, il y a un seul ruban par zone active et une dizaine à une vingtaine de zones actives par CCI. Chaque zone active est connectée par la terminaison d'un seul neurone auditif (Liberman 1982).

#### *Cellules ciliées externes*

Les CCE (**Figure 5**), situées sur le bord externe de la spirale cochléaire, sont organisées en trois rangées et sont au nombre d'environ 13000 par cochlée chez l'homme. D'un point de vue morphologique, les CCE ont une forme parfaitement cylindrique et leur longueur croît régulièrement de la base à l'apex de la cochlée. Leurs stéréocils sont disposés en W sur leur plaque cuticulaire. Les CCE sont séparées latéralement entre elles par les espaces de Nuel. Elles ne sont en contact avec les cellules de Deiters qu'à leur pôle apical et basal. Le pôle apical des CCE et l'extrémité des phalanges de Deiters forment la lame réticulaire, une mosaïque parfaitement étanche à l'endolymphe. La paroi latérale est tapissée d'un complexe de citernes latérales et de mitochondries. Le noyau des CCE est situé à la base des cellules, juste au-dessus du compartiment synaptique qui renferme de nombreuses mitochondries.



**Figure 5, La cellule ciliée externe.** Représentation schématique d'une cellule ciliée externe. Le noyau de la cellule occupe une position très basale. Au pôle apical de la cellule, trois rangées de stéréocils reposent sur la plaque cuticulaire. L'activité électrique de la cellule ciliée externe est assurée par l'expression de canaux ioniques tels que les canaux nicotinique  $\alpha 9$ - $\alpha 10$ , les canaux potassiques SK sensibles au calcium, se trouvent également les canaux calciques de type L et les canaux potassiques BK et KCNQ4. Enfin l'activité électro-motile de la cellule ciliée externe est assurée par la protéine prestine, située le long de la membrane latérale.

#### 2.1.2.3.2 Innervation de l'organe de Corti

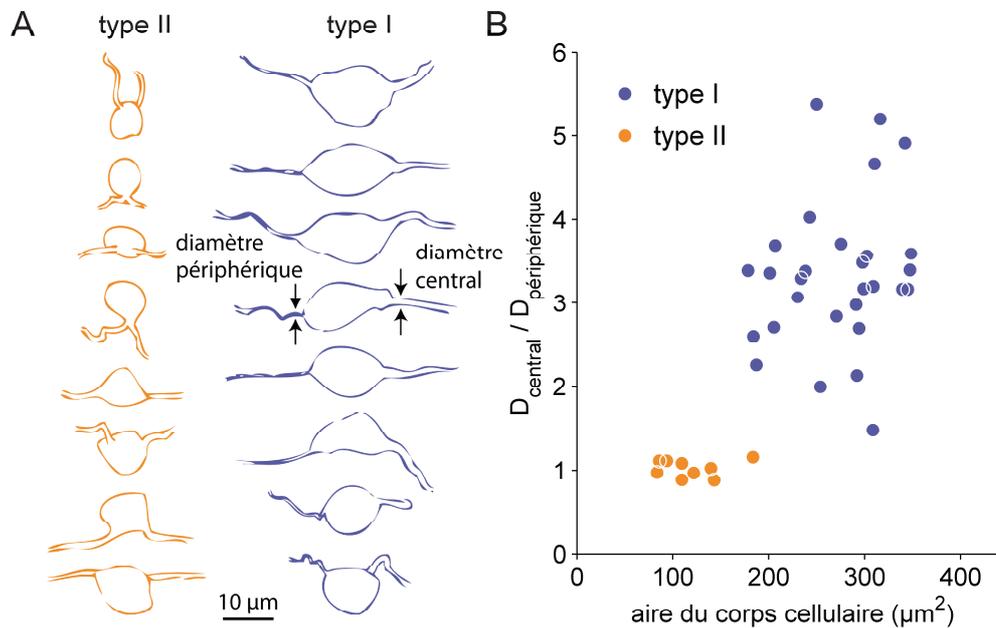
L'organe de Corti reçoit une double innervation, à la fois afférente et efférente (**Figure 7**). L'innervation afférente est constituée par les neurones de type I et II du ganglion spiral, dont les axones projettent vers les noyaux cochléaires. L'innervation efférente provient de neurones appartenant à deux systèmes distincts dont les corps cellulaires se situent dans les noyaux du tronc cérébral. Le prolongement axonal de l'ensemble de ces neurones constitue le nerf cochléaire.

### *Innervation afférente*

L'innervation afférente de l'organe de Corti provient des neurones auditifs primaires, dont les corps cellulaires sont situés au niveau du ganglion spiral. Ce dernier est situé dans l'axe de la cochlée (modiolus). Les neurones auditifs primaires sont des neurones bipolaires. Ils sont de deux types, appelés neurones ganglionnaires de type I et neurones ganglionnaires de type II. Leurs prolongements périphériques se terminent dans l'organe de Corti, au contact des cellules ciliées, et leur prolongement central se termine dans les noyaux cochléaires du tronc cérébral. Les neurones ganglionnaires de type I et type II sont clairement identifiables morphologiquement de par la forme de leur corps cellulaire et par le rapport des diamètres de l'axone central sur l'axone périphérique (**Figure 6**).

### *Innervation afférente des CCI*

L'innervation afférente des CCI est assurée par les neurones ganglionnaires de type I (**Figure 6**). Les neurones de type I représentent 95 % de la population neuronale du ganglion spiral (Spoendlin 1969). Ce sont des neurones de grosse taille myélinisés, y compris autour du soma. Ils possèdent une branche périphérique unique, elle aussi myélinisée jusqu'à l'entrée de l'organe de Corti, qui projette vers les CCI et vient se connecter par un seul bouton dendritique à une seule CCI (Kiang, Rho et al. 1982). Plusieurs neurones de types I vont contacter une même CCI (en moyenne une dizaine par CCI chez l'homme). Ainsi, chez l'homme, il existe environ 30000 neurones de type I pour 3500 CCI. Au niveau de la densité post-synaptique des fibres de type I du nerf auditif, les récepteurs au glutamate de type AMPA se distribuent en anneau, avec pour centre la projection du ruban synaptique (Matsubara, Kawabata et al. 1998; Meyer, Frank et al. 2009). Les récepteurs AMPA des fibres de type I sont exclusivement composés par les sous-unités GluR 2-3



**Figure 6, Morphologie des neurones du ganglion spiral de type I et II.** **A** Corps cellulaires de neurone du ganglion spiral innervant les CCI (type I, bleu) et les CCE (type II, orange) chez le chat. Les corps cellulaires des neurones de type I sont bipolaires et de dimension supérieure aux neurones de type II, qui sont pseudo-monopolaires. **B** Rapport des diamètres central *versus* périphérique en fonction de l'aire du corps cellulaire pour des neurones de type I (bleu) et II (orange (d'après (Kiang, Rho et al. 1982))).

(Matsubara, Kawabata et al. 1998; Khimich, Nouvian et al. 2005; Nouvian, Beutner et al. 2006).

#### *Innervation afférente des CCE*

L'innervation afférente des CCE est assurée par les neurones ganglionnaires de type II (**Figure 7**). Ces derniers représentent une population minoritaire au sein du ganglion spiral : ils constituent en effet à peine 5 % de la population neuronale de cette structure (Spoendlin 1969). Le diamètre et la surface du corps cellulaire des neurones de type II sont plus petits que ceux des neurones de type I et contrairement à ces derniers (**Figure 6**), ils ne sont pas myélinisés (Kiang, Rho et al. 1982).

Le prolongement périphérique de ces neurones est ramifié. Chaque neurone de type II va ainsi établir des synapses avec une dizaine de CCE différentes, appartenant généralement à la même rangée. Récemment, la nature glutamatergique de ces synapses a été démontrée par l'enregistrement des terminaisons des fibres de type II (Weisz, Lehar et al. 2012). En accord avec ces résultats, les CCE sont dotées de rubans pré synaptiques (Knirsch, Brandt et al. 2007). Cependant, le rôle de l'innervation afférente des CCE reste controversé. Les neurones de type II ne semblent pas répondre aux stimulations sonores à forte intensité (Robertson 1984), malgré une sensibilité à l'ATP, connu pour être libéré lors de traumatisme sonore.

#### *Innervation efférente*

La cochlée est un organe contrôlé par les centres supérieurs. Les cellules ciliées reçoivent une innervation massive de la part de deux systèmes efférents dont les corps cellulaires sont originaires de l'olive bulbaire. Le système efférent médian innerve directement les CCE tandis que le système efférent latéral innerve les dendrites des fibres de type I du nerf auditif.

#### *Système efférent latéral*

L'innervation efférente des dendrites des neurones de type I est assurée par le système olivocochléaire efférent latéral (**Figure 7**). Les neurones sont originaires de l'olive supérieure latérale située dans le tronc cérébral. Les fibres du système efférent latéral contactent directement les dendrites des neurones du type I, juste sous le bouton synaptique formé avec la CCI (**Figure 7**). Le système efférent latéral utilise plusieurs neurotransmetteurs dont l'acétylcholine, le GABA, la dopamine, et des neuromodulateurs, le CGRP, les enképhalines et les dynorphines (Eybalin 1993; Puel 1995).

### *Système efférent médial*

L'innervation efférente des CCE est assurée par le système olivocochléaire efférent médian (**Figure 7**), appelé ainsi du fait de la présence des corps cellulaires des neurones dans le noyau ventro-médian du corps trapézoïde, sur le pourtour du complexe olivaire supérieur médian. Le contact entre les CCE et les neurones du système efférent médian s'effectue par l'intermédiaire de grosses terminaisons axoniques. Le neurotransmetteur utilisé par le système efférent médian est l'acétylcholine (Bobbin and Konishi 1971; Housley and Ashmore 1991; Kujawa, Glatcke et al. 1993; Erostequi, Nenov et al. 1994; Kujawa, Glatcke et al. 1994; Blanchet, Erostequi et al. 1996; Oliver 2000). L'acétylcholine, libérée par le système efférent médian, active des récepteurs nicotiques  $\alpha 9$  et  $\alpha 10$ . Ces sous-unités nicotiques confèrent aux récepteurs nicotiques des CCE un profil pharmacologique particulier : ces récepteurs sont bloqués par la strychnine (antagoniste glycinergique), par la bicuculline (antagoniste gabaergique), et par la nicotine et la muscarine (Fuchs and Murrow 1992; Kujawa, Glatcke et al. 1993; Elgoyhen, Johnson et al. 1994; Erostequi, Nenov et al. 1994; Kujawa, Glatcke et al. 1994; Elgoyhen, Vetter et al. 2001). L'activation d' $\alpha 9$ - $\alpha 10$  par l'acétylcholine entraîne une entrée de calcium, qui à son tour active des canaux potassiques sensibles au calcium SK2 (Erostequi, Nenov et al. 1994; Blanchet, Erostequi et al. 1996; Evans 1996; Yuhas and Fuchs 1999; Oliver 2000). Ces derniers assurent la sortie de potassium et par conséquent entraînent l'hyperpolarisation des CCE (**Figure 5**). En contrôlant le potentiel de membrane des CCE, le système efférent médian module donc l'activité de ces cellules, dont le rôle majeur est d'amplifier l'intensité des ondes sonores. La réduction du gain de l'amplificateur cochléaire permet au système efférent médian d'assurer une protection aux fortes intensités de stimulation (Puel, Bobbin et al. 1988; Maison, Adams et al. 2003). Notons aussi que

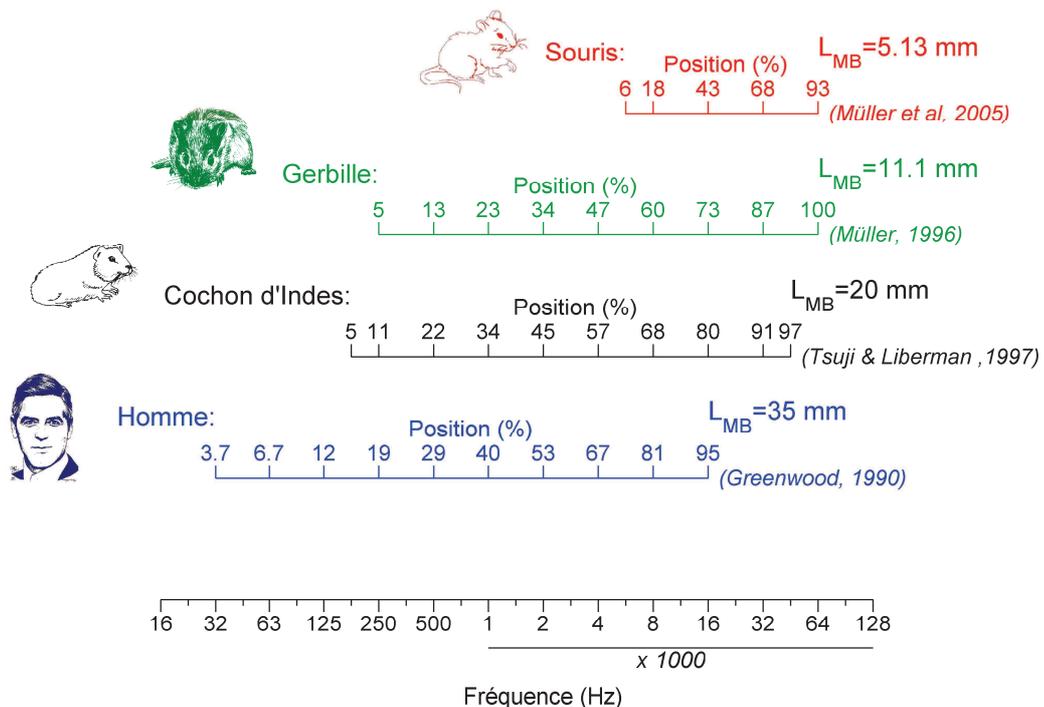


### 2.1.3 Physiologie de la cochlée

La cochlée transforme les ondes sonores en message nerveux. Les sons étant caractérisés par une fréquence et une intensité, la cochlée doit assurer le codage en fréquence et en intensité de l'onde sonore. Le codage de la fréquence sollicite la tonotopie cochléaire et le codage de l'intensité de la stimulation sonore a lieu à la première synapse auditive.

#### 2.1.3.1 Codage en fréquence

Dans la cochlée, l'onde de pression générée par un son se propage le long de



**Figure 8, Carte fréquentielle chez le mammifère.** L'homme (bleu) et le rongeur (noir : cochon d'Indes, vert : gerbille, rouge : souris). L'axe tonotopique est présenté à la base du schéma en échelle logarithmique de 16 Hz à 128 kHz. La position du codage le long de la membrane basilaire est exprimée en % de la longueur totale ( $L_{MB}$ ) depuis l'apex. Les références bibliographiques sont fournies à droite du schéma. Carte fréquentielle chez l'homme :  $x = 47,62 \times \log(6,046f + 1)$ , le cochon d'Indes :  $x = 33,6 + 38,2 \times \log(f)$ , la gerbille :  $x = 45,45 \times \log(2,51f + 0,63)$ , la souris :  $x = -56,5 + 82,5 \times \log(f)$  avec  $f$  la fréquence en kHz et  $x$  la position en %.

la membrane basilaire de la base à l'apex de la cochlée. La vibration atteint son amplitude maximale en un point précis, d'autant plus proche de l'apex que la fréquence de stimulation est grave (von\_Békésy 1960). Cette particularité, due aux propriétés mécaniques de la membrane basilaire, est à l'origine de la tonotopie cochléaire. La **Figure 8** présente la tonotopie cochléaire chez l'homme et chez les principaux modèles animaux utilisés en laboratoire (cochon d'Indes, gerbille, souris). La tonotopie cochléaire est généralement caractérisée par une carte fréquentielle de codage qui lie la fréquence à la position du codage sur l'axe tonotopique. L'homme perçoit les sons sur 10 octaves, le cochon d'Indes et la gerbille, sur 9 octaves, et la souris sur 4 octaves. La souris est spécialisée pour percevoir des sons hautes fréquences compris entre 5 et 64 kHz. Chez le cochon d'Indes et la souris, la carte fréquentielle est purement logarithmique (voir équations dans la légende de la **Figure 8**) alors que chez la gerbille et l'homme, la relation n'est logarithmique que dans les hautes fréquences. Si cette tonotopie passive permet d'expliquer un premier niveau de codage des fréquences, ce codage est peu sélectif et ne suffit pas à expliquer le degré remarquable de sensibilité et de sélectivité fréquentielle de la cochlée.

#### 2.1.3.1.1 Mécanismes actifs

L'amplification de la vibration du son par les cellules ciliées externes pourrait avoir plusieurs origines. Le mouvement de la membrane basilaire serait amplifié non seulement par une contraction et une extension de la cellule ciliée interne en quadrature de phase avec le stimulus, c'est l'hypothèse de l'électromotilité mais également par une déflexion des stéréocils, beaucoup plus rapide.

#### *Hypothèse de l'électromotilité*

En fait, l'organe de Corti doit sa sensibilité et sa sélectivité en fréquence à l'existence de mécanismes actifs cochléaires (Dallos 1992). Il a été proposé que les

mécanismes actifs trouvent leur origine dans les propriétés électromotiles des CCE. En effet, les CCE se raccourcissent en réponse à une dépolarisation et à l'inverse s'allongent en réponse à une hyperpolarisation (Brownell, Bader et al. 1985). Ces changements de taille peuvent atteindre jusqu'à 4% de la longueur des CCE et peuvent suivre des fréquences de stimulation compatibles avec les fréquences audibles. La persistance de l'électromotilité après digestion des réseaux cytosquelettiques sous membranaire, par dialyse intracellulaire de trypsine, montrent que les éléments moteurs (prestine) responsables de l'électromotilité résident dans la membrane plasmique elle-même (Huang and Santos-Sacchi 1994). Une signature de l'électromotilité est la capacité non-linéaire des CCE (Tunstall, Gale et al. 1995). Celle-ci reflète les mouvements de charge du moteur en réponse à un changement de potentiel transmembranaire. La courbe exprimant cette capacité membranaire en fonction du potentiel transmembranaire prend une forme en cloche caractéristique.

La vibration sonore transmise à la périlymphe par la chaîne des osselets fait onduler la membrane basilaire du haut vers le bas. L'onde mécanique se propage le long de la membrane basilaire avec un maximum d'amplitude situé d'autant plus près de la base que la fréquence est aiguë (tonotopie passive). Le mouvement de cisaillement de la membrane tectoriale provoque la déflexion des stéréocils des CCE, implantés dans la membrane tectoriale. Le mouvement des stéréocils favorise l'ouverture des canaux cationiques non spécifiques, situés aux extrémités basses des stéréocils. Ces canaux dont la nature moléculaire restent inconnue laissent alors entrer le potassium de l'endolymphe dans les CCE (Sidi, 2003 ; Strassmaier, 2002 ; Walker, 2000). Les CCE se contractent en phase avec les déplacements de la membrane basilaire, augmentant ainsi considérablement les déplacements des structures qui entraînent l'excitation des CCI. Si la prestine confère à la cochlée sa

sensibilité et sa sélectivité en fréquence, un phénomène d'inhibition latérale associée à l'électromotilité des CCE pourrait aussi participer à la sélectivité en fréquence. En effet, la contraction d'une CCE en réponse à un saut de potentiel dépolarisant entraîne l'hyperpolarisation de la CCE voisine, et par conséquent son allongement (Zhao and Santos-Sacchi 1999). Cependant, la membrane plasmique des CCE se comporte comme un filtre passe-bas, qui prévient les variations du potentiel de récepteur pour des fréquences supérieures à 1 kHz. Plusieurs hypothèses ont été proposées afin de concilier les propriétés RC (R et C sont la résistance et capacité membranaire, respectivement) de la membrane plasmique et l'électromotilité des CCE. Les principales hypothèses sont i) l'augmentation du courant du canal mécano-transducteur des cellules ciliées à la base de la cochlée (He, Jia et al. 2004; Ricci, Kennedy et al. 2005), ii) une conductance au chlore assurée par la prestine (Rybalchenko and Santos-Sacchi 2003; Santos-Sacchi, Song et al. 2006), iii) des potentiels extracellulaires pouvant gouverner la dépendance au voltage de la prestine (Oesterle and Dallos 1986).

#### *Hypothèse des stéréocils*

L'observation de mouvements spontanés des stéréocils a soulevé l'hypothèse que ces derniers libèrent l'énergie requise pour amplifier les mouvements de la membrane basilaire (Crawford and Fettiplace 1985; Howard and Hudspeth 1987; Denk and Webb 1992; Benser, Marquis et al. 1996; Martin and Hudspeth 1999). En réponse à une stimulation mécanique, la déflexion initiale des stéréocils s'accompagne par un déplacement supplémentaire des stéréocils dans la direction du stimulus (Kennedy, Crawford et al. 2005). A l'inverse de la membrane plasmique des CCE, le déplacement des stéréocils ne se comporte pas comme un filtre passe-bas et peut donc suivre chaque cycle de stimulation sonore de plusieurs dizaines de

kHz. La force exercée par les stéréocils pourrait donc être à la base des mécanismes actifs (voir (Fettiplace and Hackney 2006) pour revue).

#### 2.1.3.1.2 Verrouillage en phase

Le codage de la fréquence dans la cochlée de mammifères est associé à la tonotopie cochléaire. Pour les sons de fréquence inférieurs à 3 kHz, le codage de la fréquence est renforcé par un deuxième mécanisme : le verrouillage en phase (Rose, Brugge et al. 1967). En réponse à une stimulation sonore, l'émission des potentiels d'action par les fibres du nerf auditif se produit à un instant préférentiel du cycle de la stimulation sonore : les fibres du nerf auditif répondent alors en phase à la stimulation sonore. Le nombre de potentiels d'action augmente avec l'intensité de stimulation mais conserve une émission régulière. En revanche, l'augmentation de la fréquence de stimulation (supérieure à 3 kHz) entraîne une perte de synchronisation des potentiels d'action par rapport au cycle de la fréquence de stimulation. Ici encore, les propriétés RC de la membrane plasmique des CCI (et dans une moindre mesure la période réfractaire de neurones auditifs primaires) empêchent le verrouillage de phase sur des fréquences de stimulations élevées (Palmer and Russell 1986).

Le potentiel de récepteur des CCI se caractérise par deux composantes : une composante alternative qui suit la fréquence de la stimulation et une composante continue qui reproduit l'enveloppe de la stimulation sonore. Pour des stimulations sonores de fréquences inférieures à 1 kHz, la composante alternative domine la réponse électrique des CCI et permet aux cellules sensorielles auditives de répondre en phase avec la stimulation. En effet, le déplacement des stéréocils reproduit la composante alternative de l'onde sonore, de forme sinusoïdale. La déflexion des stéréocils provoque la dépolarisation des CCI, qui libèrent alors du glutamate dans la fente synaptique. Les neurones auditifs sont alors activés et déclenchent des

potentiels d'action. La repolarisation des CCI provoque ensuite l'arrêt de la libération du glutamate et par conséquent l'arrêt de l'émission de potentiels d'action. Au delà de 1 kHz, la constante de temps membranaire  $\tau$  (égal au produit RC et environ égal à 500  $\mu$ s, (Kros and Crawford 1990; Oliver, Schachinger et al. 2006)) empêche la membrane plasmique de suivre en phase les cycles de la stimulation au delà 3 kHz : la composante continue est alors prédominante et les CCI codent l'enveloppe de la stimulation sonore (Russell and Sellick 1978).

### **2.1.3.2 Codage en intensité**

#### **2.1.3.2.1 Activation de la cellule ciliée interne**

De la même façon que pour la CCE, la CCI correspondante à la fréquence de stimulation est activée suite à la déflexion de ses stéréocils. A la différence des CCE, les plus grands stéréocils des CCI ne sont pas ancrés à la membrane tectoriale : la déflexion des stéréocils des CCI est favorisée par le contact direct avec la bande de Hensen de la membrane tectoriale. A noter que l'ensemble des stéréocils se comporte comme une unité fonctionnelle et se déplace donc de façon homogène (Kozlov, Risler et al. 2007). L'ouverture des canaux mécano-sensibles des stéréocils entraîne l'entrée de potassium contenu dans l'endolymphe et par conséquent dépolarise la CCI. La dépolarisation de la CCI provoque l'ouverture de canaux calciques sensibles au potentiel de type L, situés au voisinage des zones actives (Platzer, Engel et al. 2000; Brandt, Striessnig et al. 2003; Zenisek, Davila et al. 2003; Neef, Gehrt et al. 2009). L'influx de calcium entraîne la fusion des vésicules synaptiques à la membrane plasmique (Issa and Hudspeth 1994; Parsons, Lenzi et al. 1994; Tucker and Fettilplace 1995; Issa and Hudspeth 1996; Moser and Beutner 2000; Zenisek, Davila et al. 2003; Frank, Khimich et al. 2009; Meyer, Frank et al. 2009). L'exocytose des CCI est intimement lié au ruban synaptique. La sécrétion

synaptique des CCI montre un degré de coordination élevé ce qui provoque des potentiels post-synaptiques excitateurs d'amplitude variable mais de cinétique constante (Glowatzki and Fuchs 2002). Une fois libéré dans la fente synaptique, le glutamate active alors les récepteurs AMPA présents sur les fibres du nerf auditif (Ruel, Chen et al. 1999; Ruel, Bobbin et al. 2000; Glowatzki and Fuchs 2002). Les cinétiques d'activation et de désensibilisation de ces récepteurs sont très rapides ce qui permet une réponse des fibres du nerf auditif approprié au stimulus acoustique. Le message nerveux va alors être véhiculé par les neurones auditifs primaires et envoyé vers le système nerveux central.

#### *2.1.3.2.2 Activation des neurones auditifs primaires*

L'étude des neurones auditifs primaires du chat (Liberman 1978) a montré qu'ils se divisent en 3 populations : les neurones à basse activité spontanée ( $AS < 0.5$  PA/s), les neurones à activité spontanée moyenne ( $0.5 \leq AS \leq 18$  PA/s) et les neurones à haute activité spontanée ( $AS > 18$  PA/s). La distribution des neurones auditifs primaires selon cette classification est relativement homogène entre espèce (voir **Table 1**) avec une forte majorité de fibres à haute activité spontanée (60-75%) et une minorité de fibres à basse activité (10-16%). Il n'existe pas de données expérimentales chez l'homme.

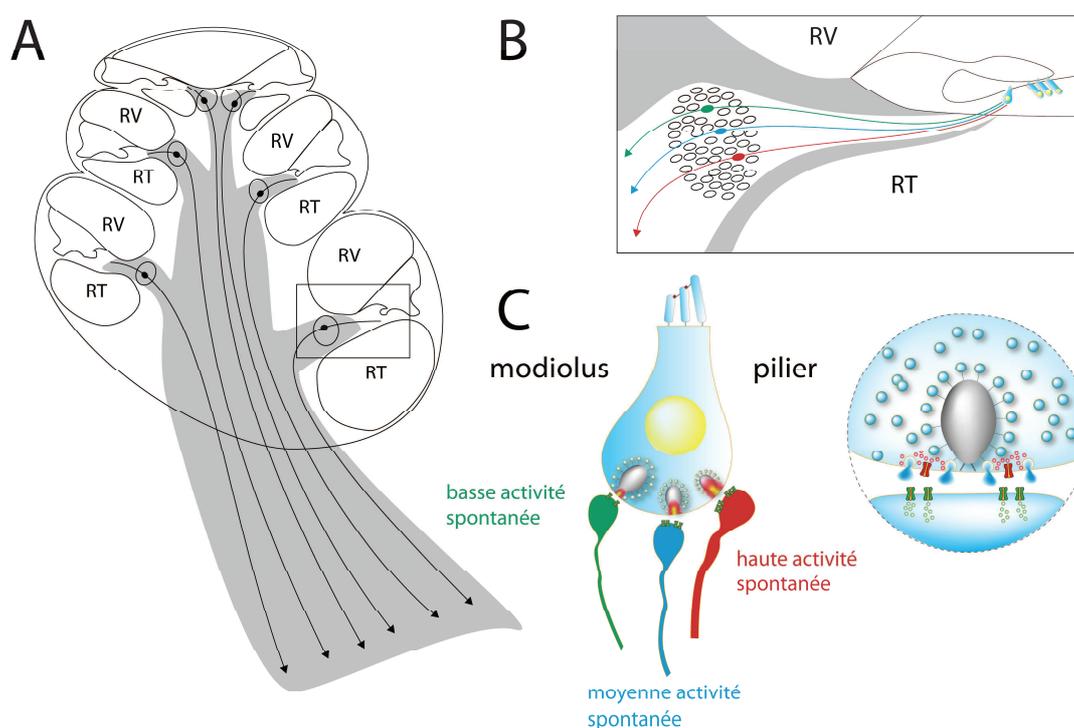
Différents phénomènes complémentaires sont à l'origine des trois types de profils d'activité spontanée. Premièrement, en absence de son, la CCI libère spontanément du glutamate vers les neurones auditifs primaires (Ruel, Chen et al. 1999; Ruel, Bobbin et al. 2000; Glowatzki and Fuchs 2002), cette libération spontanée active en permanence les neurones auditifs primaires. De plus, une variabilité dans l'amplitude des influx calciques entre les différentes synapses d'une seule CCI pourrait être à l'origine de différents taux de libération de glutamate

**Table 1 : Distribution des fibres du nerf auditif suivant la classification basée sur l'activité spontanée.** (haute : AS > 18 PA/s, moyenne :  $0.5 \leq AS \leq 18$  PA/s, basse : AS < 0.5 PA/s). Données acquises par la technique de l'enregistrement unitaire.

Animal	Fibres dans le nerf auditif	Haute AS (%)	Moyenne AS (%)	Basse AS (%)	Référence
Chat	55000	61	23	16	(Lieberman 1978)
Cochon d'Indes	24000	73	15	12	(Tsuji and Liberman 1997)
Gerbille	18000	60	30	10	(Schmiedt 1989)
Homme	35000	inconnue	inconnue	inconnue	
Souris	9000	51 (AS $\geq$ 20 PA/s)	49 (AS < 20 PA/s)		(Taberner and Liberman 2005)

(Frank, Khimich et al. 2009; Meyer, Frank et al. 2009), ce qui entraîne une activité spontanée différente pour chaque synapse. Pour aller plus loin, une étude récente propose que c'est le degré de coordination de la libération des vésicules synaptiques qui est responsable de l'activité basale des fibres du nerf auditif (Grant, Yi et al. 2010). Deuxièmement, l'activité spontanée des neurones auditifs primaires serait régulée par les fibres efférentes. En effet, l'effet inhibiteur de la dopamine contenue dans les terminaisons des efférences latérale est un mécanisme additionnel dans la régulation de l'activité spontanée des fibres. L'application intra cochléaire de dopamine entraîne une réduction de l'activité spontanée des fibres du nerf auditif et une élévation du seuil de réponse à la stimulation sonore. Ainsi, la dopamine joue un rôle inhibiteur sur l'activité des neurones auditifs primaires (Ruel, Nouvian et al. 2001; Le Prell, Shore et al. 2003). A l'inverse, l'application d'antagonistes de la dopamine provoque une augmentation de l'activité spontanée des neurones auditifs primaires et une amélioration de la sensibilité au seuil. L'augmentation de l'activité spontanée reflète probablement une levée d'inhibition tonique au niveau du site d'initiation du message auditif (Ruel, Nouvian et al. 2001).

En réponse à une stimulation acoustique, l'activité des neurones auditifs primaires augmente avec l'intensité sonore : c'est le codage en intensité. En outre, le recrutement progressif de ces trois populations de fibre permet d'expliquer l'étendue de la dynamique cochléaire du seuil de la perception au seuil de la douleur (110 dB à 1000 Hz chez l'homme). En effet, les neurones à basse activité sont caractérisés par un seuil d'activation compris en 20 et 60 dB SPL, les neurones à activité spontanée

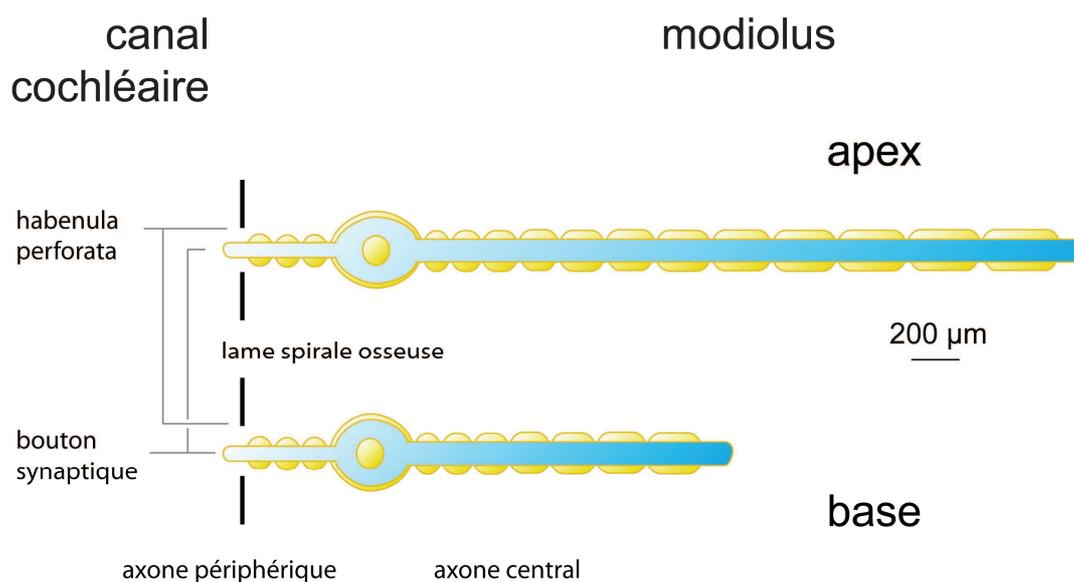


**Figure 9, Localisation des différents types de neurones dans le modiolus.** **A.** Schéma en coupe longitudinale d'une cochlée de chat d'après (Kawase and Liberman 1992). RV : Rampe vestibulaire, RT : Rampe tympanique. Les corps cellulaires (symboles noir plein) sont localisés dans le ganglion spiral (ellipses). **B.** Ganglion spiral et organe de Corti en coupe. Les neurones à basse (vert) et moyenne (bleu) activité spontanée traversent préférentiellement le ganglion spiral du côté rampe vestibulaire alors que les neurones à haute activité spontanée (rouge) sont uniformément distribués dans le ganglion spiral (Kawase and Liberman 1992; Tsuji and Liberman 1997). **C.** Innervation de la cellule ciliée interne. La synapse d'un neurone à basse activité spontanée (gros bâtonnet synaptique et faible densité de récepteurs post-synaptiques) innerve préférentiellement la CCI côté modiolus. La synapse d'un neurone à haute activité spontanée (petit bâtonnet synaptique et importante densité de récepteurs post-synaptiques) innerve préférentiellement la CCI côté pilier (Liberman 1982; Merchan-Perez and Liberman 1996; Liberman, Wang et al. 2011).

moyenne ont un seuil compris entre 10 et 20 dB SPL, et les neurones à haute activité spontanée ont un seuil proche de 0 dB SPL.

## 2.2 Neurones auditifs primaires

Les neurones auditifs primaires sont composés d'un corps cellulaire, d'un axone central qui s'étend du corps cellulaire aux noyaux cochléaires et d'un axone périphérique qui innerve une cellule ciliée interne. Le corps cellulaire est localisé dans le ganglion spiral (**Figure 9-A**). Les axones centraux convergent vers le modiolus pour former le nerf auditif. Les neurones issus de l'apex sont en conséquence positionnés au centre du nerf alors que les neurones issus de la base sont distribués en périphérie du nerf. Les neurones qui innervent la base de la



**Figure 10, Morphologie des neurones auditifs primaires.** Représentation schématique d'un neurone de l'apex (en haut, longueur ~7 mm) et d'un neurone de la base (en bas, longueur ~4 mm). La lame spirale osseuse (trait noir épais) sépare le modiolus du canal cochléaire. Les neurones du ganglion spiral rejoignent le canal cochléaire par l'*habenule perforata*. Le cytoplasme des neurones est en bleu, la myéline est en jaune. Les cellules de Schwann les plus courtes entourent l'axone périphériques et mesurent 150 µm. Les cellules de Schwann les plus longues entourent l'axone central et mesurent 500 µm. L'aire des corps cellulaires est de 350 µm<sup>2</sup> à l'apex et de 250 µm<sup>2</sup> à la base. Les corps cellulaires ont un rapport de diamètres de 0.6 à l'apex et de 0.8 à la base. L'axone périphériques a un diamètre de l'ordre de 0.5 µm, celui de l'axone central est de compris entre 1.5 à 2 µm (Liberman and Oliver 1984).

cochlée et qui codent les fréquences aiguës sont plus courts (~4 mm) que les neurones qui innervent l'apex (~8 mm, **Figure 10**). C'est la raison pour laquelle les corps cellulaires des neurones de l'apex sont plus volumineux (section longitudinale ~ 350  $\mu\text{m}^2$ ) et plus allongés (grand axe / petit axe ~ 0.8) que les neurones de la base (section longitudinale ~ 250  $\mu\text{m}^2$ ; grand axe / petit axe ~ 0.6) (Liberman and Oliver 1984).

L'axone périphérique se distingue de l'axone central par sa longueur (10 à 20 fois plus courte, (Liberman and Oliver 1984) et son plus petit diamètre (rapport des diamètres central/périphérie de l'ordre de 4 (Kiang, Rho et al. 1982; Liberman and Oliver 1984)). L'axone central et le corps cellulaire sont intégralement myélinisés, contrairement à l'axone périphérique qui est myélinisé uniquement du corps cellulaire à l'habenula perforata. Des mesures acquises chez le chat ont montré que l'axone périphérique compte 3 segments myélinisés de 150 à 200  $\mu\text{m}$  l'unité contre 7 à 12 segments myélinisés de 300 à 400  $\mu\text{m}$  l'unité (**Figure 10**). Les segments myélinisés sont séparés par un nœud de Ranvier d'un micromètre de longueur et caractérisé par un rétrécissement du diamètre du neurone (Liberman and Oliver 1984). Les nœuds de Ranvier qui bordent le corps cellulaire sont plus longs et peuvent atteindre une dizaine de micromètres de longueur. Le site d'initiation des potentiels d'action des neurones auditifs primaires est localisé dans la terminaison périphérique a proximité de l'habenula perforata (Siegel 1992; Hossain, Antic et al. 2005; Rutherford, Chapochnikov et al. 2012).

Chaque neurone auditif primaire innerve une cellule ciliée au moyen d'une unique synapse à bâtonnet (Liberman, Sciences, 1982). Il a été montré que les caractéristiques morphologiques de la synapse dépendaient de l'activité spontanée du neurone. Un neurone à basse activité spontanée sera caractérisé par : i) un bâtonnet

pré-synaptique de taille supérieure à la moyenne, ii) une faible densité de récepteurs post-synaptiques, iii) une synapse localisée côté modiolus, iv) un petit diamètre axonal (**Figure 9-C**). Un neurone à haute activité spontanée sera caractérisé par : i) un bâtonnet pré-synaptique de taille inférieure à la moyenne, ii) une forte densité de récepteurs post-synaptiques, iii) une synapse localisée côté pilier, iv) un plus gros diamètre axonal (Lieberman 1982; Merchan-Perez and Liberman 1996; Grant, Yi et al. 2010; Liberman, Wang et al. 2011). Ce gradient pilier/modiolus est maintenu jusqu'au ganglion spiral (**Figure 9-B**). Les corps cellulaires des neurones à basse et moyenne activité spontanée sont localisés du côté de la rampe vestibulaire alors que les neurones à haute activité spontanée sont uniformément distribués dans le ganglion spiral (Kawase and Liberman 1992; Tsuji and Liberman 1997).

## 2.3 Conductances dépendantes du voltage

L'émission de potentiels d'action, qui véhiculent l'informations sonore le long des neurones auditifs primaires, est tributaire des courants glutamatergiques situés au bouton terminal et des courants sensibles au potentiel, distribués aux nœuds de Ranvier.

### 2.3.1 Conductances glutamatergiques

L'enregistrement du bouton terminal des neurones du nerf auditif a montré que les courants excitateurs post-synaptiques correspondent à l'activation de récepteurs au glutamate de type AMPA (Glowatzki and Fuchs 2002). En accord avec ces résultats, l'application de bloqueurs des récepteurs AMPA directement dans la cochlée diminue l'activité spontanée et évoquée des neurones auditifs primaires (Ruel, Chen et al. 1999; Ruel, Nouvian et al. 2001). Il est intéressant de noter que l'amplitude des courants excitateurs post-synaptiques varie fortement (facteur 20) au sein d'un même neurone mais que les cinétiques d'activation restent conservées.

Ces résultats suggèrent que les courants excitateurs post-synaptiques traduisent une libération multi vésiculaire du glutamate des cellules ciliées internes.

### 2.3.2 Conductances sodiques

Le corps cellulaire des neurones auditifs primaires se caractérise par un courant sodique rapide, sensible à la tetrodotoxine (TTX, **Table 2**) et dont l'activation se situe entre -60 mV et -50 mV. Les cinétiques de ces courants sont rapides : en réponse à un saut de potentiel de -80 à -10 mV, le courant sodique atteint sa valeur maximale après 0,3 ms et s'inactive en 1 ms. La récupération post-inactivation est également rapide avec une constante de temps de l'ordre de la milliseconde. Les canaux sodiques sont essentiels au déclenchement des potentiels d'action (neurone de gerbilles néonatales en culture (Lin 1997), neurone de jeunes rat en culture (Moore, Hall et al. 1996), corps cellulaire fraîchement isolés de cochon d'Indes adultes (Santos-Sacchi 1993)).

### 2.3.3 Conductances potassiques

Les neurones auditifs primaires expriment de multiples courants potassiques. L'utilisation de TTX a permis d'isoler des courants sortants, sensibles au TEA (**Table 2**), qui ne s'inactivent pas. L'utilisation d'outil pharmacologique a montré l'expression de trois conductances potassiques : i) une composante à bas seuil, qui s'inactive peu ( $I_{KL}$ ,  $\sim -60$  mV), ii) une composante à haut seuil, qui s'inactive peu ( $I_{KH}$ ,  $\sim -40$  mV), ii) une composante à bas seuil, caractérisée par une forte inactivation ( $I_{KA}$ ,  $\sim -60$  mV ). La composante potassique activée à bas seuil contrôle le potentiel de repos tandis que la composante activée à haut seuil permettrait la repolarisation rapide après déclenchement du potentiel d'action sans affecter le potentiel de repos. Les conductances potassiques (de type  $I_{KA}$ ) seraient impliquées dans l'adaptation en amplitude de la décharge de potentiels d'action lorsque la cadence de stimulation

augmente (cadence >50 pulses/sec, durée du pulse = 10 ms) (neurone de gerbilles néonatales en culture (Lin 1997), neurone de jeunes rat en culture (Moore, Hall et al. 1996), corps cellulaire fraîchement isolés de cochon d'Indes adultes (Santos-Sacchi 1993) (Szabo, Harasztosi et al. 2002), souris jeune (Mo and Davis 1997; Mo and Davis 1997; Adamson, Reid et al. 2002; Mo, Adamson et al. 2002)).

#### **2.3.4 Conductances activées par l'hyperpolarisation**

Le soma des neurones auditifs primaires expriment un courant de large amplitude (de 2 à 4 nA) et qui ne s'inactive pas en réponse à des sauts de potentiel hyperpolarisant (constante de temps d'activation de l'ordre de 1 sec). La sensibilité de ce courant au césium et sa résistance au baryum suggère que ce courant est de type  $I_h$ . L'analyse du décours temporel des courants à l'aide de modèles d'ajustement mono ou double exponentielles a montré la présence de deux composantes  $I_h$ , une composante rapide ( $\tau > 100-200$  ms) et une composante lente ( $\tau > 1-2$  sec) (corps cellulaire fraîchement isolés de cochon d'Indes adultes (Chen 1997; Szabo, Harasztosi et al. 2002)). En accord avec ces résultats, les sauts de potentiels hyperpolarisants évoquent un courant de type  $I_h$  a deux composantes dans le bouton terminal des neurones auditifs primaires (Yi, Roux et al. 2010).

**Table 2. Sélectivité des bloqueurs des conductances ioniques.** Courants  $I_{Na}$  : sodique,  $I_{KL}$  : potassique à bas seuil,  $I_{KH}$  : potassique à haut seuil,  $I_{KA}$  : potassique inactivé,  $I_h$  : cationique activé par hyperpolarisation,  $I_{Kir}$  : potassique entrants rectifiants. Pharmacologie, TTX : tetrodotoxine, TEA : tétraéthylammonium, 4AP : 4-aminopyridine, DTX : dendrotoxine, Cs : césium, Ba : baryum. Efficacité du bloqueur : faible, moyenne, forte.

	TTX	TEA	4AP	DTX	Cs	Ba
$I_{Na}$	forte					
$I_{KH}$		forte	faible			
$I_{KL}$		moyenne	faible	forte		
$I_{KA}$		faible	forte			
$I_h$					forte	
$I_{Kir}$						forte

### 2.3.5 Conductances calciques

L'utilisation d'outils pharmacologiques a permis d'isoler des courants sensibles au potentiel dont l'amplitude augmente avec la concentration calcique extracellulaire. Ces courants calciques, de type L, s'activent pour des potentiels supérieurs à -50 mV et leur courbe I-V atteint sa valeur maximale à -10 mV. Ces canaux pourraient être impliqués, comme les canaux sodiques, dans le déclenchement du PA et entraîner l'activation d'éventuels canaux potassiques dépendants du potentiel de type BK ou SK (canaux sensible au calcium) (corps cellulaire fraîchement isolés de cochon d'Indes adultes (Hisashi, Nakagawa et al. 1995)).

Les propriétés de ces conductances en fonction de l'animal, de son âge, de la localisation des canaux ioniques et de la préparation sont résumées dans la **Table 3**.

**Table 3. Caractéristiques des conductances des neurones de la voie auditive.**  
Légende : local, localisation ; cond : conductances étudiées ; act : potentiel d'activation ;  
inact : potentiel d'inactivation ; bloc : bloqueurs pharmacologiques utilisés pour les autres  
conductances présentes ; B/A : base / apex ; NC : noyau cochléaire ; X : non précisé ; h  
activé par hyperpolarisation ; P : post natal

espèce	âge	local	préparation	cond	nature	act	Cinétique	bloc
cochon d'indes	adulte	X	aigu mécanique	Na	X	> -50 > -60	<1 ms (act) <3 ms (inact)	TTX
				K	X	> -50	<1.5	TEA
cochon d'indes	adulte	X	aigu mécanique	h	X	< 80	< 100 ms (fast) < 1 sec (slow)	Cs
cochon d'indes	adulte	X	aigu enzyme	Ca	L	> -50	X	La Flu
cochon d'indes	adulte	X	aigu enzyme	KH	Kv3.1	> -50	X	TEA 4AP
				KL	X	> 60	X	DTX TEA 4AP
				KA	X		X	4AP TEA
				h	X	< -80	X	Cs
rat	P0-P3	X	culture	Na	X	> -50 > -60	X (act) X (inact)	TTX
				K	X	> -40	X	TEA
gerbille	P0-P1	X	culture	Na	X	> -60	X	TTX
				K	X	> -60	X	Cs (in)
murin	X	X	culture	h	X	<-78 >-122	X	Cs
souris	P1-P6	X	culture	K	X	X	X	X
souris	P3-P8	X	culture	KL	Kv1.1	> -80	X	$\alpha$ -DTX
				KH	X	> -20	X	DTX
souris	P3-P8	B/A	culture	KH	Kv3.1 (b>a)	X	X	X
				KL	Kv1.1 (b>a)	X	X	X
				KA	Kv4.1 (b>a)	X	X	X
				BK	Kca (a>b)	X	X	X
rat	P2-P6	X	tranche	KA	Kv3.4 Kv4	> -50 > -100	X (act) > 100 ms (inact)	4AP TEA
Cochon d'indes	adulte	NC	Aigu enzyme	KH	Kv3.1	> -10	< 3	
				KL	Kv1.1 Kv1.2	> -30	< 10	
				KA	Kv1 Kv3 Kv4	> -50	< 30	4AP DTX TEA

## 2.4 Modélisation mathématique et identification

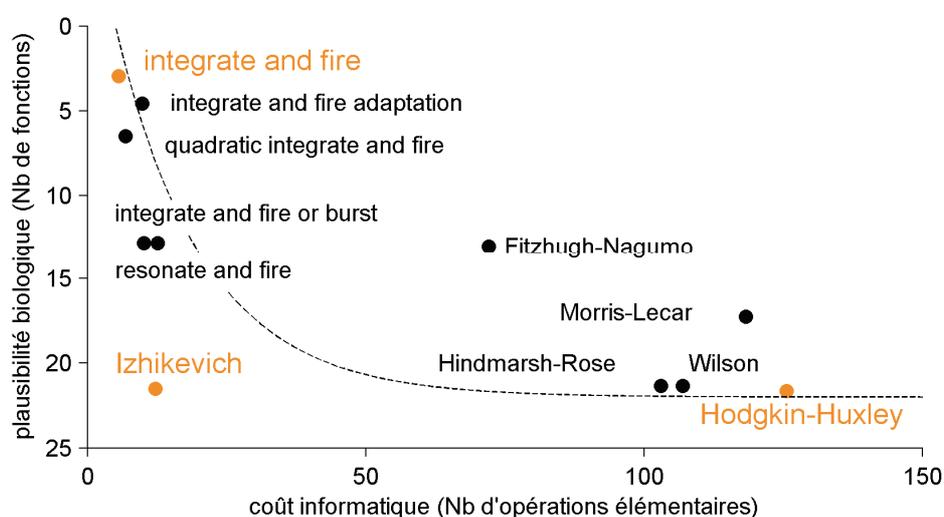
Un modèle mathématique de neurone vise à décrire son activité électrophysiologique grâce à un formalisme mathématique. Il existe de nombreux modèles classés selon le type d'activité visée : activité d'un réseau de plusieurs milliers de neurones, d'un réseau de quelques centaines de cellules ou d'un seul neurone. A noter que plus le modèle est complexe plus les ressources calculatoires nécessaires sont importantes et plus le temps de calcul augmentera. La complexification du formalisme entraîne également des problèmes d'ajustement du modèle avec l'augmentation des paramètres et la non-linéarité des équations.

Le modèle de neurone le plus simple proposé par Mc Culloch & Pitts en 1945 décrit le comportement « tout ou rien » du neurone. Quand la somme pondérée des entrées dépasse le seuil, la sortie du modèle vaut 1 sinon elle vaut 0 (McCulloch and Pitts 1990). Un autre modèle se rapproche de la physiologie du neurone grâce à un condensateur représentant la capacité membranaire, le modèle *Integrate and Fire* (Lapicque 2007). Ces deux modèles sont très utilisés aujourd'hui lorsque les coûts informatiques doivent être faibles, dans les grands réseaux de neurones par exemple (Casti, Omurtag et al. 2002; Rangan and Cai 2007).

Une révolution a eu lieu dans l'histoire de l'électrophysiologie et de la modélisation des neurones lors de la publication des travaux d'Hodgkin et Huxley (Hodgkin and Huxley 1952). Utilisant la technique du voltage-clamp, ils ont mis en évidence la contribution de différents canaux ioniques dépendants du potentiel dans le déclenchement du potentiel d'action. Ce travail leur valut le prix Nobel de Physiologie et de Médecine en 1963. Même si l'enregistrement unitaire de l'activité d'un canal a montré que le modèle mathématique d'Hodgkin-Huxley est incomplet du fait de la dimension stochastique de l'ouverture et de la fermeture d'un canal ionique,

ce modèle devient très fiable lorsque le nombre de canaux augmente dans le neurone ( $n > 500$  selon (Clay and DeFelice 1983)).

Après la publication des résultats d'Hodgkin et Huxley, il y eut deux tendances dans la course à la modélisation. Un premier groupe de scientifiques s'attachait à poursuivre la tâche d'Hodgkin et Huxley dans leur souci de crédibilité physiologique. Cette communauté a notamment modélisé le comportement stochastique d'ouverture et de fermeture des canaux ioniques, en proposant des modèles markoviens (Clay and DeFelice 1983). Un deuxième courant préférait la voie du compromis en proposant des versions simplifiées du modèle initial de Hodgkin et Huxley par linéarisation des équations différentielles (Krninskii and Kokoz lu 1973) ou des modèles purement théoriques dits « comportementaux », qui reproduisent fidèlement



**Figure 11, Classification des modèles de neurones selon le compromis crédibilité physiologique / rapidité de temps de calculs.** La crédibilité physiologique a été calculée selon le nombre de caractéristiques sur 22 caractéristiques de référence que le modèle est capable de reproduire. Les modèles *Integrate and Fire* et d'*Hodgkin-Huxley* se situent aux extrêmes (le modèle *integrate and fire* vérifie 3 propriétés sur 22 alors que le modèle d'*Hodgkin-Huxley* les vérifie toutes). Le modèle comportemental d'*Izhikevich* offre le meilleur compromis (Izhikevich 2004).

le comportement du neurone sans attacher d'importance aux phénomènes qui en sont à l'origine (Fitzhugh 1962). Ces modèles qui offrent des temps de calculs plus raisonnables sont destinés à la modélisation de grands réseaux de neurones (Izhikevich and Edelman 2008).

### 2.4.1 Modèle de neurone

Un modèle de neurone est choisi en fonction du degré d'ajustement des données qu'il doit reproduire. Une brève revue de la littérature des grandes familles de modèles de neurone est présentée dans cette section.

#### 2.4.1.1 Modèles de neurone représentatifs

Dans cette partie, trois modèles mathématiques de neurones sont présentés : le modèle *Leaky Integrate and Fire* (Gerstner 2006), le modèle d'Izhikevich (Izhikevich 2004), et le modèle d'Hodgkin-Huxley.

Le *Leaky Integrate and Fire* est une ébauche de modèle physiologique au vu des éléments électroniques le composant : un condensateur représentant l'accumulation de charges de part et d'autre de la membrane et une résistance qui décrit l'activité des canaux de fuite (Gerstner 2006). D'autres modèles, dérivés de celui-ci, ont été proposés pour pallier son extrême simplicité. On peut citer le *Resonate and Fire* ou le *Quadratic Integrate and Fire* (Gerstner 2006). Toutes les versions de ce modèle peuvent être stimulées par un courant extérieur ou par une entrée physiologique de type courant post-synaptique. Voici le formalisme mathématique du modèle *Leaky Integrate and Fire*

$$(1) \quad \begin{cases} C \frac{dV_m}{dt} = \frac{V_m}{R} + I_{ext}(t) \\ \text{if } V_m > 30 \text{ mV}, V_m = 0 \text{ mV} \end{cases}$$

où  $V_m$  est le potentiel de membrane,  $R$  la résistance de fuite,  $C$  la capacité membranaire et  $I_{ext}$  le courant extérieur (de stimulation ou synaptique). C'est un

intégrateur à fuite, lorsque le potentiel de membrane atteint un seuil fixé à 30 mV, il est réinitialisé à 0 mV et le processus se poursuit. Ce modèle à deux paramètres ( $R$  et  $C$ ) est simple et permet de simuler de très grands réseaux neuronaux comme par exemple une colonne corticale de cortex visuel (Casti, Omurtag et al. 2002; Rangan and Cai 2007). L'inconvénient de ce modèle est qu'il ne permet pas de modéliser la forme du potentiel d'action, il ne génère que les instants d'occurrence. Les paramètres de ce modèle sont généralement identifiés empiriquement.

Le modèle d'Izhikevich est le modèle comportemental qui reproduit le plus de caractéristiques des neurones excitables (Izhikevich 2003). Voici son formalisme mathématique :

$$(2) \quad \begin{cases} \frac{dV_m}{dt} = 0.04V_m^2 + 5V_m + 140 - u + I_{ext}(t) \\ \frac{du}{dt} = a(bV_m - u) \\ \text{if } V_m > 30 \text{ mV, } \begin{cases} v \leftarrow c \\ u \leftarrow u + d \end{cases} \end{cases}$$

où  $V_m$  représente le potentiel de membrane et  $u$  est une variable de récupération qui tient compte de l'activation des canaux potassiques et de l'inactivation des canaux sodiques et qui fait un retour négatif sur  $V_m$ . Le paramètre  $a$  est l'échelle de temps de la variable de récupération,  $b$  est la sensibilité de la variable de récupération aux fluctuations du potentiel de membrane,  $c$  est la valeur de réinitialisation du potentiel de membrane et  $d$  la réinitialisation de la variable de récupération. Dans ce modèle, le courant est également intégré au cours du temps. Lorsque le potentiel de membrane atteint le seuil fixé à 30 mV, le modèle est réinitialisé. Ce modèle qui comporte deux équations différentielles et quatre paramètres est plus coûteux que le *Leaky Integrate and Fire* mais offre un comportement beaucoup plus réaliste (résonateur, intégrateur, rebond, excitabilité de classe 1, de classe 2, adaptations, bistabilité (Izhikevich 2004). Ce modèle est utilisé pour modéliser de grands réseaux

de neurones comme ceux impliqués dans la maladie de Parkinson (Modolo, Mosekilde et al. 2007). Le choix des paramètres de ce modèle est parfois plus délicat que pour le *Leaky Integrate and Fire* modèle. Il peut se faire de façon empirique ou objective d'après des données expérimentale.

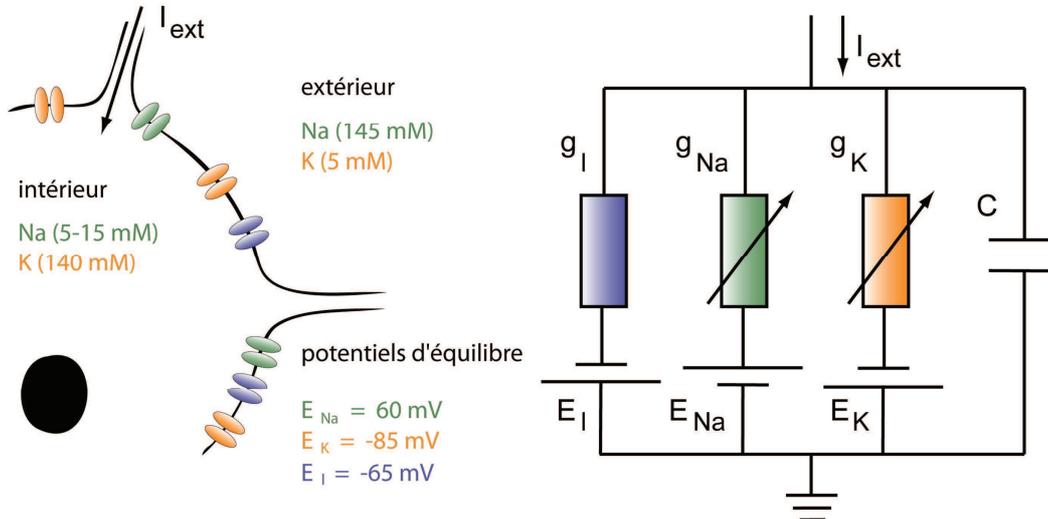
A la différence des modèles précédents, le formalisme d'Hodgkin-Huxley s'inscrit dans une modélisation biophysique à l'échelle des populations de canaux ioniques. Il est basé sur l'hypothèse d'indépendance des canaux. C'est-à-dire que les paramètres des conductances dépendantes du potentiel propres à chaque courant ionique sont indépendants. Ce modèle classiquement représenté sous la forme d'un circuit électrique à 4 branches parallèles (voir **Figure 12**) modélise le comportement capacitif et résistif d'une membrane dotée de canaux ioniques  $Na^+$  et  $K^+$  dépendants du voltage. Voici le formalisme mathématique du modèle

$$(3) \quad \begin{cases} C \frac{dV_m}{dt} = G_{Na} m^3 h (V_m - E_{Na}) + G_K n^4 (V_m - E_K) + G_l (V_m - E_l) + I_{ext} \\ \frac{dx}{dt} = \alpha_x (V_m) (1 - x) - \beta_x \quad x = m, h, n \end{cases}$$

La capacité membranaire est modélisée par un condensateur de capacitance  $C$ , la conductance de fuite par une branche comprenant une conductance fixe  $G_l$  et un générateur de tension continue  $E_l$  représentant le potentiel de renversement des canaux de fuite. Les conductances ioniques  $g_{Na} = G_{Na} m^3 h$  et  $g_K = G_K n^4$  sont modélisées par une branche comprenant une conductance variable, dépendante du potentiel de membrane, et des générateurs de tension continue  $E_{Na}$  et  $E_K$  représentant le potentiel de Nernst du sodium et du potassium.  $I_{ext}$  est le courant extérieur, il peut être de type courant post-synaptique ou de type stimulation électrique (échelon, biphasique, triphasique).

Initialement proposé par Hodgkin et Huxley avec deux courants ioniques  $I_{Na}$  et  $I_K$ , ce formalisme peut être étendu à d'autres classes de neurones comportant divers types de courants ioniques (courants hyperpolarisants, courants calciques, courants potassiques dépendants de calcium). Il est utilisé pour modéliser des neurones à l'échelle cellulaire. Un modèle de Hodgkin-Huxley simple est décrit par un système de 4 équations différentielles et compte 27 paramètres (Gerstner 2006). Le réglage empirique des paramètres devient alors très laborieux et l'utilisation d'un algorithme d'identification des paramètres à partir de données expérimentales s'impose.

Le choix du modèle de neurone dépend de la nature des données expérimentales à modéliser. Pour simuler un taux de potentiels d'action, un modèle comportemental est suffisant alors que pour reproduire l'activité unitaire d'un canal ionique, un modèle stochastique d'ouverture/fermeture d'une protéine est plus



**Figure 12, Schéma d'une cellule excitable et modèle d'Hodgkin-Huxley correspondant.** Schéma anatomique et électrique d'une cellule excitable. Canaux sodiques, potassiques et de fuite en orange, vert et bleu, respectivement. Les potentiels d'équilibre  $E_{Na}$ ,  $E_K$  et  $E_l$  (dûs aux différences de concentrations extra / intracellulaires exprimées en mM) sont modélisés par des générateurs de tension continue. Les canaux ioniques dépendants ou non du potentiel par des conductances variables ou non. Le comportement capacitif de la membrane est modélisé par un condensateur  $C$ .  $I_{ext}$  représente le courants extérieur, post-synaptique ou stimulation électrique.

approprié. Si les données sont des courants ioniques issus d'expériences de patch-clamp dans des configurations potentiel ou courant imposé en cellule entière, le modèle d'Hodgkin-Huxley est le plus adapté.

### 2.4.1.2 Généralisation du formalisme d'Hodgkin-Huxley

Le modèle d'Hodgkin-Huxley (développé sur l'axone géant de calmar) peut être facilement étendu à des neurones qui expriment divers courants ioniques. L'équation du modèle devient alors

$$(4) \quad C \frac{dV_m}{dt} = - \sum I_{ion} + I_{ext}$$

où  $C$  est la capacité membranaire,  $V_m$  le potentiel de membrane,  $I_{ion}$  les courants ioniques,  $I_{ext}$  le courant extérieur.

#### 2.4.1.2.1 Modèles de courants ioniques dépendants du potentiel

Le courant ionique  $I_{ion}$  (équation 4) passant à travers une population de canaux ioniques est de la forme :

$$(5) \quad I_{ion} = G_{ion} a^p b^q (V_m - E_{ion})$$

où  $G_{ion}$  est la conductance maximale (*i.e.* la conductance lorsque tous les canaux sont ouverts),  $a$  la variable d'activation (proportion de canaux activés),  $b$  la variable d'inactivation (proportion de canaux inactivés),  $E_{ion}$  est le potentiel de Nernst de l'ion considéré et  $V_m$  le potentiel de membrane de la cellule.

Les variations de  $a$  et  $b$  (équation 5) en fonction du temps et du potentiel de membrane sont régies par les équations différentielles suivantes :

$$(6) \quad \frac{dx}{dt} = \alpha_x(1-x) - \beta_x x; \quad x = a, b$$

où  $\alpha_x$  et  $\beta_x$  sont les taux d'ouverture et de fermeture de la variable d'(in)activation  $x$ . Cette équation établie simplement que les portes d'activation qui sont fermées

$(1 - x)$ , s'ouvrent avec au taux  $\alpha_x$ , et que les portes d'activation qui sont ouvertes  $x$ , se ferment avec un taux  $\beta_x$ . Par un simple changement de variable  $x_\infty = \alpha_x/(\alpha_x + \beta_x)$  et  $\tau_x = 1/(\alpha_x + \beta_x)$ , l'équation 6 devient :

$$(7) \quad \frac{dx}{dt} = \frac{x_\infty - x}{\tau_x}; x = a, b$$

où  $x_\infty$  est la valeur asymptotique de la variable d'(in)activation et  $\tau_x$  est la constante de temps de l'équation. La solution de l'équation 7, en réponse à un échelon de tension appliqué à  $t = 0$ , est

$$(8) \quad x = x_\infty - (x_\infty - x_0) \exp\left(-\frac{t}{\tau_x}\right); x = a, b$$

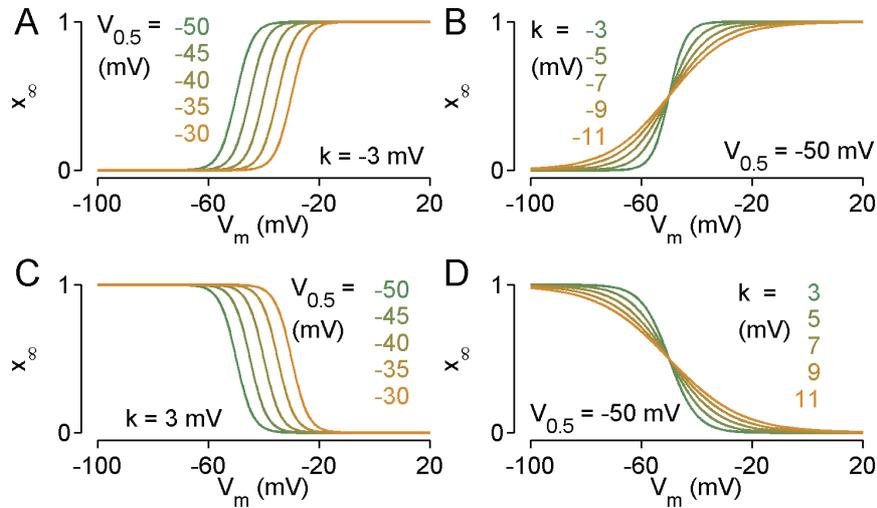
avec  $x_0$  la valeur de la variable  $x$  avant le saut de tension et  $x_\infty$  la valeur asymptotique de la variable quand  $t \gg \tau_x$ . Par substitution de la valeur de  $a$  et  $b$  dans l'équation (5), on obtient les variations temporelles du courant ionique

$$(9) \quad I_{ion} = G_{ion} \left( a_\infty - (a_\infty - a_0) \exp\left(-\frac{t}{\tau_a}\right) \right)^p \times \left( b_\infty - (b_\infty - b_0) \exp\left(-\frac{t}{\tau_b}\right) \right)^q (V_m - E_{ion})$$

Cette équation constitue la base du travail d'identification, elle permet la reconstruction des courants ioniques quelles que soient leurs caractéristiques (nombres de portes d'activation, inactivés ou non, entrants ou sortants) et leurs protocoles de stimulation ou leurs méthode d'identification.

#### 2.4.1.2.2 Modèles des courbes caractéristiques

Si  $G_{ion}$ ,  $E_{ion}$  et les 4 fonctions dépendantes du voltage  $a(V_m)$ ,  $b(V_m)$ ,  $\tau_a(V_m)$  et  $\tau_b(V_m)$  sont connues, la forme du courant  $I_{ion}$  est parfaitement déterminée. A l'inverse, si l'expérimentateur dispose des courants  $I_{ion}$  mesurés par la technique du patch-clamp en configuration potentiel imposé, il peut en utilisant un algorithme



**Figure 13, Influence des paramètres du modèle sur la forme de l'activation et de l'inactivation.** **A**  $V_{0.5}$  varie de -50 (en vert) à -30 mV (en orange),  $k$  est fixé à -3 mV **B**  $V_{0.5}$  est fixé à -50 mV,  $k$  varie de -3 (en vert) à -11 mV (en orange) **C**  $V_{0.5}$  varie de -50 mV (en vert) à -30 (en orange)  $k$  est fixé à 3 mV **D**  $V_{0.5}$  est fixé à -50 mV,  $k$  varie de 3 mV (en vert) à 11 (en orange).

d'ajustement, identifier  $G_{ion}$ ,  $E_{ion}$  et les paramètres des 4 fonctions  $a(V_m)$ ,  $b(V_m)$ ,  $\tau_a(V_m)$  et  $\tau_b(V_m)$ . Cette procédure d'identification est capitale en modélisation et repose sur i) le choix *a priori* du modèle des courbes caractéristiques utilisées pour décrire l'évolution des variables  $a$ ,  $b$ ,  $\tau_a$  et  $\tau_b$  en fonction du potentiel de membrane  $V_m$ , ii) le choix de l'algorithme d'identification.

#### Modèles d'activation et d'inactivation

Les courbes caractéristiques d'activation et inactivation sont généralement modélisées par une fonction sigmoïde à deux paramètres :

$$(10) \quad x_{\infty} = \left( 1 + \exp\left(\frac{-(V_m - V_{0.5})}{k}\right) \right)^{-1}, x = a, b$$

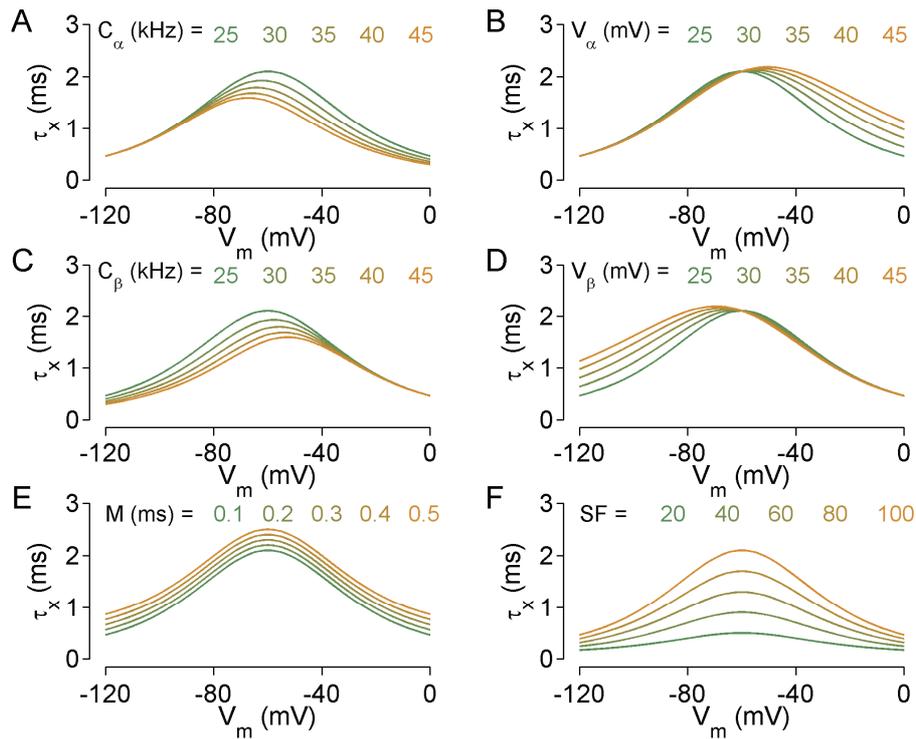
avec  $V_{0.5}$  est le potentiel de demi-(in)activation c'est-à-dire le potentiel qui correspond à  $x_{\infty} = 0.5$  et  $k$  est le facteur de pente qui détermine la raideur de la sigmoïde. L'influence de ces paramètres sur la courbe est illustrée dans la **Figure 13**.

### Modèles de cinétique

Les courbes caractéristiques des cinétiques d'activation et inactivation sont généralement modélisées par une courbe en cloche symétrique ou pas. Le modèle le plus simple de courbe symétrique est celui proposé par (Izhikevich 2003). Il s'agit d'une gaussienne à 4 paramètres

$$(11) \quad \tau_x = C_{base} + C_{amp} \exp(-(V_{max} - V_m)^2 / \sigma^2)$$

où  $V_{max}$  est le potentiel pour lequel la constante de temps est maximale,  $\sigma$  détermine la largeur de la courbe,  $C_{amp}$  fixe l'amplitude et  $C_{base}$  fixe la valeur de la composante continue.



**Figure 14, Influence des paramètres du modèle sur la forme de la cinétique.** Pour tous ces graphes  $C_\alpha = C_\beta = 25$  (kHz),  $V_\beta = V_\alpha = 25$  mV,  $SF = 100$ ,  $M = 0.1$  sauf pour le paramètre testé dont la valeur est indiquée en haut. La couleur de tracé des courbes correspond à la valeur affichée du paramètre variable.

Un modèle asymétrique plus élaboré à deux composantes exponentielles et 6 paramètres (Mathews, Jercog et al. 2010) est aussi utilisé, notamment dans des modèles de neurones de la voie auditive (Rothman and Manis 2003; Rothman and Manis 2003; Rothman and Manis 2003; McGinley, Liberman et al. 2012).

$$(12) \quad \tau_x = M + SF \cdot \left( C_\alpha \exp((Vm + 60)/V_\alpha) + C_\beta \exp(-(Vm + 60)/V_\beta) \right)^{-1}$$

où  $M$  est une composante continue et  $SF$  est un facteur d'échelle. Pour chaque composante exponentielle  $C_\alpha$  et  $C_\beta$  déterminent l'amplitude et  $V_\alpha$  et  $V_\beta$  la raideur (**Figure 14**). Ce modèle est plus riche car il compte 6 paramètres au lieu de 4 pour le modèle symétrique mais est aussi plus délicat à identifier sur des données expérimentales notamment lorsque le potentiel se situe au dessous du potentiel de repos. Il faut aussi noter que le modèle symétrique est un cas particulier du modèle asymétrique lorsque  $C_\alpha = C_\beta$  et  $V_\alpha = V_\beta$ . Le modèle à 6 paramètres est celui qui a été retenu dans cette étude.

#### 2.4.2 Méthode d'identification des paramètres

Les méthodes d'identifications ont pour but d'estimer la valeur des paramètres des courbes caractéristiques (courbes d'(in)activation et cinétiques d'(in)activation) et la valeur des conductances maximales. Elles sont appliquées à des courants isolés pharmacologiquement (**Table 2**) et évoqués par des échelons de tensions. Ces méthodes se divisent en 2 groupes. La première approche consiste à identifier les paramètres séparément ce qui vaut à cette approche d'être appelée la « *méthode disjointe* ». La seconde approche identifie les courbes d'(in)activation et les cinétiques d'(in)activation conjointement en respect de l'équation 9. Cette approche est appelée « *méthode trace entière* ».

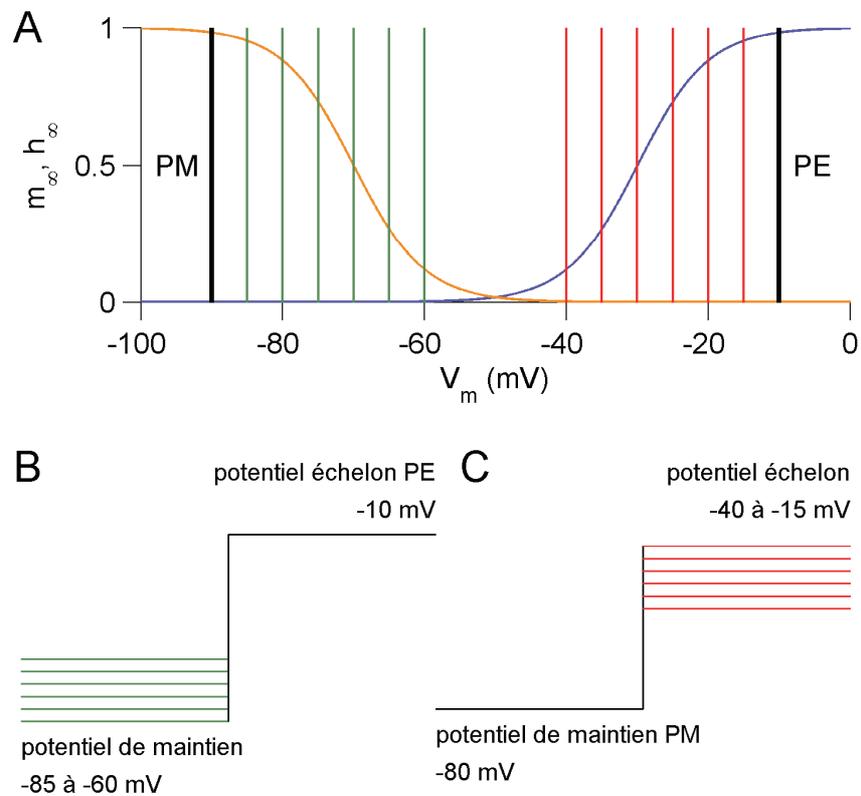
### 2.4.2.1 Méthode disjointe

Cette méthode s'applique aux courants obtenus en réponse à deux protocoles standards de potentiels imposés (**Figure 15**). Le premier protocole consiste en une hyperpolarisation de la cellule appelée potentiel de maintien, suivie d'un échelon de potentiel d'amplitude graduellement croissante imposé à la cellule pour parcourir la plage de variation des courbes caractéristiques, et d'un retour du potentiel imposé à sa valeur de départ (**Figure 15-B**). Le potentiel de maintien est généralement choisi suffisamment bas pour que toutes les variables d'inactivation soient égales à 1 ( $h_0 = 1$ ), et que toutes les variables d'activation soient nulles ( $m_0 = 0$ ). La durée du potentiel de maintien est suffisamment longue pour permettre aux variables d'activation d'atteindre leur régime permanent. La cellule est alors bloquée au potentiel d'échelon jusqu'à ce que sa réponse atteigne un équilibre.

Le second protocole consiste à imposer un potentiel de maintien variable suivi d'un potentiel échelon suffisamment haut pour que toutes les variables d'activation soient maximales ( $m_\infty = 1$ ), et que toutes les variables d'inactivation soient nulles ( $h_\infty = 0$ ). Le premier protocole permet de déterminer la courbe d'activation et les cinétiques d'activation et d'inactivation, le second protocole permet d'identifier les paramètres de la courbe d'inactivation (**Figure 15-C**).

#### 2.4.2.1.1 Courbe d'activation et conductance maximale

Les courants obtenus avec le premier protocole de potentiels imposés sont divisés par le facteur  $(V_m - E_{ion})$  pour obtenir les conductances. Ensuite, le pic de ces conductances  $g_{peak}(V)$ , est considéré comme étant le produit de la conductance maximale  $G_{ion}$  avec la valeur asymptotique de la variable d'activation  $m_\infty(V_m)^p$ . Une courbe de Boltzmann est utilisée comme une approximation de la courbe d'activation



**Figure 15, Protocoles permettant l'identification des paramètres des courants ioniques.** **A.** Courbes d'activation en bleu, d'inactivation en orange, les lignes vertes et rouges représentent les potentiels tests nécessaires à l'identification des valeurs de ces courbes. **B.** Protocole d'inactivation, le potentiel de maintien (en vert) parcourt la plage d'inactivation, le potentiel échelon est fixé à une valeur PE pour laquelle l'activation est égale à 1 et l'inactivation à 0. **C** Protocole d'activation, le potentiel de maintien PM est fixé à une valeur pour laquelle l'activation est égale à 0 et l'inactivation à 1, le potentiel échelon (en rouge) parcourt la plage d'activation.

et les pics de conductances sont exprimés en fonction du potentiel de dépolarisation et ajustés avec l'équation suivante

$$(13) \quad g_{peak}(V) = G_{ion}(1 + \exp(V_m - V_{0.5})/k)^{-p}$$

où  $G_{ion}$ , est la conductance maximale et  $V_{0.5}$  et  $k$  sont le potentiel de demie activation et la pente de la courbe d'activation.

#### 2.4.2.1.2 Courbe d'inactivation

Les courants obtenus avec le deuxième protocole sont alors analysés pour obtenir la courbe d'inactivation. Dès lors que le potentiel échelon est le même pour chacun des courants obtenus, le facteur  $(V_m - E_{ion})$  est le même pour tous les courants, donc comme seules les tailles relatives des courants sont importantes, il n'est pas nécessaire de diviser les courants pour obtenir les conductances. Le pic de chaque courant est mesuré puis divisé par le pic maximal mesuré (qui est celui suscitée par le potentiel de maintien le plus hyperpolarisé). L'amplitude des pics normalisés est exprimée en fonction du potentiel de maintien puis ajustés avec la courbe de Boltzmann suivante

$$(14) \quad I_{peak}(V)/max(I_{peak}) = 1 + exp(V_m - V_{0.5})/k$$

où  $V_{0.5}$  et  $k$  sont le potentiel de demie inactivation et la pente de la courbe d'inactivation.

#### 2.4.2.1.3 Constantes de temps

Les cinétiques d'activation et d'inactivation sont déterminées à partir des courants obtenus suite à l'application du premier protocole de potentiel imposé. Les données obtenues à partir du deuxième protocole peuvent être utilisées mais sur la valeur unique de l'échelon de potentiel imposé. Pour les courants inactivés (courant sodique, calcique, ou potassique inactivé par exemple), la courbe est séparée en deux parties, de part et d'autre du pic. Les valeurs les plus proches du pic peuvent ne pas être prises en compte. Si le temps de montée de la conductance n'est pas trop rapide (voir *contamination* partie suivante) la partie montante de la courbe est ajustée avec l'équation suivante

$$(15) \quad G_{ion}(1 - exp(-t/\tau_m))^p$$

où  $\tau_m$  (temps de montée) est la constante de temps d'activation. La partie descendante de la courbe est ajustée par une fonction de la forme

$$(16) \quad G_{ion} \exp(-t/\tau_d)$$

où  $\tau_d$  (temps de descente) est la constante de temps d'inactivation.

Pour les courants non-inactivés (courants  $I_h$  ou potassiques rectifiés retardés par exemple), la procédure est plus simple. Le courant est simplement ajusté par l'équation 15.

#### 2.4.2.2 Points faibles de la méthode disjointe

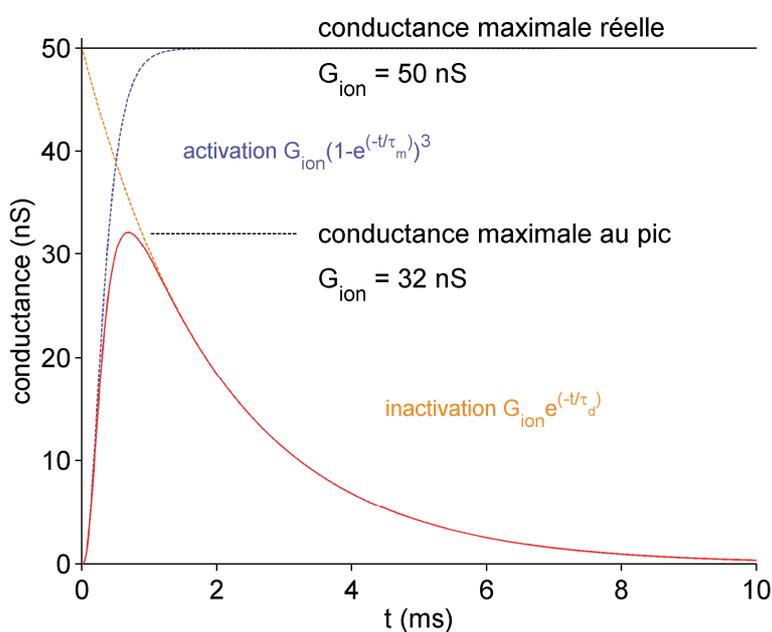
La méthode disjointe bien qu'efficace dans le cas des courants non-inactivés (courants  $I_h$  ou potassiques rectifiés retardés par exemple), présente de nombreux inconvénients dans le cas des courants inactivés (courants sodiques, calciques ou potassiques inactivés par exemple). Pour ces courants, la conductance maximale déduite de la valeur du pic est systématiquement sous-estimée (Willms, Baro et al. 1999). Cette sous-estimation est d'autant plus grande que le rapport de constantes de temps sera petit : pour  $\tau_d/\tau_m = 100$ , l'erreur est de l'ordre de 5%, pour  $\tau_d/\tau_m = 25$  (une situation courante dans le cas des courants sodiques) l'erreur dépasse 20% (illustration **Figure 16**).

Par voie de conséquence, l'estimation de la courbe d'activation qui repose sur l'estimation de la conductance maximale sera également entachée d'une erreur. La méthode disjointe peut aussi conduire à une erreur d'estimation importante de la courbe d'inactivation lorsque les durées du potentiel de maintien et du potentiel échelon ne sont pas assez longues pour annuler respectivement la variable d'activation initiale ( $m_0$ ) et la valeur d'inactivation asymptotique ( $h_\infty$ ).

L'estimation de la cinétique d'activation ( $\tau_m$ ) pour des courants rapidement inactivés est souvent délicate en raison de la présence d'une contamination des

premières millisecondes d'enregistrement due à la boucle électronique de compensation des courants capacitifs et des courants de fuite par le logiciel du poste de patch-clamp. Cette *contamination* gêne terriblement l'identification de ( $\tau_m$ ) à l'aide du modèle d'ajustement (**Equation 15**) surtout lorsque ( $\tau_m$ ) est du même l'ordre de grandeur que la durée de la contamination.

L'estimation de cinétique d'inactivation ( $\tau_d$ ) est peut affectée par la contamination dans la mesure où cette estimation se fait dans la phase d'inactivation du courant. En revanche, la difficulté pratique rencontrée par les expérimentateurs réside dans le choix de la fenêtre temporelle sur laquelle le modèle d'ajustement (équation 18) doit être appliqué. Le choix de cette fenêtre peut modifier la valeur de ( $\tau_d$ ) de quelques dixièmes de ms (Willms, Baro et al. 1999).



**Figure 16, Sous estimation de la conductance maximale par la mesure du pic.** Pour des cinétiques d'activation  $\tau_m$  de 0.2 ms et d'inactivation  $\tau_d$  de 2 ms, l'erreur d'estimation de la conductance maximale par le pic est de 30%.

### 2.4.2.3 Méthode trace entière

La méthode d'identification *trace entière* proposé initialement par (Willms, Baro et al. 1999) dans le contexte de la modélisation des courants sodiques est un algorithme itératif qui estime simultanément toutes les courbes caractéristiques ainsi que la conductance maximale et le potentiel de renversement de la conductance dépendante du potentiel. Le principe de base est extrêmement simple et intuitif. Cet algorithme va, à partir d'une initialisation arbitraire des paramètres du modèle, simulés des courants suivant un modèle de type HH, comparer ces courants aux courants cibles, puis corriger la valeur des paramètres de façon itérative dans le but de minimiser l'erreur entre courants simulés et courants cible. Lorsque l'erreur devient inférieure à une valeur critique, l'algorithme s'arrête et les paramètres du modèle à ce moment sont considérés comme étant les paramètres de la conductance étudiée. Cet algorithme tire sa robustesse du fait qu'il s'applique à plusieurs traces simultanément évoquées par des sauts de potentiels. En plus d'être beaucoup plus robuste que la méthode disjointe, cet algorithme évite les nombreuses manipulations et les choix empiriques inhérents à la méthode disjointe. Et bien que l'erreur liée à la *contamination* soit toujours présente, celle liée à la proximité du pic ne l'est plus.

La méthode *Trace entière* ajuste chaque trace d'une expérience en configuration potentiel imposé avec l'équation suivante

$$(17) \quad I_{ion} = G_{ion} \left( m_{\infty}(V_s) + \left( m_{\infty}(V_{ps}) - m_{\infty}(V_s) \right) \exp(-t/\tau_m(V_s)) \right)^p \times \left( h_{\infty}(V_s) + \left( h_{\infty}(V_{ps}) - h_{\infty}(V_s) \right) \exp(-t/\tau_h(V_s)) \right) \times (V_s - E_{ion})$$

où  $m_{\infty}$  et  $h_{\infty}$  sont les courbes d'activation et d'inactivation,  $G_{ion}$  est la conductance maximale,  $\tau_m$  et  $\tau_h$  sont les cinétiques d'activation et d'inactivation,  $V_{ps}$  et  $V_s$  sont les

potentiels de pré-saut (potentiel de maintien) et potentiel de saut (potentiel d'échelon), respectivement (**Figure 15**). A noter, dans cette équation  $m_0$  et  $h_0$  ont été remplacés par  $m_\infty$  et  $h_\infty$  en fin de potentiel de maintien.

## 3 Matériel et méthodes

Pour modéliser la forme des potentiels d'action des neurones auditifs primaires, nous avons utilisé un modèle déterministe de type Hodgkin et Huxley. Le nombre de branches ainsi que les paramètres de chaque branche du modèle ont été identifiés sur des données expérimentales acquises *in vitro* (algorithme d'identification conçu spécialement pour ces données à partir de la méthode *trace entière*), à température ambiante, sur des corps cellulaires de neurones ganglionnaires de type I par la technique du patch-clamp. Les potentiels d'action générés par le modèle ont ensuite été comparés objectivement aux potentiels d'actions extracellulaires enregistrés *in vivo* à température physiologique, par la technique de l'enregistrement unitaire.

### 3.1 Enregistrements de patch-clamp

Les expériences de patch clamp ont été réalisées par Joseph Santos-Sacchi (Santos-Sacchi 1993) pour les courants  $K^+$  (bloqueurs : tetraethylammonium et baryum) et pour les courants  $Na^+$  (bloqueur : tetrodotoxin), et par Chu Chen (Chen 1997) pour les courants activés par hyperpolarisation ( $I_h$ ). Les corps cellulaires des neurones auditifs primaires de cochon d'Indes ont été isolés mécaniquement et démyélinisés en aigu. Les données ont été enregistrées en configuration potentiel imposé et courant imposé dans des conditions similaires à l'environnement intracellulaire et extracellulaire normal. Toutes les expériences ont été faites à température ambiante ( $\sim 23^\circ C$ ). La résistance de fuite a été estimée à  $R=500 \text{ M}\Omega$  (soit  $G_{leak}=2 \text{ nS}$ ) dans la publication originale et ses effets pris en compte lors de l'estimation des paramètres en ajustant la dépolarisation imposée par la pipette de patch. La capacitance membranaire des cellules a été mesurée à  $10.1 \pm 1.7 \text{ pF}$ . Le

couple RC impose une constante de temps membranaire de 5 ms tout à fait compatible avec l'ordre de grandeur d'une constante de temps cellulaire classique (Santos-Sacchi 1993). A noter que Joseph Santos-Sacchi nous a envoyé l'ensemble des données de patch-clamp qu'il a enregistrées au cours des expériences qui ont conduit à la publication d'un article dans la revue 'Journal of Neurosciences' en 1993.

### 3.2 Enregistrements unitaires

Les enregistrements des potentiels d'action extracellulaires ont été effectués par l'équipe 2 de l'Institut des Neurosciences de Montpellier 'Surdités, Acouphènes et thérapies' dirigée par Jean-Luc Puel. Brièvement, le nerf cochléaire a été exposé par une approche postérieure, les potentiels d'action extracellulaires issus des fibres du nerf auditif ont été enregistrés avec une micro électrode de verre emplies de NaCl. L'activité des fibres a été provoquée par un bruit blanc de 80 dB SPL et l'électrode recherche la fibre par mouvement induit avec un micromanipulateur électrique. Après amplification et filtrage entre 200 Hz et 5 kHz, les potentiels d'action extracellulaires sont ensuite détectés par décomposition suivant un banc d'ondelettes continues et seuillage (Bourien, Ruel et al. 2007). Chaque neurone a été caractérisée par sa fréquence caractéristique (la fréquence à laquelle son seuil d'activation est le plus bas), son seuil d'activation exprimé en dB SPL et son activité spontanée exprimée en potentiels d'action par seconde.

### 3.3 Modèle de neurone

Le modèle de neurone utilisé dans cette étude est composé de 8 branches parallèles dans lesquelles circulent 8 courants (voir équation 21) avec *i*) un courant capacitif  $I_C$ , *ii*) un courant de fuite  $I_{leak}$ , *iii*) un courant sodique  $I_{Na}$ , *iv*) un courant

potassique non-inactivé à bas seuil  $I_{KL}$ ,  $v$ ) un courant potassique non-inactivé à haut seuil  $I_{KH}$ ,  $vi$ ) un courant activé par hyperpolarisation rapide  $I_{hf}$ , et  $vii$ ) un courant activé par hyperpolarisation lent  $I_{hs}$ , et une source externe de courant.

Le potentiel de membrane  $V_m$  est décrit par l'équation différentielle suivante

$$(19) \quad C_m \frac{dV_m}{dt} = I_{Na} + I_{KH} + I_{KL} + I_{hf} + I_{hs} + I_{leak} + I_{ext},$$

avec :  $I_{Na} = G_{Na}m^3h(V_m - E_{Na})$ ,  $I_{KH} = G_{KH}n^4(V_m - E_{KH})$ ,  $I_{KL} = G_{KL}w^4(V_m - E_{KL})$ ,  $I_{hf} = G_{hf}f(V_m - E_{hf})$ ,  $I_{hs} = G_{hs}s(V_m - E_{hs})$ , and  $I_{leak} = G_{leak}(V_m - E_{leak})$ .  $G_x$  et  $E_x$  ( $x = Na, KH, KL, hf, hs$ , or  $leak$ ) font référence à la conductance maximale et au potentiel de renversement. Les variables  $m, n, w, f$  et  $s$  sont des variables d'activation et  $h$  est une variable d'inactivation. Les détails de ces équations sont donnés dans la section « Modélisation ».

Les paramètres des branches correspondants aux courants  $I_{Na}$ ,  $I_{KH}$ ,  $I_{KL}$  ont été ajustés aux courants sodiques et potassiques (Santos-Sacchi 1993) et les paramètres de  $I_{hf}$  and  $I_{hs}$  ont été ajustés aux courants cationiques activés par hyperpolarisation (Chen 1997). Pour toutes les simulations concernant le corps cellulaire,  $C_m$ ,  $G_{leak}$ , et,  $E_{leak}$  ont été fixés à 10 pF, 2 nS, et -67 mV, respectivement (Santos-Sacchi 1993). Excepté dans les simulations en courant imposé,  $I_{ext} = 0$ . Toutes les équations différentielles ont été résolues sous Matlab® à l'aide de l'algorithme de Runge-Kutta explicite pour une fréquence d'échantillonnage de 200 kHz.

### 3.4 Identification des paramètres

L'identification des paramètres du modèle a été faite sur les expériences de potentiel imposé avec un algorithme construit à partir de la *Méthode Trace entière*, proposée par Willms (Willms, Baro et al. 1999) et réécrit et amélioré sous Matlab®

par mes soins pour une plus grande souplesse d'utilisation. Le programme utilise un algorithme de descente du gradient pour minimiser l'erreur de reconstruction. Le nombre d'itérations maximum a été fixé à 1500. Le vecteur initial de paramètre est choisi pour chaque essai dans des intervalles physiologiquement pertinent (Rothman and Manis 2003; Rothman and Manis 2003; Rothman and Manis 2003) avec une zone de recherche de  $\pm 50\%$  autour de la valeur initiale (**Table 4**). Cette identification a été répétée 50 fois, avec 50 vecteurs initiaux différents, pour réduire le risque de faire converger l'algorithme vers un minimum local. Le jeu de paramètres retenu a été calculé sur les 20 essais qui offraient la meilleure qualité d'ajustement (coefficient de détermination  $r^2$  proche de 1) parmi les 50 essais de départ.

L'erreur de reconstruction a été calculée en moyennant les écarts entre courants cibles et courants reconstruits. Elle a été calculée de la façon suivante

$$\varepsilon = \frac{\left| \int_{-100}^{20} f(V_m) - \hat{f}(V_m) dV_m \right|}{\int_{-100}^{20} f(V_m) dV_m} \times 100$$

où  $V_m$  est le potentiel de membrane,  $f(V_m)$  est la courbe cible et  $\hat{f}(V_m)$  la courbe reconstruite par l'algorithme. L'erreur relative sur la conductance maximale a été calculée de la même façon avec

$$\varepsilon = \frac{|G_{ion} - \hat{G}_{ion}|}{G_{ion}} \times 100$$

où  $G_{ion}$  est la valeur cible et  $\hat{G}_{ion}$  la valeur identifiée.

### 3.5 Reconstruction des potentiels d'action extracellulaires

Dans la cas d'un neurone bipolaire, les potentiels d'actions extracellulaires sont en première approximation proportionnels à l'opposée de la dérivée du potentiel d'action intracellulaire (Bean 2007).

$$(20) \quad V_{ext} = -k \times dV_m/dt$$

Où  $V_{ext}$  est le potentiel extracellulaire et  $k$  une variable d'ajustement.

La dérivée du potentiel de membrane du modèle a donc été calculée numériquement puis filtrée entre 200 Hz et 5 kHz, pour que les potentiels d'actions extracellulaires reconstruits aient subi les mêmes traitements que les données expérimentales.

**Table 4, Conditions initiales de l'algorithme d'identification.** Les paramètres initiaux ont été choisis autour des valeurs identifiées dans (Santos-Sacchi, 1993) pour les conductances maximales et du modèle de neurone du noyau cochléaire (Rothman & Manis, 2003). L'identification des paramètres était permise autour de ces valeurs plus ou moins 50 % excepté pour les conductances maximales qui pouvaient varier de 10 à 500 nS pour les canaux sodiques, de 10 à 200 nS pour les canaux potassiques et de 1 à 20 nS pour les canaux activés par hyperpolarisation.

	$G_{max}$ (nS)	variable $x$	$x_{\infty}$		$\tau_x$					
			$V_{0.5}$ (mV)	$k$ (mV)	$C_{\alpha}$ (ms <sup>-1</sup> )	$V_{\alpha}$ (mV)	$C_{\beta}$ (ms <sup>-1</sup> )	$V_{\beta}$ (mV)	$SF$	$M$ (ms)
$I_{KH}$	50	$n$	-30	-6	10	20	20	45	100	0.5
$I_{KL}$	50	$w$	-50	-6	10	20	20	25	100	1.5
$I_{Na}$	50	$m$	-30	-6	10	20	35	25	10	0.1
		$h$	-60	6	10	20	15	25	100	0.5
$I_{hs}$	10	$s$	-90	6	40	30	30	40	10 <sup>4</sup>	5
$I_{hf}$	10	$f$	-110	6	40	30	30	40	10 <sup>5</sup>	5

### 3.6 Effet de la température

La variation de la température entre les expériences pratiquées *in vitro* à 23 °C et les expériences *in vivo* pratiquées à 37 °C a été introduite dans le modèle à l'aide du paramètre d'ajustement noté classiquement  $Q_{10}$  et qui détermine le coefficient  $c$  par lequel il faut diviser les cinétiques pour modéliser une élévation de 10°C. Pour la conductance sodique ainsi que pour les deux conductances potassiques, nous avons choisi  $Q_{10} = 3$  (Hodgkin and Huxley 1952; Schwarz and Eikhof 1987; Cartee 2000; Cao and Oertel 2005).

Pour calculer le coefficient diviseur des cinétiques  $c$ , il faut résoudre l'équation suivante

$$(21) \quad c = Q_{10}^{(T-T_0)/10}$$

avec  $T_0$  la température à laquelle l'expérience a été faite,  $T$  la température à laquelle les courants modélisés sont reconstruits.

### 3.7 Statistiques

Les moyennes sont exprimées  $\pm$  l'erreur standard (ou  $\pm$  écart type si précisé). Les échantillons appariés ont été comparés avec le test de student. Le test du coefficient de corrélation a été utilisé pour évaluer l'existence de corrélation entre deux variables.

## 4 Résultats

Afin de proposer un modèle simple de l'activité des neurones auditifs primaires, nous avons considéré que les canaux ioniques présents sur les nœuds de Ranvier et sur le corps cellulaire d'un neurone auditif primaire sont identiques mais que leurs densités varient. Le processus de modélisation a donc été mené en 3 étapes : i) modélisation des conductances dépendante du potentiel en utilisant un algorithme d'identification ii) construction d'un modèle de nœud de Ranvier et iii) comparaison de la réponse du modèle avec l'activité électrique *in vivo* des neurones du nerf auditif. Ces étapes sont décrites en détail dans ce chapitre avec en préambule une évaluation des performances de l'algorithme d'identification des conductances.

### 4.1 Algorithme d'identification

Pour une plus grande souplesse d'utilisation, la méthode d'identification proposée initialement par Willms (Willms, Baro et al. 1999), a été implémentée sous Matlab®. L'algorithme a été modifié afin d'être appliqué de façon systématique à des courants sodiques et potassiques (à 1 ou 2 composantes). Les sections suivantes présentent ses performances en termes de convergence et de robustesse sur des données simulées. Les courants cibles ont été simulés à l'aide d'un modèle de type Hodgkin-Huxley dont les équations et les paramètres sont donnés dans la **Table 5**. Les paramètres du courant sodique ont été choisis d'après les caractéristiques du courant sodique de type Nav1.6 mesuré dans les neurones à haute fréquence de décharge (amplitude < 5 nA, demi-activation = -30 mV, demie inactivation = -50 mV, cinétiques d'activation < 1 ms, d'inactivation < 10 ms, (Mercer, Chan et al. 2007)).

Les paramètres des courants potassiques ont été choisis d'après les caractéristiques de neurones à haute fréquence de décharge (amplitude < 5 nA, demi-activation à haut seuil = -30 mV, demie activation à bas seuil = -50 mV, cinétiques d'activation à haut seuil < 5 ms, cinétiques d'activation à bas seuil < 10 ms (Fernandez, Mehaffey et al. 2005)).

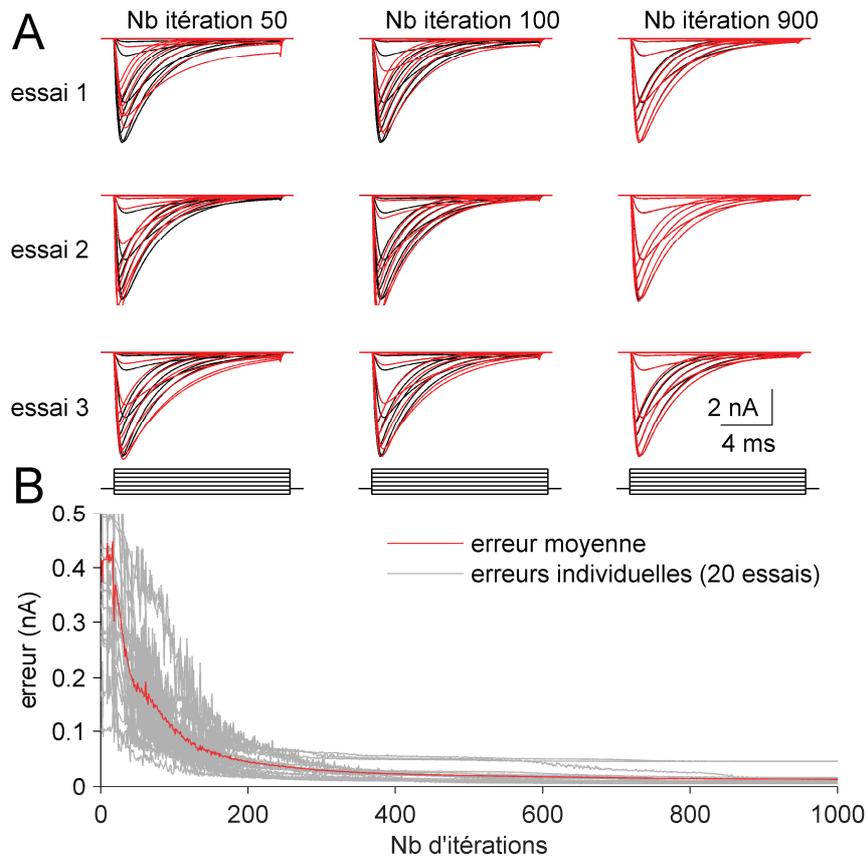
**Table 5. Paramètres du modèle de Hodgkin-Huxley utilisé pour les simulations.** Le potentiel de membrane  $V_m$  est décrit par l'équation :  $C_m \frac{dV_m}{dt} = I_{Na} + I_{KH} + I_{KL} + I_{leak} + I_{ext}$ , avec :  $I_{Na} = G_{Na} m^3 h (V_m - E_{Na})$ ,  $I_{KH} = G_{KH} n^4 (V_m - E_{KH})$ ,  $I_{KL} = G_{KL} w^4 (V_m - E_{KL})$ , et  $I_{leak} = G_{leak} (V_m - E_{leak})$ ,  $C_m = 10$  pF,  $G_{leak} = 2$  nS,  $G_x$  et  $E_x$  font référence à la conductance maximale et au potentiel de renversement. Les variables  $m, n, w$  sont des variables d'activation et  $h$  est une variable d'inactivation.

	$E_x$ (mV)	$G_x$ (nS)	variable $x$	$x_{\infty}$		$\tau_x$					
				$V_{0.5}$ (mV)	$k$ (mV)	$C_{\alpha}$ (ms <sup>-1</sup> )	$V_{\alpha}$ (mV)	$C_{\beta}$ (ms <sup>-1</sup> )	$V_{\beta}$ (mV)	$SF$	$M$ (ms)
$I_{KH}$	-85	50	$n$	-30	-5	15	25	35	30	100	0.1
$I_{KL}$	-85	40	$w$	-50	-5	15	25	35	30	100	1.5
$I_{Na}$	60	40	$m$	-30	-5	15	25	35	30	10	0.1
			$h$	-50	5	15	25	35	30	100	1.5

#### 4.1.1 Convergence et sensibilité aux conditions initiales

##### 4.1.1.1 Courant sodique

La **Figure 17-A** montre les courants sodiques cibles (en noir) évoqués en réponse à des sauts de potentiels dépolarisants. Sur cette même figure, les courants reconstruits par l'algorithme d'identification sont tracés en rouge pour 3 initialisations différentes (essais 1 à 3) lors des itérations 50, 100 et 900. Les valeurs initiales ont été choisies aléatoirement suivant une loi uniforme dans des intervalles centrés sur les valeurs indiquées dans la **Table 5** (dispersion de  $\pm 50\%$  autour de la valeur centrale). Malgré des initialisations très différentes, l'algorithme converge rapidement vers les courants cibles. Lorsque l'algorithme atteint l'itération n°200, l'erreur moyenne sur l'ensemble des traces devient inférieure à 100 pA (**Figure 17-B**).



**Figure 17, Convergence de l'algorithme d'identification *trace entière* appliqué à des courants sodiques. A.** Courants sodiques cibles (noir) et courants reconstruits (rouge) pour 3 initialisations différentes (essais 1, 2, 3) et pour l'itération 50, 100, 900 (protocole de stimulation dépolarisant, maintien -80 mV, échelons de -100 à 10 mV par pas de 10 mV). **B.** Erreur de reconstruction en fonction du nombre d'itérations de l'algorithme pour 20 simulations (traces grises). La courbe rouge représente la moyenne des 20 courbes grises. A noter que parmi les 20 simulations, 2 essais ne convergent pas vers zéro.

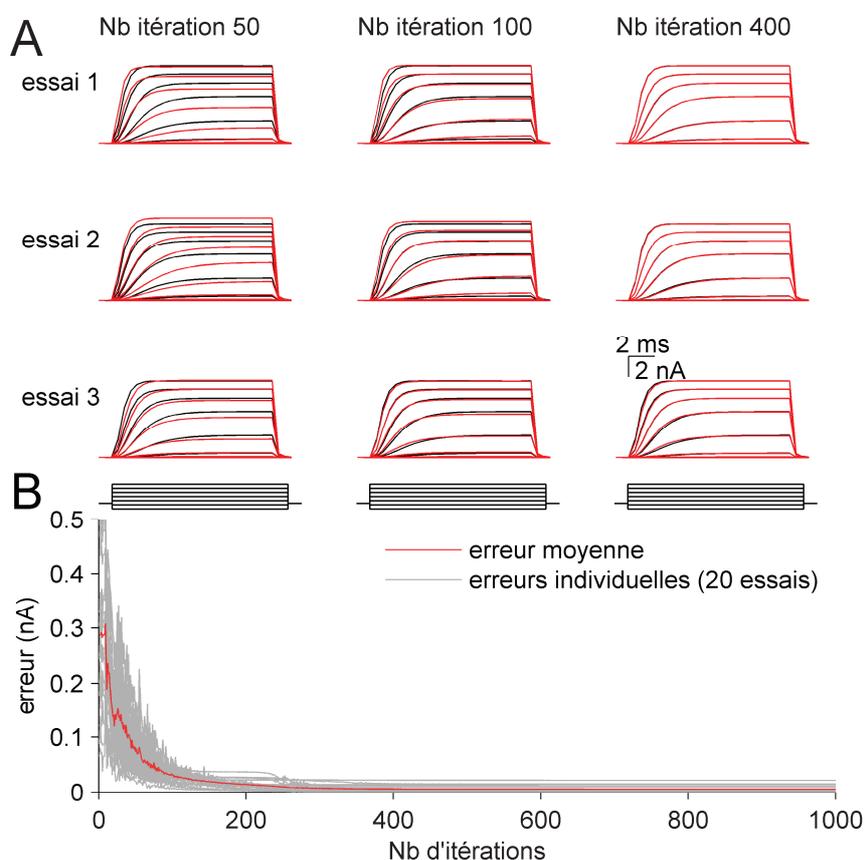
#### 4.1.1.2 Courant potassique à une composante

La **Figure 18-A** montre les courants potassiques à haut seuil cibles (en noir) en réponse à des sauts de potentiels dépolarisants. Sur cette même figure, les courants reconstruits par l'algorithme d'identification *trace entière* sont tracés en rouge pour 3 initialisations différentes (essais 1 à 3) lors de l'itération 50, 100 et 400. Les valeurs initiales ont été choisies aléatoirement suivant une loi uniforme dans des intervalles centrés sur les valeurs indiquées dans la **Table 5** (dispersion de  $\pm 50\%$

autour de la valeur centrale). Malgré des initialisations très différentes, l'algorithme converge rapidement vers les courants cibles. Dès l'itération n°100, l'erreur moyenne sur l'ensemble des traces devient inférieure à 100 pA (**Figure 18-B**).

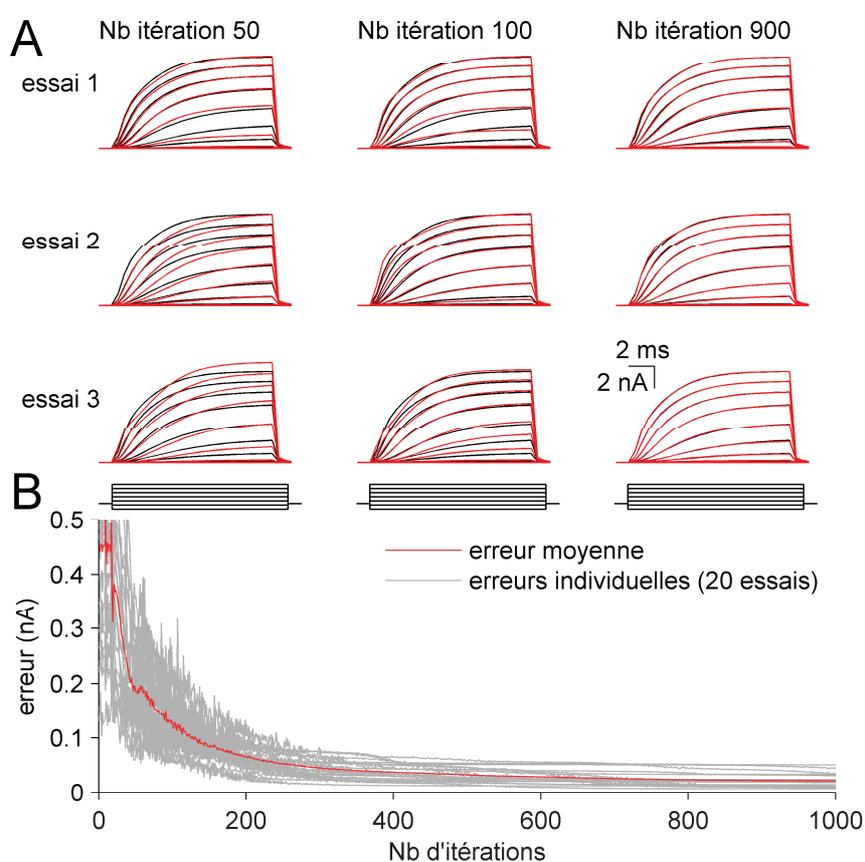
#### 4.1.1.3 Courant potassique à deux composantes

La **Figure 19-A** montre en noir les courants potassiques cibles évoqués par des sauts de potentiels dépolarisants. Sur cette même figure, les courants



**Figure 18, Convergence de l'algorithme d'identification *trace entière* appliqué à des courants potassiques à une composante. A.** Courants potassiques cibles (noir) et courants reconstruits (rouge) pour 3 initialisations différentes (essai 1, 2, 3) et pour l'itération 50, 100, 400 (protocole de stimulation dépolarisant, maintien -80 mV, échelons de -100 à 10 mV par pas de 10 mV). **B.** Erreur de reconstruction en fonction du nombre d'itérations de l'algorithme pour 20 simulations (traces grises). La courbe rouge représente la moyenne des 20 courbes grises.

reconstruits par l'algorithme d'identification *trace entière* sont tracés en rouge pour 3 initialisations différentes (essais 1 à 3) lors de l'itération 50, 100 et 900. De la même façon que précédemment, les valeurs initiales ont été choisies aléatoirement suivant une loi uniforme dans des intervalles centrés sur les valeurs fournies dans la **Table 5** (dispersion de  $\pm 50\%$  autour de la valeur centrale). Malgré des initialisations très différentes, l'algorithme converge rapidement vers les courants cibles. Lorsque



**Figure 19, Convergence de l'algorithme d'identification *trace entière* appliqué à un courant potassique à 2 composantes. A.** Courants potassiques cibles (noir) et courants reconstruits (rouge) pour 3 initialisations différentes (essai 1, 2,3) et pour l'itération 50, 100, 900 (protocole de stimulation dépolarisant, maintien -80 mV, échelons de -100 à 10 mV par pas de 10 mV). **B** Erreur de reconstruction en fonction du nombre d'itérations de l'algorithme pour 20 simulations (traces grises). La courbe rouge représente la moyenne des 20 courbes grises.

l'algorithme atteint l'itération n°250, l'erreur moyenne sur l'ensemble des traces devient inférieure à 100 pA (**Figure 19-B**).

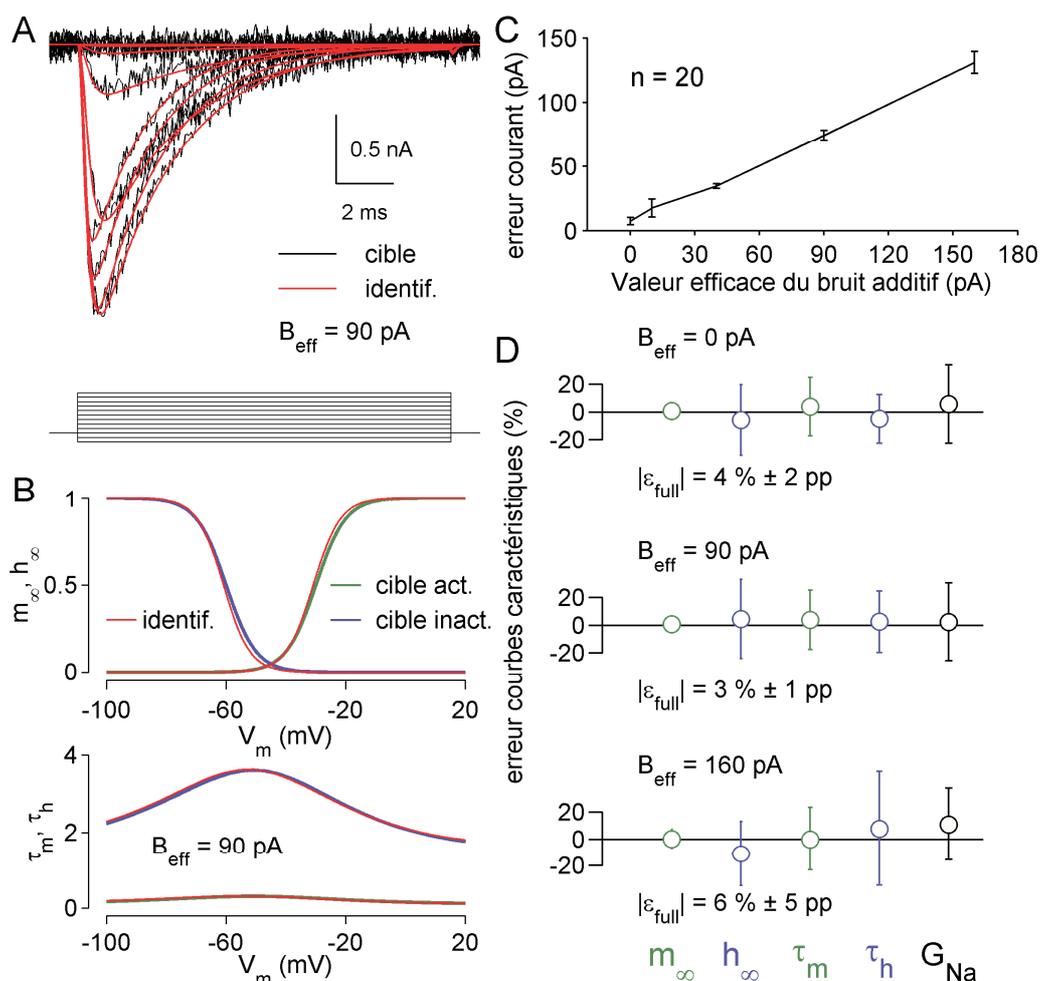
#### 4.1.2 Robustesse de l'algorithme d'identification

Pour évaluer la robustesse de l'algorithme, nous avons simulé des courants sodiques et des courants potassiques à deux composantes (suivant les équations et les paramètres donnés dans la **Table 5**) en leur ajoutant un bruit blanc gaussien centré de valeur efficace ( $B_{eff}$ ) croissante. Pour chaque situation, l'erreur moyenne de reconstruction a été calculée et les courbes caractéristiques identifiées par l'algorithme comparées deux à deux aux courbes cibles. L'initialisation de l'algorithme se faisait suivant la procédure décrite dans le matériel et méthode et utilisée dans les sections précédentes.

##### 4.1.2.1 Courant sodique

La **Figure 20-A** montre les courants sodiques (en noir) en réponse à des sauts de potentiels dépolarisants. Un bruit additif de 90 pA en valeur efficace a été ajouté à chacune des traces afin de se rapprocher des situations expérimentales. L'ordre de grandeur du bruit utilisé est similaire à celui observé sur les enregistrements en patch-clamp que nous avons analysés au cours de cette étude. Les courants reconstruits par notre algorithme d'identification sont tracés en rouge après 500 itérations. Les courbes caractéristiques cibles  $m_{\infty}$ ,  $h_{\infty}$ ,  $\tau_m$  et  $\tau_h$  et identifiées (en rouge) sont superposées dans la **Figure 20-B**.

L'erreur de reconstruction totale a été calculée en moyennant les écarts entre courants cibles et courants reconstruits. Cette erreur est de 80 pA pour un bruit additif de 90 pA (**Figure 20-C**).



**Figure 20, Robustesse de l'algorithme d'identification en présence d'un bruit de mesure.** **A** Courants sodiques cibles (en noir) et reconstruits (en rouge) pour un protocole dépolarisant classique, potentiel de maintien à -80 mV et potentiels échelon de -100 à 10 mV par pas de 10 mV, valeur efficace du bruit additif = 90 pA. **B** Courbes caractéristiques des courants cibles (activation : vert, inactivation : bleu) et reconstruits (en rouge). **C** Erreur de reconstruction des courants. L'erreur augmente de façon linéaire avec la valeur efficace du bruit additif (20 essais par niveau de bruit, 500 itérations). Elle augmente de 10 à 150 pA lorsque le bruit augmente de 0 à 160 pA. **D** Erreur d'identification des courbes caractéristiques. L'erreur croît de 4% à 6% lorsque le bruit additif augmente de 0 pA à 160 pA.

Les trois graphiques de la **Figure 20-D** représentent l'erreur relative commise sur les courbes caractéristiques  $m_{\infty}$ ,  $h_{\infty}$ ,  $\tau_m$  et  $\tau_n$  et la conductance maximale  $G_{Na}$  pour un niveau de bruit en valeur efficace variant de 0, 90 et 160 pA. Pour apprécier la robustesse de l'estimation, l'algorithme *trace entière* a été lancé 20 fois, avec 20 valeurs initiales différentes (aléatoirement choisies selon la procédure habituelle) et pour 500 itérations. Les résultats montrent que l'algorithme identifie correctement les courbes cibles et la conductance maximale avec moins de 6% d'erreur quelque soit la valeur efficace du bruit additif.

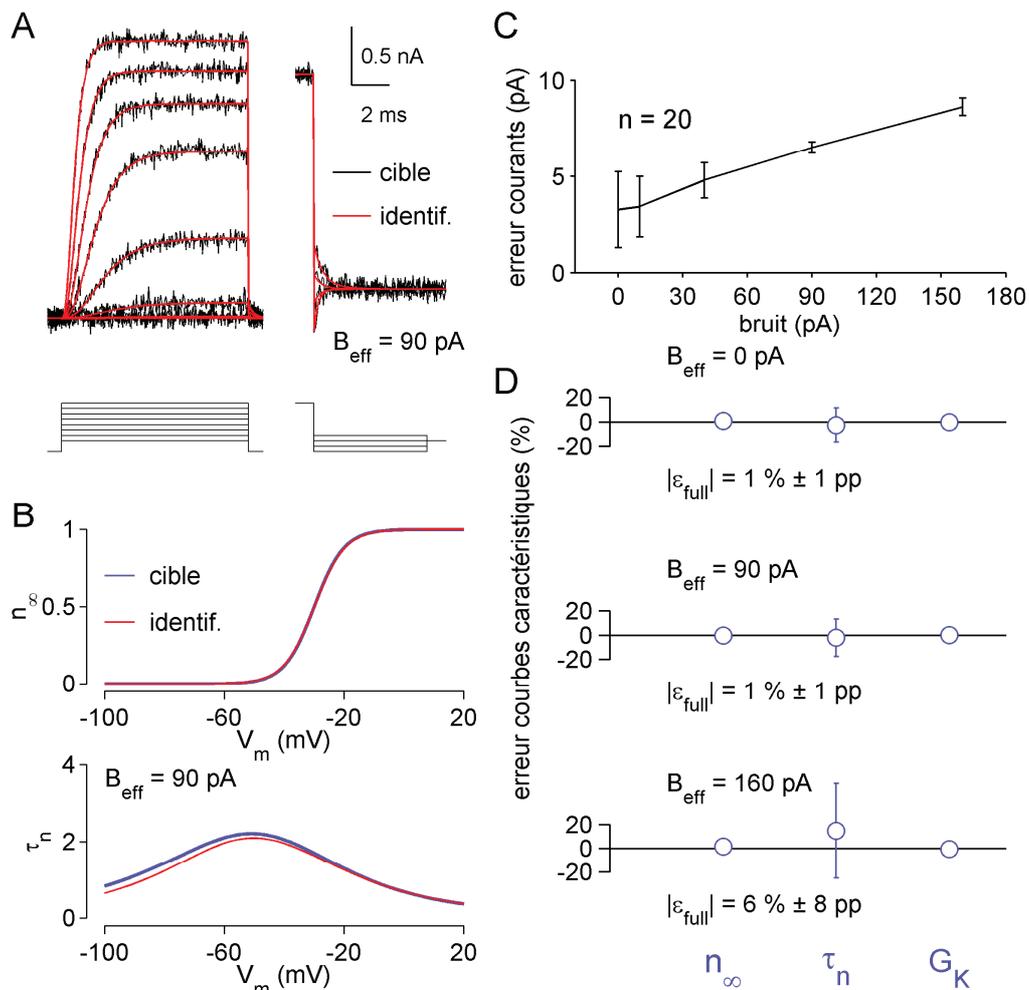
#### 4.1.2.2 Courant potassique à une composante

La **Figure 21-A** montre les courants potassiques à une composante (en noir) en réponse à des sauts de potentiels dépolarisants. Un bruit additif de 90 pA en valeur efficace a été ajouté à chacune des traces afin de se rapprocher des situations expérimentales. Les courants reconstruits par notre algorithme d'identification sont tracés en rouge après 500 itérations. Les courbes caractéristiques cibles  $n_{\infty}$  et  $\tau_n$  et identifiées (en rouge) sont superposées dans la **Figure 21-B**.

L'erreur de reconstruction totale a été calculée en moyennant les écarts entre courants cibles et courants reconstruits. Cette erreur est de 6 pA pour un bruit additif de 90 pA (**Figure 21-C**).

Les trois graphiques de la **Figure 21-D** représentent l'erreur relative commise sur les courbes caractéristiques ( $n_{\infty}$ ,  $w_{\infty}$ ,  $\tau_n$ ,  $\tau_w$ ) et la conductance maximale ( $G_{KH}$  et  $G_{KL}$ ) pour un niveau de bruit en valeur efficace de 0, 90 et 160 pA. Pour apprécier la robustesse de l'estimation, l'algorithme d'identification a été lancé 20 fois, avec 20 valeurs initiales différentes (aléatoirement choisies selon la procédure habituelle) et pour 500 itérations. Les résultats montrent que l'algorithme identifie correctement les

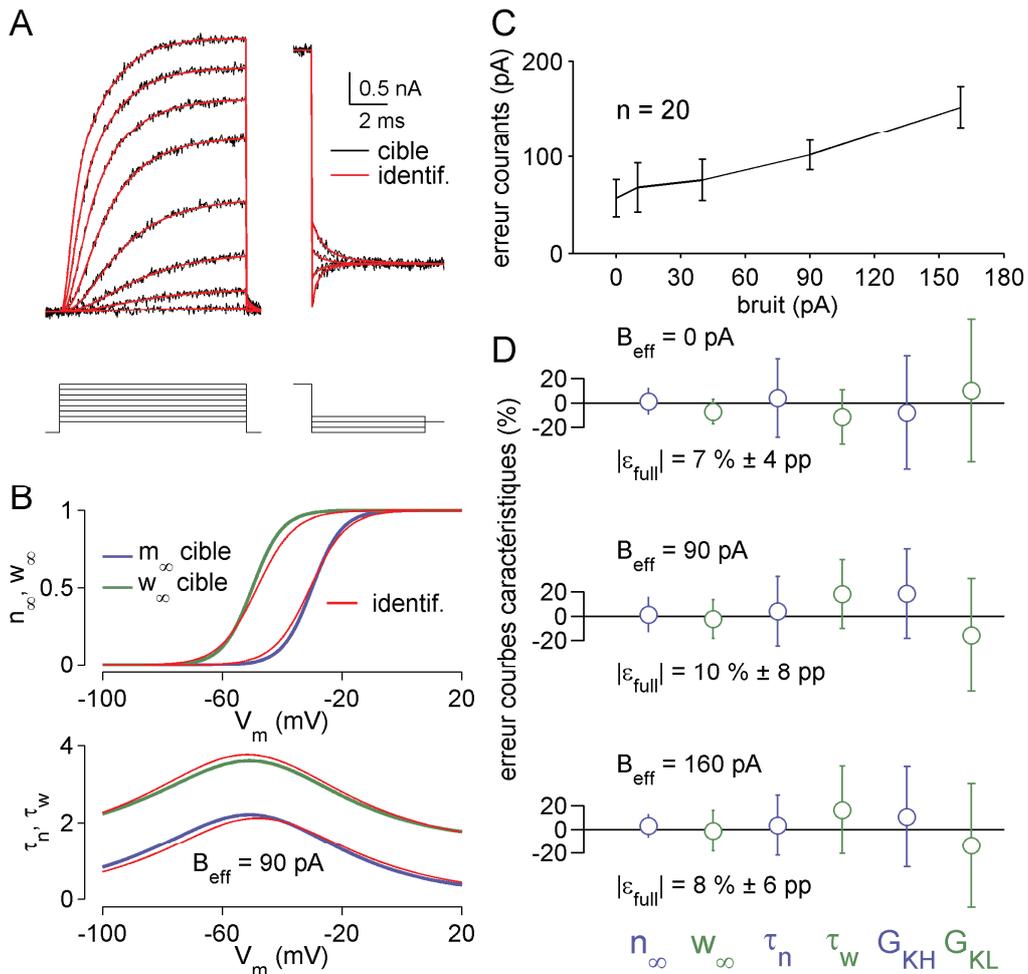
courbes cibles et la conductance maximale avec moins de 6% d'erreur quelque soit la valeur efficace du bruit additif.



**Figure 21, Effet du niveau de bruit sur la qualité de l'identification dans le cas d'une composante potassique.** **A** Courants potassiques simulés (en noir) et reconstruits (en rouge) pour un protocole de dépolarisant classique à gauche et un protocole hyperpolarisant à droite. Niveau de bruit additif de 90 pA en valeur efficace dans les 2 situations. **B** Courbes caractéristiques  $n_\infty$  et  $\tau_n$  des courants cibles (bleu) et reconstruits (en rouge). **C** Erreur de reconstruction des courants. L'erreur augmente de façon monotone avec le bruit additif. Elle augmente de 4 à 8 pA lorsque le bruit augmente de 0 à 160 pA. **D** Erreur d'identification des courbes caractéristiques et les conductances maximales. Quelque soit la valeur efficace du bruit additif, l'erreur moyenne normalisée sur les paramètres est inférieure à 6 %.

### 4.1.2.3 Courant potassique à deux composantes

La **Figure 22-A** montre le courant potassique (en noir) obtenus en réponse à des sauts de potentiels dépolarisants. Un bruit additif de 90 pA en valeur efficace a



**Figure 22, Effet du niveau de bruit sur la qualité de l'identification dans le cas de deux composantes potassiques.** **A** Courants potassiques simulés (en noir) et reconstruits (en rouge) pour un protocole de dépolarisant classique à gauche et un protocole hyperpolarisant à droite. Niveau de bruit additif de 90 pA en valeur efficace dans les 2 situations. **B** Courbes caractéristiques  $n_\infty$ ,  $w_\infty$ ,  $\tau_n$  et  $\tau_w$  des courants cibles ( $I_{KL}$  : vert,  $I_{KH}$  : bleu) et reconstruits (en rouge). **C** Erreur de reconstruction des courants. L'erreur augmente de 50 à 150 pA lorsque le bruit varie de 0 à 160 pA. **D** Erreur d'identification des courbes caractéristiques et les conductances maximales. Quelque soit la valeur efficace du bruit additif, l'erreur moyenne normalisée sur les paramètres est inférieure à 10 %.

été ajouté à chacune des traces afin de se rapprocher des situations expérimentales. Les courants reconstruits par notre algorithme d'identification sont tracés en rouge après 500 itérations. Les courbes caractéristiques cibles  $n_{\infty}, w_{\infty}, \tau_n$  et  $\tau_w$  et identifiées (en rouge) sont superposées dans la **Figure 22-B**. L'erreur de reconstruction totale est de 110 pA pour un bruit additif de 90 pA, soit sensiblement supérieure au niveau de bruit (**Figure 22-C**). Cette erreur augmente avec le niveau de bruit mais de façon quasi linéaire et proportionnelle ce qui démontre la robustesse de notre algorithme au bruit de mesure.

Les erreurs de reconstruction des courbes caractéristiques et les conductances maximales ont été calculées suivant les mêmes formules que pour les courants sodiques. Les trois graphiques de la **Figure 22-D** représentent l'erreur relative sur les courbes caractéristiques ( $n_{\infty}, w_{\infty}, \tau_n, \tau_w$ ) et les conductances maximales ( $G_{KH}$  et  $G_{KL}$ ) pour un niveau de bruit en valeur efficace de 0, 90 et 160 pA. Pour apprécier la robustesse de l'estimation, l'algorithme d'identification a été lancé 20 fois, avec 20 valeurs initiales différentes (aléatoirement choisies selon la procédure habituelle) et pour 500 itérations. Les résultats montrent que l'algorithme identifie correctement les courbes cibles et la conductance maximale avec moins de 10% d'erreur quelque soit la valeur efficace du bruit additif.

#### **4.1.2.4 Synthèse des résultats**

Ces résultats démontrent que notre algorithme permet d'identifier avec précision (<10% d'erreur) les courbes caractéristiques des courants sodiques et potassiques à une ou deux composantes lors de l'application de l'algorithme avec 20 essais (et 20 conditions initiales différentes aléatoirement choisies) et 500 itérations. En outre, lors de l'identification sur données expérimentales, l'algorithme a été lancé 50 fois (avec 50 conditions initiales différentes aléatoirement choisies autour des

valeurs centrales fournies dans la **Table 5** et avec une dispersion de  $\pm 50\%$ ) et avec 1500 itérations par essai, et nous avons retenu les 20 meilleurs.

Les courants potassiques à deux composantes ont les mêmes courbes caractéristiques (activations et cinétiques) que les courants activés par hyperpolarisation (courants  $I_h$ , également à deux composantes). La validation de l'algorithme est donc aussi valable pour l'identification des paramètres des courants activés par hyperpolarisation.

## 4.2 Modèle de corps cellulaire

Dans cette partie, les conductances sensibles au potentiel des corps cellulaires ont été : *i*) identifiées à l'aide de notre algorithme d'identification présenté et évalué dans la section précédente, *ii*) testées conjointement dans des configurations courant- et potentiel-imposé, et *iii*) extrapolées à température physiologique en utilisant les valeurs de  $Q_{10}$ .

### 4.2.1 Conductances isolées

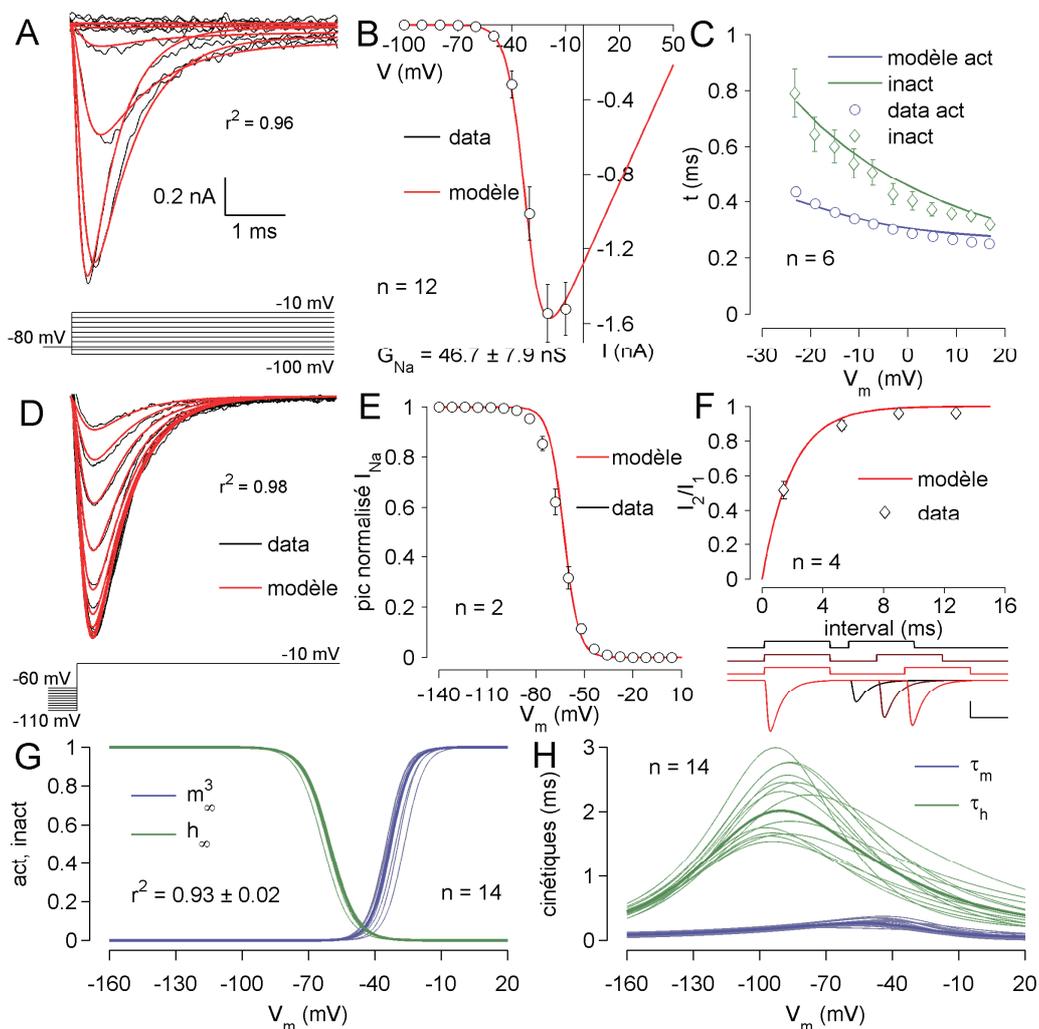
L'identification des multiples conductances des neurones auditifs primaires a été réalisée à partir de la mesure des courants sodiques ( $I_{Na}$ ), potassiques ( $I_{KL}$ ,  $I_{KH}$ ), et activés par l'hyperpolarisation ( $I_h$ ) des corps cellulaires fraîchement isolés et démyélinisés. Les enregistrements de patch-clamp en potentiel-imposé ont été réalisés en configuration cellule entière.

#### 4.2.1.1 Conductance sodique

La **Figure 23-A** montre un exemple représentatif de courant sodique (les courants potassiques et  $I_h$  étaient bloqués respectivement par du TEA et du césium). Les courants sodiques sont évoqués par des sauts de potentiels de 10 mV (de -100 mV à -10 mV) avec un potentiel de maintien de -80 mV. Après application de notre algorithme sur ces courants (50 essais successifs, 1500 itérations par essai, zone de recherche  $\pm 50\%$  autour des valeurs données dans la **Table 5**, sélection des 20 meilleurs résultats), la qualité d'ajustement obtenue est de  $r^2=0.96$ .

La courbe intensité-potentiel (I-V) qui représente l'amplitude maximale du courant sodique en fonction du potentiel test est présentée dans la **Figure 23-B** pour  $n = 12$  cellules. Le courant sodique s'active à -50 mV et la courbe I-V atteint une valeur maximale de -1.5 nA pour un potentiel test de -20 mV. La courbe I-V obtenue

d'après les courants reconstruits (en rouge dans la **Figure 23-B**) est similaire à la courbe I-V expérimentale. La conductance maximale identifiée par l'algorithme est de  $46.7 \pm 7.9$  nS ( $n=12$ ).



**Figure 23, Identification des paramètres de la conductance sodique.** **A** Courants expérimentaux (noire) et reconstruits (rouge,  $r^2=0.96$ ), protocole dépolarisant, potentiel de maintien -80 mV, potentiels échelons, de -100 à -10 mV par pas de 10 mV. **B** Courbes I-V déduite des courants expérimentaux (noire) et des courants reconstruits (rouge). **C** Cinétiques d'activation et d'inactivation expérimentales (symboles ouverts) et issues du modèle (traces pleines). **D** Courants expérimentaux (trace noire) et reconstruits (trace rouge,  $r^2=0.98$ ), protocole d'inactivation, potentiels de maintien de -110 à -60 mV par pas de 5 mV, potentiel échelon à -10 mV. **E** Courbe d'inactivation expérimentale (noire) et issue du modèle (rouge). **F** Récupération post-inactivation du courant sodique mesurée par le protocole double échelon (noir : données expérimentales, rouge : courbe issue du modèle), (barres d'échelle : 2 ms, 0.5 nA). **G** Courbes d'activation (bleu) et d'inactivation (vert). **H** Cinétiques d'activation (bleu) et d'inactivation (vert) de 14 cellules isolées (traces fines) accompagnées de la courbe moyenne (traces épaisses).

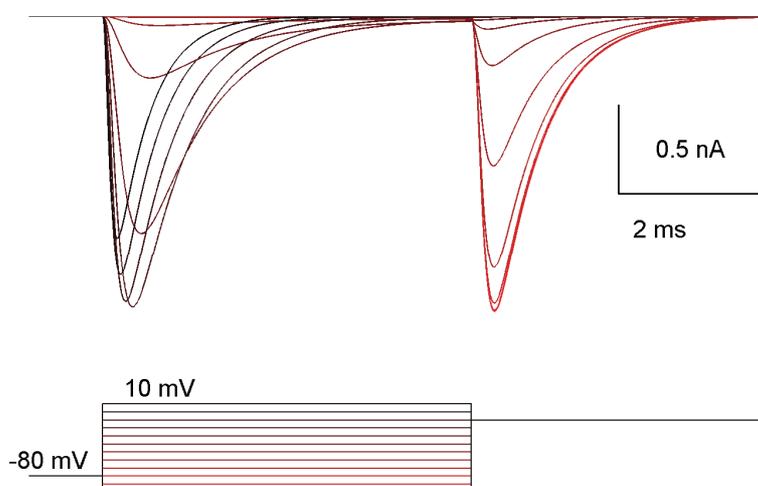
Nous avons ensuite comparé les constantes de temps d'activation et d'inactivation entre les données expérimentales et celles identifiées avec notre algorithme. La **Figure 23-C** représente les cinétiques d'activation et d'inactivation du courant sodique en réponse à des sauts de potentiels dépolarisants (avec un potentiel de maintien de -80 mV). Ici, la cinétique d'activation correspond à la durée nécessaire pour atteindre la moitié de l'amplitude maximale du courant. Les constantes de temps diminuent avec le potentiel ( $\tau = 0.4$  ms à -20 mV et  $\tau = 0.3$  ms à +15 mV). De la même façon, les constantes de temps d'inactivation diminuent avec le potentiel test ( $\tau = 0.7$  ms à -20 mV et  $\tau = 0.4$  ms à +15 mV). Les constantes de temps d'activation et d'inactivation des courants reconstruits (courbes continues verte et bleue) sont identiques à celles mesurées expérimentalement (**Figure 23-C**).

La courbe d'inactivation du courant sodique a été obtenue à l'aide d'un saut de potentiel fixe (-10 mV) à partir de potentiel de maintien variable compris entre -110 mV et -60 mV (**Figure 23-D**). Après application de l'algorithme d'identification sur ces courants, la qualité d'ajustement obtenue est de  $r^2 = 0.98$ . La courbe d'inactivation expérimentale (en noir) qui représente l'amplitude du courant en fonction du potentiel de maintien est présentée dans la **Figure 23-D**. Sa demi-inactivation est égale à -64 mV et son facteur de pente  $k = 4.5$  mV. La courbe d'inactivation obtenue à partir des courants reconstruits reproduit parfaitement la courbe expérimentale.

La récupération du courant sodique après inactivation a été étudiée en réponse à deux sauts de potentiel successifs avec des intervalles de temps différents (**Figure 23-F**). Dans les conditions expérimentales et dans notre modèle, l'augmentation de l'intervalle de temps entre les deux stimulations entraîne une augmentation de l'amplitude du courant sodique évoqué par la deuxième stimulation. Ici encore, la constante de temps de la récupération du courant sodique ( $\tau = 2.2$  ms)

est identique entre les données expérimentales et celles obtenues avec notre algorithme.

Les courbes caractéristiques obtenues après application de l'algorithme d'identification sur l'ensemble des courants sodiques sont montrées **Figures 23-G** et **23-H**. La **figure 23-G** montre les courbes d'activation (bleue) et d'inactivation (vert) tandis que la **Figure 23-H** montre les cinétiques correspondantes. La demi-activation est égale à  $-33.0 \pm 0.7$  mV et son facteur de pente  $-4.4 \pm 0.1$  mV. La demi-inactivation est de  $-60.7 \pm 0.1$  mV avec un facteur de pente de  $5.9 \pm 0.1$  mV. Les cinétiques d'activation et d'inactivation diminuent entre  $-50$  à  $+20$  mV. Les courants sodiques s'activent et s'inactivent rapidement (activation :  $\tau_m = 0.27$  ms à  $-50$  mV et  $0.06$  ms à  $+20$  mV ; inactivation  $\tau_h = 1.29$  ms à  $-50$  mV et  $0.39$  ms à  $+20$  mV).



**Figure 24, Réponse du modèle de courant sodique à un protocole d'activation puis d'inactivation.** Potentiel maintien à  $-80$  mV et un potentiel échelon variant de  $-100$  à  $10$  mV par pas de  $10$  mV, suivi d'un potentiel à  $-10$  mV (protocole hybride entre activation et inactivation) les courants obtenus sont d'abord des courants résurgents dans la deuxième partie du protocole (courants rouges), puis des courants d'activation dans la première partie du protocole (courants noirs).

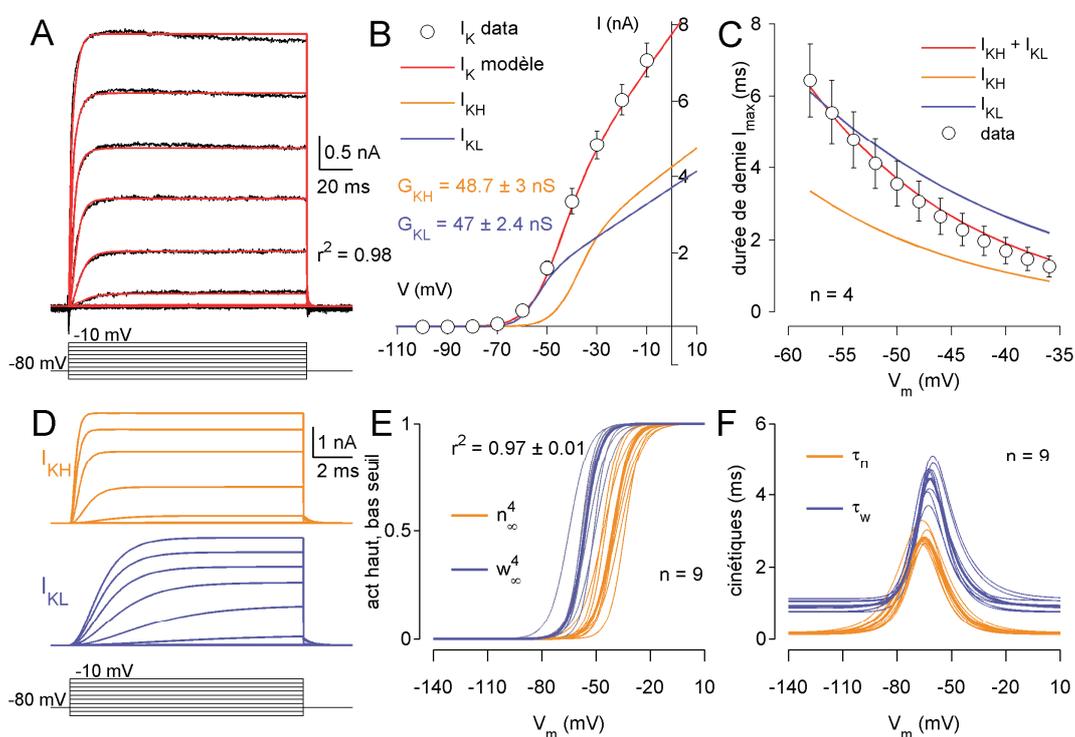
Pour illustrer le comportement du modèle de courant sodique, nous avons stimulé le modèle par un protocole d'activation suivi d'un protocole d'inactivation (**Figure 24**). A l'aide de ce protocole (qui n'a pas été utilisé expérimentalement), il apparaît très clairement que le courant s'active à -50 mV, et que les cinétiques d'activation et d'inactivation deviennent plus rapides avec les sauts de potentiels tests. A noter aussi l'invariance des cinétiques au protocole d'inactivation.

#### 4.2.1.2 *Conductances potassiques*

La **Figure 25-A** montre un exemple représentatif de courant potassique (les courants sodiques et activé par l'hyperpolarisation sont bloqués respectivement par de la TTX et du césium). Les courants potassiques sont évoqués par des sauts de potentiel de 10 mV (de -100 mV à -10 mV) avec un potentiel de maintien de -80 mV. Un modèle potassique de type Hodgkin-Huxley à une composante a été appliqué aux courants mesurés expérimentalement (50 essais, 1500 itérations par essai, zone de recherche :  $\pm 50$  autour des valeurs centrales fournies dans la **Table 5**, sélection des 20 meilleurs essais). Comme ce modèle n'a pas offert une qualité d'ajustement suffisante ( $r^2 < 0.9$ ), nous avons alors utilisé un modèle à deux composantes, ce qui s'est traduit par une amélioration de la qualité de l'ajustement ( $r^2 > 0.95$ ).

La courbe I-V expérimentale (noir, **Figure 25-B**) montre que les courants potassiques s'activent à -70 mV ( $n=9$  cellules). La courbe I-V issue des courants reconstruits (rouge) reproduit la courbe I-V expérimentale. A noter que les courbes I-V correspondant aux deux composantes potassiques sont isolées séparément. La première composante est activée à bas seuil (-65 mV, courbe bleue) alors que la seconde est activée à haut seuil (-50 mV, courbe orange). Les conductances maximales des conductances activées à bas et haut seuil identifiées par l'algorithme sont de  $47.0 \pm 2.4$  nS et  $48.7 \pm 3$  nS, respectivement.

Nous avons ensuite comparé les constantes de temps d'activation entre les données expérimentales et celles identifiées avec notre algorithme. La **Figure 25-C** représente les cinétiques d'activation des courants potassiques en réponse à des sauts de potentiels dépolarisants (avec un potentiel de maintien de -80 mV). Ici, la cinétique d'activation correspond à la durée nécessaire pour atteindre la moitié de



**Figure 25, Identification des paramètres des courants potassiques.** **A** Courants expérimentaux (noire) et reconstruits (rouge,  $r^2=0.98$ ), protocole dépolarisant, potentiel de maintien -80 mV, potentiels échelons, de -100 à -10 mV par pas de 10 mV. **B** Courbes I-V expérimentale (noire) et issue du modèle (rouge). En orange et en bleu, les courbes I-V des courants potassiques activés à haut, et bas seuil, respectivement. **C** Cinétiques d'activation mesurées sur les courants expérimentaux (symboles ouverts,  $n=4$  cellules) et sur les courants reconstruits (traces pleines). En orange et en bleu, les cinétiques d'activation des courants activés à haut et bas seuil, respectivement. **D** Courants potassiques activés à haut seuil (orange) et à bas seuil (bleue) reconstruits. A noter, l'activation plus tardive du  $I_{KH}$  et de sa cinétique plus rapide. **E** Activation des courants potassiques activés à haut seuil (orange) et à bas seuil (bleue) et moyennes (traces épaisses,  $n=9$  cellules). **F** Cinétiques d'activation des courants potassiques activés à haut seuil (orange) et à bas seuil (bleue) et moyennes (traces épaisses,  $n=9$ ).

l'amplitude maximale du courant. La cinétique diminue rapidement (de 6 à 2 ms) entre -55 mV à -35 mV. Le modèle des courants potassiques reproduit également ces caractéristiques. En outre, nous avons caractérisé les contributions des deux composantes aux cinétiques d'activation. Dans notre modèle, la cinétique de la composante activée à haut seuil est plus rapide (de 3 à 0.1 ms) que la composante activée à bas seuil (de 5 à 1 ms) entre -55 à -25 mV.

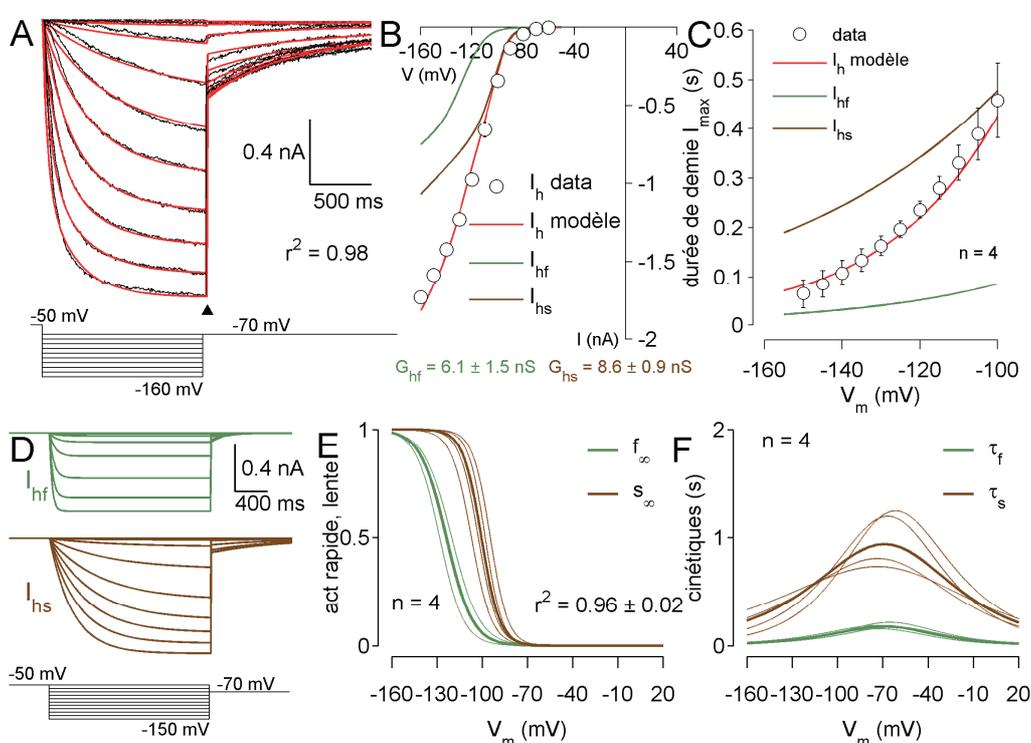
La **Figure 25-D** représente les courants potassiques à bas et haut seuil d'activation en réponse à des sauts de potentiels de 10 mV (de -100 mV à -10 mV) avec un potentiel de maintien de -80 mV. Pour un potentiel test de -60 mV, seule la composante à bas seuil ( $I_{KL}$  en bleu) est activée. Lorsque la composante à haut seuil s'active autour de -50 mV, sa cinétique d'activation est plus rapide que celle de la composante lente. Les courbes caractéristiques sont représentées dans les **Figures 25-E** et **25-F**. La **Figure 25-E** montre les courbes d'activation des deux composantes (orange :  $I_{KH}$ , bleu :  $I_{KL}$ ) tandis que la **Figure 25-F** montre les cinétiques correspondantes. La demi-activation de la composante activée à haut seuil est égale à  $-40.8 \pm 1.4$  mV et son facteur de pente vaut  $-5.1 \pm 0.3$  mV. La demi-activation des canaux activés à bas seuil est de  $-56.1 \pm 1.4$  mV avec un facteur de pente de  $-4.4 \pm 0.3$  mV. Quelque soit le potentiel de membrane, les cinétiques d'activation de la composante activée à bas seuil sont plus lentes que celles de la composante activée à haut seuil ( $\tau_{KL} = 2.62$  ms à -50 mV et 0.92 ms à +20 mV;  $\tau_{KH} = 1.21$  ms à -50 mV et 0.14 ms à +20 mV).

#### **4.2.1.3** *Conductances activées par hyperpolarisation*

La **Figure 26-A** montre un courant évoqué par des sauts de potentiels hyperpolarisant (de -70 à -160 mV) à partir d'un potentiel de maintien à -50 mV. Les

courants sodiques et potassiques étaient bloqués par de la TTX et du TEA, respectivement.

Un modèle de type Hodgkin-Huxley (50 essais, 1500 itérations par essai, zone de recherche :  $\pm 50\%$  autour des valeurs centrales indiquées dans la Table 5, sélection des 20 meilleurs essais) à une composante a tout d'abord été utilisé. La qualité de d'ajustement n'étant pas satisfaisante ( $r^2 < 0.9$ ,  $n=4$  cellules), un modèle à deux composantes a ensuite été testé avec succès ( $r^2 > 0.95$ , courbes rouges).



**Figure 26, Identification des paramètres des courants activés par hyperpolarisation.**

**A** Courants expérimentaux (noire) et reconstruits (rouge, modèle à deux composantes,  $r^2=0.98$ ), protocole hyperpolarisant, potentiel de maintien -50 mV, potentiels échelons, de -70 à -150 mV par pas de 10 mV. **B** Courbes I-V dérivées des courants expérimentaux (noire) et reconstruits par le modèle (rouge). En marron et en vert, les courbe I-V des composantes activées à haut ( $I_{hs}$ ) et bas ( $I_{hf}$ ) seuil. **C** Constantes de temps d'activation mesurées sur les courants expérimentaux (symboles) et sur les courants reconstruits (traces pleines). Constante de temps mesurée à mi-amplitude maximale (marron :  $I_{hs}$ , vert :  $I_{hf}$ ). **D** Courants  $I_{hs}$  (marron) et  $I_{hf}$  (vert) reconstruits. **E** Courbes d'activation des courants  $I_{hs}$  (marron) et  $I_{hf}$  (vert). **F** Cinétiques d'activation des courants  $I_{hs}$  (marron) et  $I_{hf}$  (vert). **E** et **F** Traces fines : cellules isolées, trace épaisse : moyenne,  $n = 4$  cellules.

L'identification de deux composantes montre la présence de deux populations de canaux, en accord avec l'analyse des données expérimentales (Chen, 1997). La courbe I-V obtenue expérimentalement montre que courants activés par hyperpolarisation s'activent pour des potentiels inférieurs à -80 mV ( $n = 4$  ; **Figure 26-B**). Ici encore, la courbe I-V issue des courants reconstruits reproduit fidèlement la courbe expérimentale. Les deux composantes ont été isolées séparément dans la **Figure 26-B** en vert et marron. La première composante s'active à -110 mV (courbe verte, composante à bas seuil). En revanche, la seconde composante s'active à -90 mV (courbe marron, composante à haut seuil). Les conductances maximales des composantes à bas et haut seuil sont de  $6.1 \pm 1.5$  nS et  $8.6 \pm 0.9$  nS ( $n=4$ ), respectivement.

La **Figure 26-C** représente les cinétiques d'activation des courants en réponse à des sauts de potentiel hyperpolarisants à partir d'un potentiel de maintien de -50 mV. La cinétique d'activation correspond à la durée nécessaire pour atteindre la moitié de l'amplitude maximale du courant. Les constantes de temps mesurées expérimentalement et sur les courants reconstruits sont similaires et diminuent de 500 à 50 ms entre -100 à -150 mV (**Figure 26-C**). La composante activée à haut seuil est plus lente ( $\tau_s=[200-1000]$  ms) que la composante activée à bas seuil ( $\tau_f=[20-100]$  ms) quelque soit le potentiel de membrane entre -160 et +20 mV.

La **Figure 26-D** représente l'activation des deux composantes  $I_{hs}$  et  $I_{hf}$  évoquées par des sauts de potentiels hyperpolarisants (de -70 à -160 mV) à partir d'un potentiel de maintien à -50 mV. A noter que les courants  $I_{hs}$  et  $I_{hf}$  se distinguent des courants sodiques et potassiques étudiés dans les sections précédentes par leur constante de temps extrêmement lente.

Les courbes caractéristiques des courants  $I_{hs}$  et  $I_{hf}$  sont représentées dans les **Figures 26-E** (courbes d'activation, marron : composante lente, vert : composante rapide) et **26-F** (cinétiques d'activation, marron : composante lente, vert : composante rapide). Les demi-activations des composantes rapide et lente sont respectivement de  $-121.8 \pm 5.4$  mV et  $-100.1 \pm 4.4$  mV avec un facteur de pente de  $-8.1 \pm 1.3$  mV et  $-6.1 \pm 1.3$  mV.

Les cinétiques d'activation de la composante activée à bas seuil est plus rapide que l'autre quelque soit le potentiel de membrane ( $I_{KL} = 262$  ms à  $-70$  mV et  $19.2$  ms à  $-160$  mV ;  $I_{KH} = 950$  ms à  $-70$  mV et  $290$  ms à  $-160$  mV).

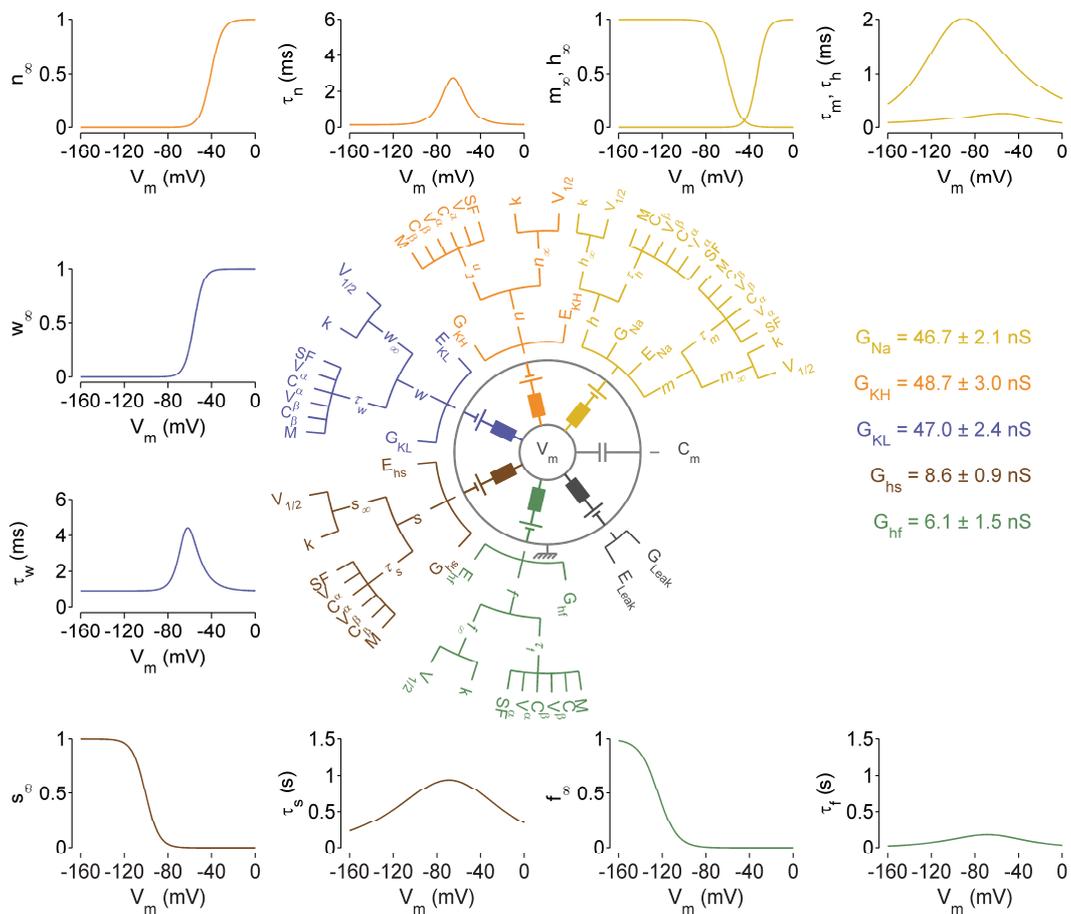
**Table 6.** Paramètres des courants dépendants du voltage identifiés sur les corps cellulaires des neurones du ganglion spiral  $I_{KH}$ ,  $I_{KL}$ ,  $I_{Na}$ ,  $I_{hf}$  et  $I_{hs}$ .

	$G_{max}$ (nS)	$x$	$x_{\infty}$	
			$V_{0.5}$	$k$
$I_{KH}$	$48.7 \pm 3.0$	$n$	$-40.8 \pm 1.4$	$-5.1 \pm 0.3$
$I_{KL}$	$47.0 \pm 2.4$	$w$	$-56.1 \pm 1.4$	$-4.4 \pm 0.3$
$I_{Na}$	$46.7 \pm 7.9$	$m$	$-33.0 \pm 0.7$	$-4.4 \pm 0.1$
		$h$	$-60.7 \pm 0.1$	$5.9 \pm 0.1$
$I_{hf}$	$6.1 \pm 1.5$	$s$	$-123.9 \pm 2$	$-8.6 \pm 0.4$
$I_{hs}$	$8.6 \pm 0.9$	$f$	$-100.6 \pm 3$	$-6.1 \pm 0.6$

$\tau_x$					
$C_{\alpha}$ (kHz)	$V_{\alpha}$ (mV)	$C_{\beta}$ (kHz)	$V_{\beta}$ (mV)	M (ms)	SF
$34.3 \pm 1.6$	$10.2 \pm 0.4$	$9.6 \pm 0.5$	$8.8 \pm 0.5$	0.14	$10^2$
$22.2 \pm 1.1$	$10.5 \pm 0.6$	$7.2 \pm 0.3$	$5.7 \pm 0.3$	0.92	$10^2$
$7.5 \pm 3.2$	$17.0 \pm 2.3$	$37.7 \pm 0.1$	$55.1 \pm 0.1$	0.04	$10^1$
$65.5 \pm 5.1$	$46.7 \pm 4.0$	$5.4 \pm 0.1$	$25.0 \pm 0.1$	0.11	$10^2$
$35.7 \pm 1.6$	$27.8 \pm 0.8$	$24.3 \pm 0.5$	$33.5 \pm 0.7$	3.28	$10^5$
$63.3 \pm 2.1$	$39.7 \pm 0.3$	$46.2 \pm 0.6$	$44.5 \pm 0.6$	4.62	$10^4$

#### 4.2.1.4 Synthèse des résultats

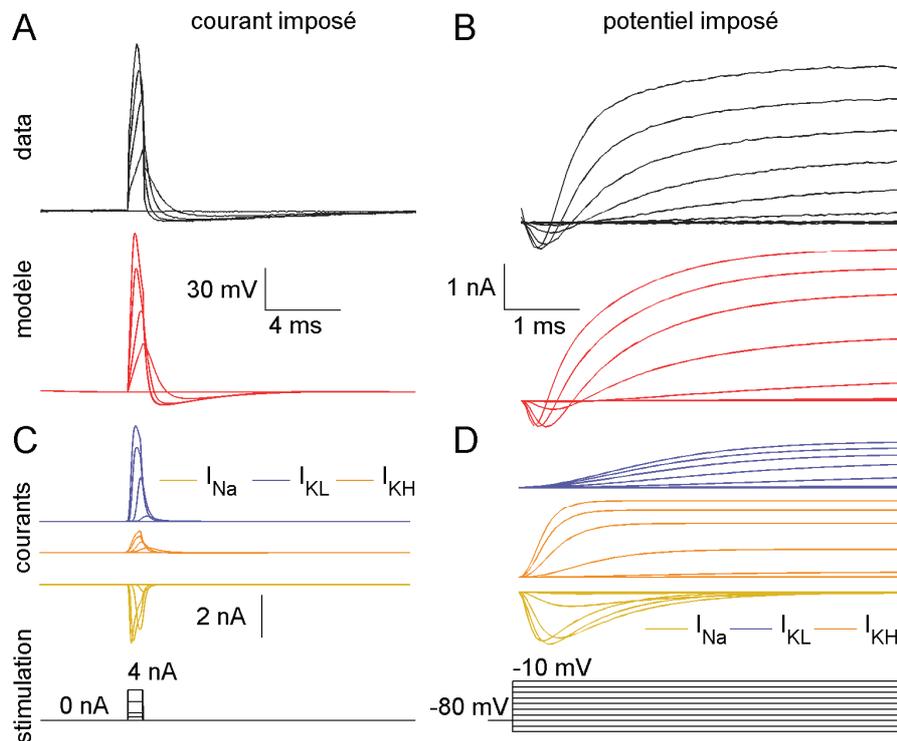
L'analyse des données de patch-clamp acquises sur des corps cellulaires de neurones auditifs primaires nous a permis d'identifier cinq conductances dépendantes du potentiel : un courant sodique  $I_{Na}$ , deux courants potassiques, l'un activé à haut seuil  $I_{KH}$  et l'autre activé à bas seuil  $I_{KL}$  et deux courants activés par



**Figure 27, Paramètres du modèle de corps cellulaire.** Les branches et les courbes d'activation et de cinétiques jaunes, oranges bleues, brunes et vertes représentent respectivement le courant : sodique ( $I_{Na}$ ), potassiques activée à haut ( $I_{KH}$ ) et bas seuil ( $I_{KL}$ ), activé par hyperpolarisation lente ( $I_{hs}$ ) et rapide ( $I_{hf}$ ). La branche grise représente la capacité membranaire, la branche noire le courant de fuite (conductance de fuite et potentiel de renversement). Le modèle complet de corps cellulaire compte 61 paramètres.

hyperpolarisation, l'un rapide  $I_{hf}$  (à bas seuil) et l'autre lent  $I_{hs}$  (à haut seuil). Les paramètres de ces courants sont décrits dans la **Table 6**.

Le modèle complet est présenté par la **Figure 27** sous la forme d'un dendrogramme à 7 branches, avec 8 paramètres pour chaque variable d'ouverture  $m, h, n, w, s$  et  $f$  ; une conductance maximale et un potentiel de Nernst pour chaque courant sensible au potentiel ; une conductance maximale et un potentiel de Nernst



**Figure 28, Modèle de corps cellulaire, configuration courant-imposé et potentiel-imposé.** **A.** Dépolarisation gradée de la membrane de la cellule (courbe noire), stimulation en courant imposé de durée 0.8 ms et d'amplitude 0.5, 1, 2.5 et 4 nA. **B.** Réponse du modèle à la même stimulation (courbe rouge). **B.** Courant ionique total de la cellule, protocole dépolarisant, potentiel de maintien, -80 mV, potentiels échelons de -100 à -10 mV par pas de 10 (courbe noire). Réponse du modèle à la même stimulation (courbe rouge). **C et D.** Les courants  $I_{Na}$ ,  $I_{KH}$  et  $I_{KL}$  sont présentés séparément en jaune, orange et bleu, respectivement, pour les deux protocoles précédents. Pour la simulation en potentiel-imposé  $G_{Na} = 79$  nS,  $G_{KH} = 53$  nS et  $G_{KL} = 32$  nS.

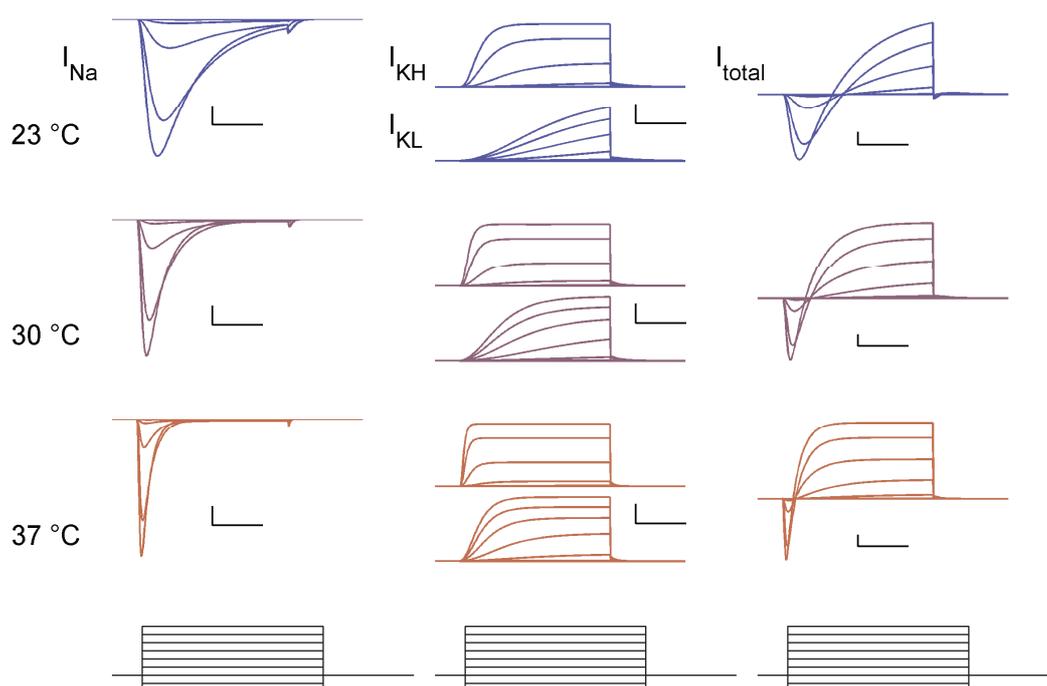
pour le courant de fuite et une capacité membranaire. Le modèle complet de corps cellulaire est donc composé de 61 paramètres. Les courbes caractéristiques du modèle complet sont distribuées autour du dendrogramme.

#### 4.2.2 Conductances réunies

Toutes les conductances dépendantes du potentiel ont été assemblées dans un modèle unique. Ce modèle a été complété par une branche de fuite et une branche capacitive. Pour valider l'étape d'identification des paramètres du modèle,

nous avons comparé les courants membranaires globaux et les variations de potentiel acquis expérimentalement avec ceux de notre modèle.

En configuration courant-imposé, l'injection de courant d'une durée de 0.8 ms et d'amplitude croissante évoque expérimentalement et dans notre modèle une réponse similaire, à savoir une variation graduelle du potentiel de membrane, suivie par une hyperpolarisation (**Figure 28-A**). En potentiel imposé, les sauts de potentiels dépolarisants évoquent des courants entrants rapides, reflétant l'activation du courant sodique, suivis par des courants sortants, qui reflètent l'activation des courants potassiques (**Figure 28-B**).



**Figure 29, Effet de la température sur les courants sodique et potassiques.** Les courants sodique ( $I_{Na}$ ,  $Q_{10}=3$ ), potassiques ( $I_{KL}$  et  $I_{KH}$ ,  $Q_{10}=3$ ) et le courant total ( $I = I_{Na} + I_{KL} + I_{KH}$ ) sont présentés à 23, 30 et 37°C, pour des protocoles de stimulation adaptés à chaque type de courant. Plus la température augmente, plus les cinétiques sont rapides. Barres d'échelle 1 ms, 1 nA.

L'analyse des conductances isolées montre que l'amplitude élevée du courant potassique (**Figure 28-C**) à bas seuil (bleu) par rapport au courant sodique (jaune) est probablement responsable de la réponse gradée du potentiel en prévenant l'émission de potentiel d'action, obéissant à la loi du tout ou rien. Ces résultats montrent que les paramètres des conductances ont été correctement identifiés et que les 3 conductances ( $G_{Na}$ ,  $G_{KH}$  et  $G_{KL}$ ) sont nécessaires et suffisantes pour reproduire l'activité électrophysiologique des corps cellulaires fraîchement isolés. Le modèle final de corps cellulaire compte donc 41 paramètres avec 6 paramètres fixés *a priori* :  $E_{Na}$ ,  $E_{KH}$ ,  $E_{KL}$ ,  $E_{leak}$ ,  $G_{leak}$ , et  $C_m$  et 35 paramètres identifiés.

#### 4.2.3 Effets de la température

Les expériences de patch clamp menées sur les corps cellulaires de neurones du ganglion spiral ont toutes été réalisées à température ambiante (~23 °C). L'objectif de cette étude étant de modéliser les potentiels d'action extracellulaires mesurés *in vivo* à température physiologique, nous avons extrapolé notre modèle à 37°C. L'effet d'une élévation progressive de température (de 23°C à 37°C), sur les 3 courants étudiés dans la suite de ce travail, a été simulé dans la **Figure 29**. On observe une augmentation de l'amplitude des courants avec la température associée à une accélération des cinétiques.

### 4.3 Modèle de nœud de Ranvier

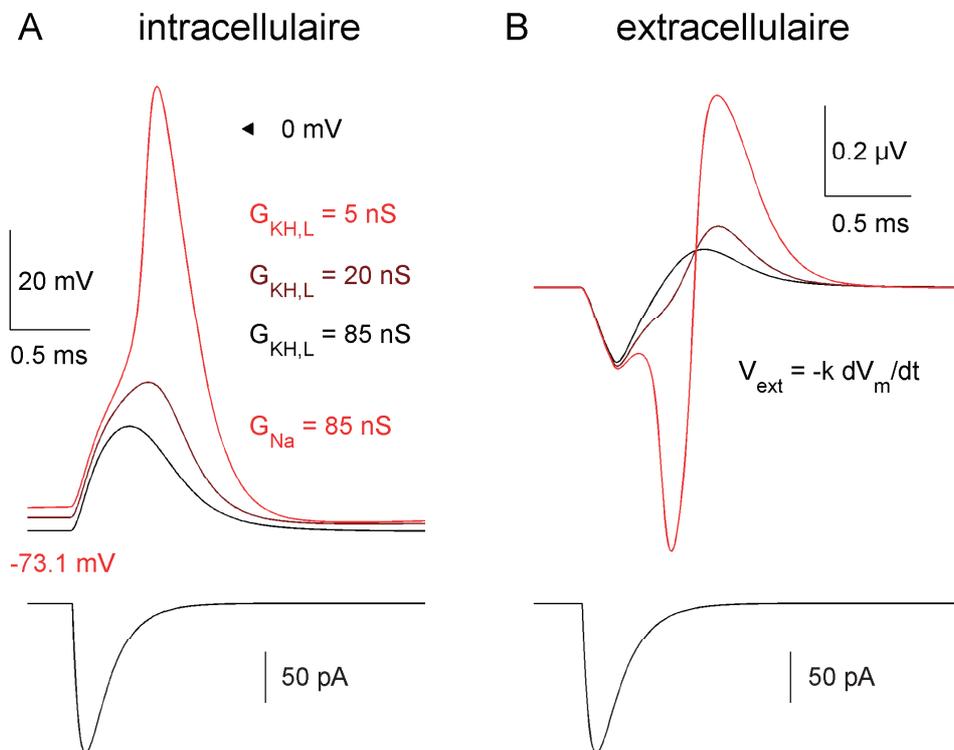
Pour modéliser notre modèle à un nœud de Ranvier, nous avons utilisé le modèle de corps cellulaire à 41 paramètres (présentés dans la **Table 6**) en modifiant la capacité membranaire  $C_m$ , la conductance de fuite  $G_{leak}$  et les 3 conductances maximales  $G_{Na}$ ,  $G_{KH}$ , et  $G_{KL}$ . Les courants  $I_h$  rapide et lent n'ont pas été intégrés au modèle car leur effet sur la réponse est négligeable. La valeur de la capacité membranaire d'un nœud de Ranvier a été fixé à 1.4 pF en accord avec celle identifiée dans le nerf sciatique de rat, (Brismar 1980; Schwarz and Eikhof 1987), la conductance de fuite a été fixé à 0.008 nS en respect du rapport de surfaces (surface corps cellulaire/nœud de Ranvier = 252). Les conductances  $G_{Na}$ ,  $G_{KH}$ , et  $G_{KL}$  dépendent directement de la surface du nœud de Ranvier et des densités de canaux ioniques. Ces conductances ont été identifiées en comparant la sortie du modèle aux potentiels d'action extracellulaires enregistrés *in vivo* (et donc à température physiologique) dans le nerf auditif de cochon d'Inde. Pour modéliser la forme d'un potentiel d'action extracellulaire, nous avons considéré que sa forme était proportionnelle à la dérivée temporelle du potentiel de membrane (Bean 2007). Pour déterminer les 3 paramètres inconnus du modèle ( $G_{Na}$ ,  $G_{KH}$ , et  $G_{KL}$ ), nous avons développé un algorithme d'identification (descente du gradient, distance : coefficient de corrélation linéaire) qui a recherché de façon systématique le triplet de valeur  $G_{Na}$ ,  $G_{KH}$ , et  $G_{KL}$  qui minimise l'erreur entre les potentiels d'action extracellulaires observés expérimentalement et ceux reconstruits avec le modèle.

#### 4.3.1 Evaluation des conductances maximales

Pour définir l'intervalle de recherche de l'algorithme dans des plages de valeurs physiologiques, nous avons défini un intervalle de 1000-2000 canaux/ $\mu\text{m}^2$  pour le courant sodique (Poliak and Peles 2003). Tenant compte de la surface d'un

nœud de Ranvier de fibre du neurone auditif ( $4.5 \mu\text{m}^2$ , longueur=1.2  $\mu\text{m}$ , diamètre=1.2  $\mu\text{m}$ , (Lieberman and Oliver 1984)), et de la conductance unitaire d'un canal sodique ( $g_{Na} = 15 \text{ pS}$ ; (Hille 1991), l'intervalle de recherche pour la conductance maximale  $G_{Na}$  a été fixé entre 70 et 130 nS. La plage de recherche des conductances potassiques  $G_{KH}$  et  $G_{KL}$  correspond à la limite de déclenchement du potentiel d'action (voir paragraphes suivants) à été défini entre 1 et 20 nS (**Table 7**).

Le modèle a ensuite été stimulé par un courant dont la forme est celle des courants post-synaptiques excitateurs (amplitude de 150 pA et de constante de



**Figure 30, Evaluation des conductances maximales et calcul du potentiel extracellulaire.** **A** Potentiel intracellulaire simulé par le modèle en réponse à un courant post-synaptique. Le modèle est stimulé par un courant post synaptique auditif ( $\tau_m = 0.3 \text{ ms}$  et  $\tau_m = 1.2 \text{ ms}$ , amplitude = 150 pA). Les conductances maximales du potassium varient de 70 à 5 nS. Lorsque  $G_{KL} = G_{KH} = 5 \text{ nS}$ , un potentiel d'action est déclenché. **B** Le potentiel extracellulaire est montré pour les mêmes valeurs de conductances maximales utilisées en A. ( $k = 1 \text{ s}$ ).

temps d'activation et d'inactivation de  $\tau_m = 0.3$  ms et  $\tau_d = 1.2$  ms, respectivement ; (Grant, Yi et al. 2010).

La **Figure 30** représente une simulation de potentiel d'action intracellulaire (**Figure 30-A**) et extracellulaire (**Figure 30-B**) avec des conductances maximales fixes. Lorsque les 3 conductances maximales sont égales à 70 nS, le modèle génère une réponse intracellulaire et extracellulaire de faible amplitude (intra : ~20 mV, extra : ~0.2 mV). En revanche, lorsque les conductances maximales  $G_{KH}$  et  $G_{KL}$  diminuent conjointement à 20 puis 5 nS, le modèle génère un potentiel d'action intracellulaire de 70 mV et un potentiel extracellulaire biphasique d'1 mV. Ce résultat montre que le modèle de nœud de Ranvier est capable de générer des potentiels d'action lorsque la conductance sodique est largement supérieure aux conductances potassiques.

#### 4.3.2 Identification objective des conductances maximales

Pour identifier de façon précise les conductances maximales du modèle de nœud de Ranvier, un algorithme a été développé pour minimiser l'erreur entre le potentiel d'action extracellulaire issu de l'enregistrement unitaire (potentiel cible) et celui reconstruit par le modèle (potentiel simulé).

##### 4.3.2.1 *Le potentiel d'action extracellulaire in vivo*

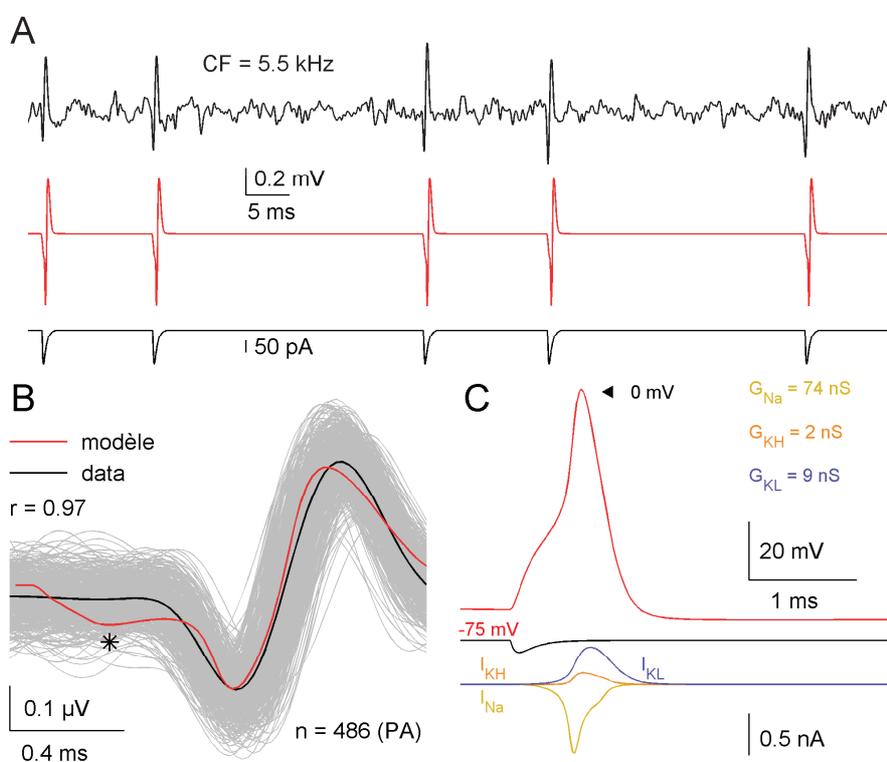
La **Figure 31-A** montre l'activité unitaire d'un neurone auditif primaire de cochon d'Inde dont la fréquence caractéristique (FC) est de 5.5 kHz. Après détection, les potentiels d'action ont été synchronisés et superposés (**Figure 31-B**).

##### 4.3.2.2 *Identification des conductances*

L'application d'un algorithme d'identification ayant pour cible le potentiel d'action extracellulaire moyen présenté dans la **Figure 31-B**, a permis de

reconstruire le potentiel d'action extracellulaire représenté en rouge (minimisation par descente du gradient). Le coefficient de corrélation entre le potentiel cible et reconstruit est de  $r = 0.98$  et le triplet de conductances maximales identifiées est  $G_{Na} = 74 \text{ nS}$ ,  $G_{KH} = 2 \text{ nS}$  et  $G_{KL} = 9 \text{ nS}$ .

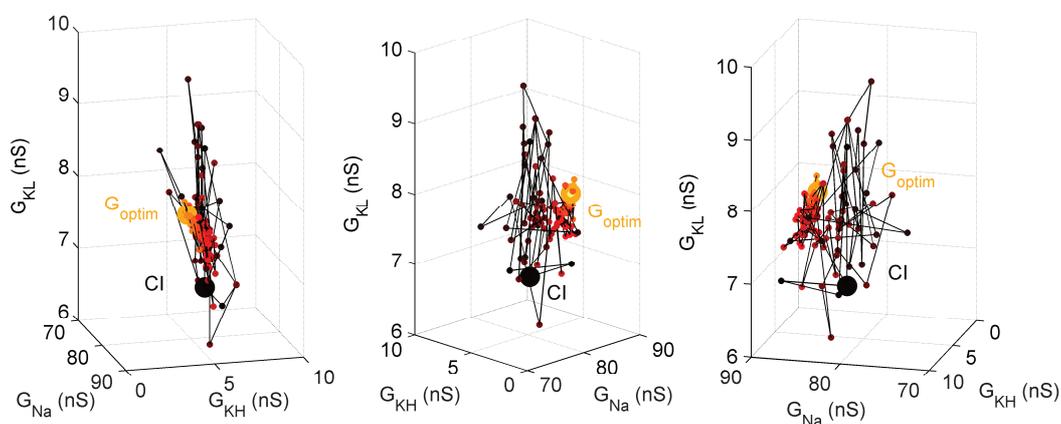
L'épaule observé au début du potentiel d'action extracellulaire simulé (voir (\*) dans la **figure 31-B**) est lié à la phase d'intégration du courant post-synaptique excitateur dans le modèle. Cet épaulement est absent dans les données



**Figure 31, Identification des conductances maximales. A.** Enregistrement unitaire de 100 ms d'une fibre codant pour le 5.5 kHz (trace noire), 5 ondes caractéristiques des potentiels d'action extracellulaires émises. Reproduction de l'activité de cette fibre par le modèle en synchronisant un courant post synaptique auditif sur les potentiels d'action extracellulaires de la fibre. **B.** Synchronisation (traces grises,  $n = 486$ ), et moyenne (trace noire) des potentiels d'action extracellulaires. Identification des conductances maximales  $G_{Na} = 74 \text{ nS}$ ,  $G_{KH} = 2 \text{ nS}$  et  $G_{KL} = 9 \text{ nS}$  et reconstruction par le modèle de l'activité de la fibre (trace rouge). **C.** Reconstruction du PA intracellulaire (trace rouge) et des courants ioniques, courants post synaptique (trace noire),  $I_{Na}$  (trace jaune),  $I_{KH}$  (trace orange),  $I_{KL}$  (trace bleue).

expérimentales car le courant excitateur du nœud de Ranvier est un courant longitudinal axoplasmique.

La **Figure 32** illustre la convergence en 3 dimensions des conductances identifiées avec  $G_{Na}$  en x,  $G_{KH}$  en y et  $G_{KL}$  en z. Les valeurs successives des conductances testées par l'algorithme sont montrées sous trois angles différents. La condition initiale (sphère noire) correspond au point  $G_{Na}=82$  nS,  $G_{KH}=5$  nS et  $G_{KL}=7$  nS. La progression de l'algorithme est représentée par l'éclaircissement des points de recherche. Lorsque l'erreur atteint une valeur minimale, l'algorithme s'arrête et fournit les valeurs optimales (sphère orange) des conductances  $G_{Na}=85.8$  nS,  $G_{KH}=4.0$  nS et  $G_{KL}=7.9$  nS. Les intervalles de recherche sont présentées dans la **Table 7**.



**Figure 32, Convergence des conductances lors de la minimisation de l'erreur PA extra mesuré / reconstruit.** Avec des conditions initiales à  $G_{Na} = 82$  nS,  $G_{KH} = 5$  nS et  $G_{KL} = 7$  nS. (gros point noir), l'algorithme débute la minimisation. Lors de cette phase, les conductances sont représentées en rouge et, plus le nombre d'itérations augmente, plus la couleur se rapproche du noir. Sur cet exemple, après 200 itérations, les conductances optimales calculées par l'algorithme sont  $G_{Na} = 85.8$  nS,  $G_{KH} = 4.0$  nS et  $G_{KL} = 7.9$  nS.

### 4.3.2.3 Les courants ioniques

La **Figure 31-C** montre le potentiel d'action intracellulaire (courbe rouge) correspondant au potentiel d'action extracellulaire de la **Figure 31-B**, évoqué par un courant post-synaptique excitateur (en noir). Lorsque le potentiel de membrane atteint -55 mV, le courant sodique s'active rapidement et est suivi par l'activation du courant potassique à haut seuil. A noter que le courant potassique activé à bas seuil, bien que plus lent que le courant sodique, s'active sensiblement au même moment.

**Table 7.** Zones de recherche des conductances maximales et plage utilisées par l'algorithme

Conductance maximale	Intervalle de recherche (nS)	Conductance unitaire (pS)	Intervalle (nb de canaux)
$G_{Na}$	[70 – 130]	15	[4500-8500]
$G_{KH}$	[1 – 20]	8	[125-2500]
$G_{KL}$	[1 – 20]	8	[125-2500]

## 4.4 Le gradient de conductances base/apex

L'analyse présentée dans la section précédente pour un neurone a été reproduite pour 30 autres neurones. La fréquence caractéristique des 31 neurones couvre l'axe tonotopique de 1 à 20 kHz. Pour chaque neurone, un potentiel d'action extracellulaire cible a été calculé en moyennant plus de 200 potentiels d'action extracellulaires par neurone.

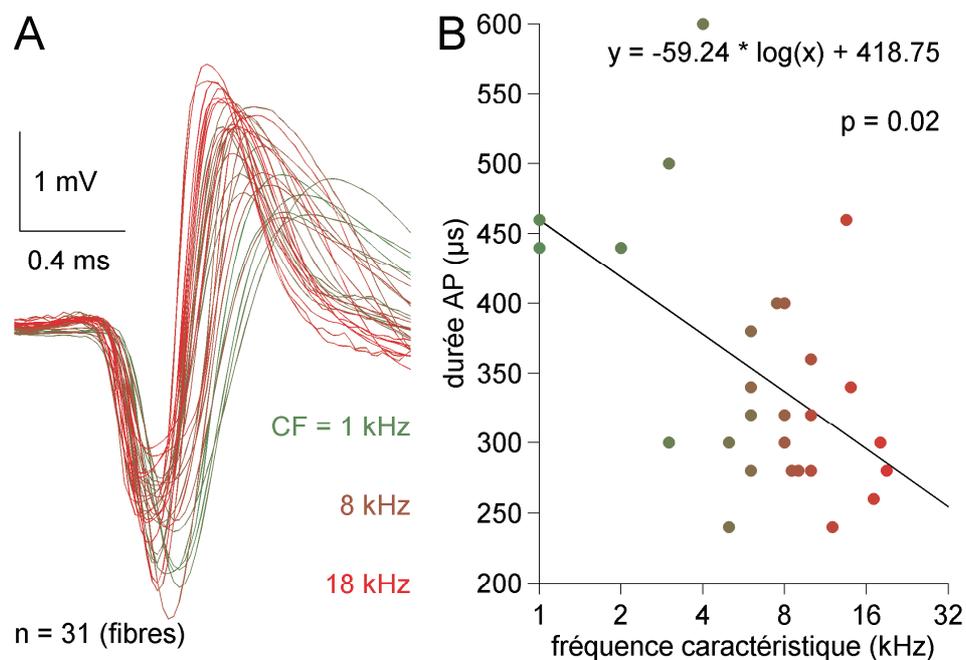
### 4.4.1 La durée des potentiels d'action le long de l'axe tonotopique

La **Figure 33-A** montre les 31 potentiels d'action extracellulaires cibles (provenant de 31 neurones auditifs primaires) en utilisant une échelle de couleur qui s'étend du vert, pour les neurones qui codent pour les sons graves (issus de l'apex), au rouge, pour les neurones qui codent pour les fréquences aiguës (issues de la base). La forme des potentiels d'action extracellulaire se caractérise par une

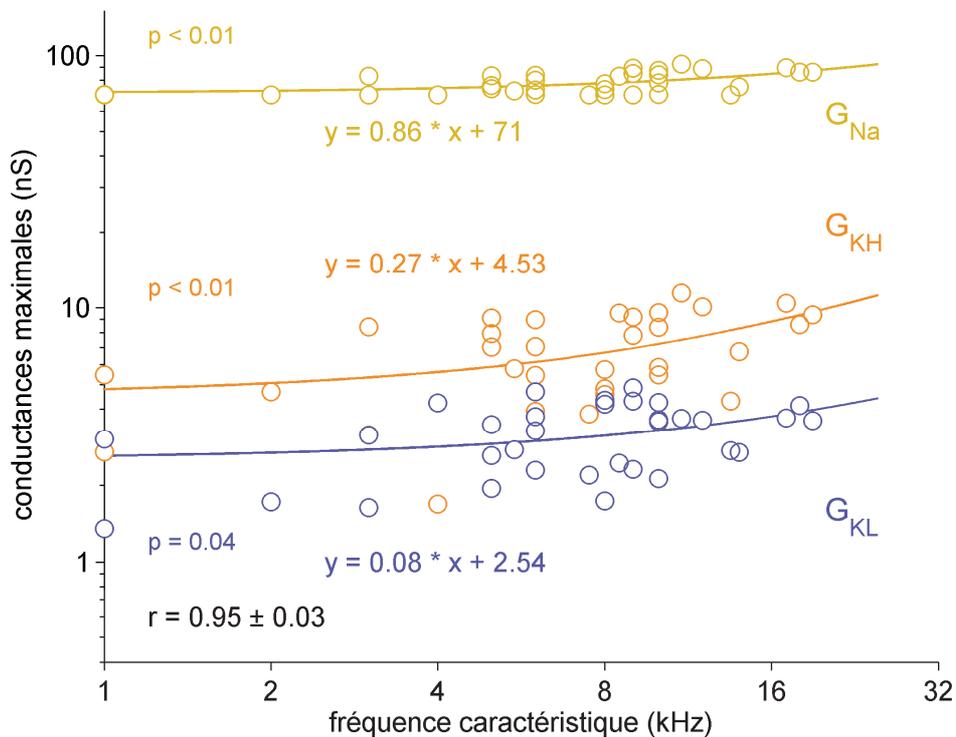
première onde négative (N) suivie d'une onde positive (P). La durée (onde N à onde P, pic à pic) du potentiel d'action extracellulaire pour chaque neurone représenté en fonction de la fréquence caractéristique montre que la durée du potentiel d'action extracellulaire diminue de 60  $\mu\text{s}$  par octave (test du coefficient de corrélation,  $p = 0.02$ ; **Figure 33-B** ).

#### 4.4.2 Gradient de conductances le long de l'axe tonotopique

La méthode d'analyse utilisée dans la **Figure 31** pour une fibre a été

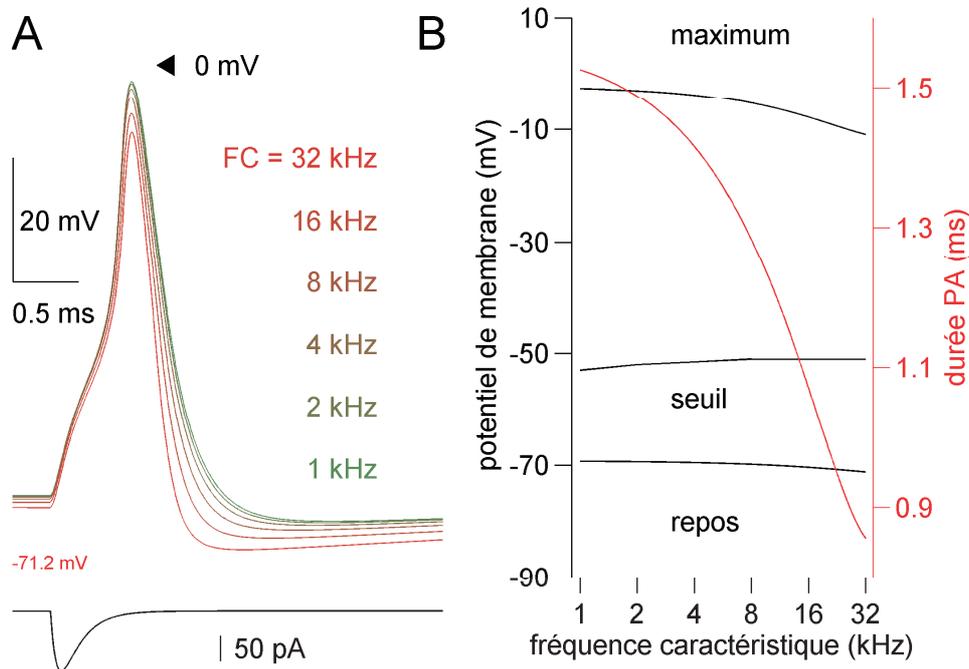


**Figure 33, Corrélation de la durée du potentiel d'action avec la fréquence caractéristique.** **A** Superposition de potentiels d'action extracellulaires moyens (au moins 200 PAE par neurone) issus de 31 neurones codant pour une fréquence comprise entre 1 et 20 kHz. **B** Durée exprimées en fonction de la fréquence caractéristique, la  $p$ -value de la corrélation montre qu'il existe une relation significativement ( $p = 0.02$ ). L'ajustement montre que la durée pic à pic diminue de 60  $\mu\text{s}$ /octave.



**Figure 34, Le gradient de conductance base/apex.** Les conductances maximales  $G_{Na}$  (jaune),  $G_{KH}$  (orange) et  $G_{KL}$  (bleue) sont exprimées en fonction de la fréquence caractéristique des neurones. Le coefficient de corrélation entre les PAE enregistrés et reconstruits est de  $0.95 \pm 0.03$ .  $G_{Na}$ ,  $G_{KH}$  et  $G_{KL}$  sont significativement corrélées avec la fréquence caractéristique ( $p = 0.01$ ,  $p = 0.04$  et  $p = 0.03$ , respectivement).

appliquée de façon systématique à chacune des 30 autres fibres. Cette analyse nous a permis d'identifier un triplet de conductances maximale ( $G_{Na}$ ,  $G_{KH}$  et  $G_{KL}$ ) offrant une qualité de reconstruction des potentiels d'action extracellulaire cible satisfaisante (coefficient de corrélation :  $r = 0.95 \pm 0.03$ ,  $n = 31$ ). Ce triplet de valeurs a ensuite été exprimé en fonction de la fréquence caractéristique des neurones (**Figure 34** avec  $G_{Na}$  en jaune,  $G_{KH}$  en orange, et  $G_{KL}$  en bleu (échelle log-log)). La distribution des conductances le long de l'axe tonotopique montre que la conductance maximale sodique ( $G_{Na}$ ) est de  $78.0 \pm 7.5$  nS, la conductance potassique à haut seuil d'activation ( $G_{KH}$ ) de  $6.7 \pm 2.5$  nS et la conductance potassique à bas seuil



**Figure 35, Reconstruction des potentiels d'action suivant l'axe tonotopique. A** Potentiels d'action reconstruits pour des FC de 1, 2, 4, 8, 16 et 32 kHz, stimulés par un CPSE auditif. Lorsque la FC augmente l'amplitude et la durée des potentiels d'action diminuent. **B** Quantification des différences de caractéristiques entre les potentiels d'action suivant l'axe tonotopique. Le potentiel de repos et le seuil de déclenchement (mesuré au minimum local de la dérivée (Rutherford, Chapochnikov et al. 2012)) est indépendant de la FC. La valeur maximale du potentiel d'action diminue de 8 mV, la durée pic à pic passe de 1.5 ms à 1 kHz à 0.85 ms à 32 kHz, ce qui correspond à une diminution d'un facteur 1.8.

d'activation ( $G_{KL}$ ) de  $3.2 \pm 1.0$  nS. En outre, les valeurs de trois conductances maximales augmentent avec la fréquence caractéristique des neurones (test du coefficient de corrélation,  $p \leq 0.04$ ). Ce résultat suggère que la différence de durée des potentiels d'action extracellulaires observée expérimentalement pourrait être due à un gradient de conductance maximale. Comme la conductance maximale dépend directement du nombre de canaux ioniques présent sur le nœud de Ranvier, ce résultat suggère que la densité de canaux, ou la surface des nœuds de Ranvier, augmente le long de l'axe tonotopique. Dans cette hypothèse, les densités de canaux sodiques, potassiques à haut seuil, potassiques à bas seuil, seraient

respectivement de 1090, 135, 73 canaux/ $\mu\text{m}^2$  pour une fibre codant pour le 1 kHz, et de 1490, 370, 144 canaux/ $\mu\text{m}^2$  pour une fibre codant pour le 32 kHz.

A partir des courbes d'ajustement des 3 conductances maximales présentées dans la **Figure 34**, nous avons simulé la forme des potentiels d'action intracellulaires lorsque la fréquence caractéristique augmente de 1 à 32 kHz (**Figure 35-A**). Pour caractériser l'influence de la fréquence caractéristique sur la forme du potentiel d'action, nous avons exprimé le potentiel de repos, le seuil de déclenchement (potentiel  $V_m$  pour lequel  $dV_m/dt$  atteint une valeur minimale sur la phase de dépolarisation, (Rutherford, Chapochnikov et al. 2012)), l'amplitude (potentiel de repos au pic), et la durée (pic à l'hyperpolarisation) en fonction de la fréquence caractéristique (**Figure 35-B**). Le résultat montre que le potentiel de repos et le seuil de déclenchement sont insensibles à la fréquence caractéristique alors que l'amplitude et la durée diminuent long de l'axe tonotopique apex/ base (-8 mV pour l'amplitude, -0.65 ms pour la durée, lorsque la fréquence varie de 1 à 32 kHz).

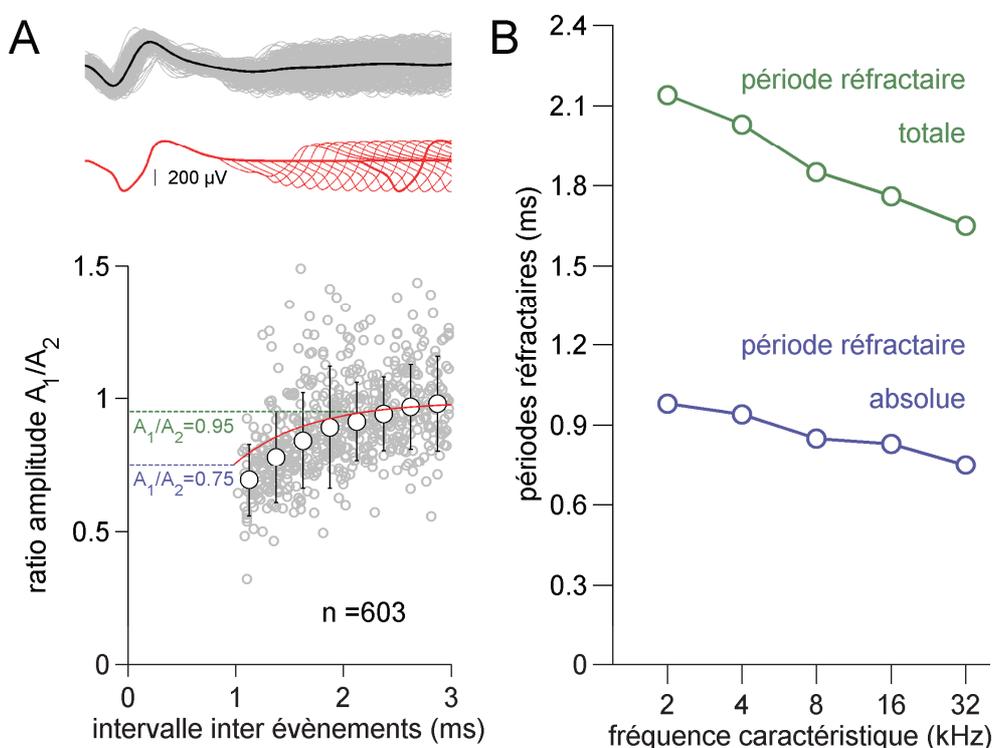
## 4.5 Propriétés du modèle

Pour valider le modèle, nous avons comparé les périodes réfractaires absolue et relative et le taux de décharge maximale observés *in vivo* à ceux obtenus en simulation.

### 4.5.1 Périodes réfractaires absolue et relative

Les périodes réfractaires des potentiels d'action ont été mesurées à partir d'un neurone auditif primaire (fréquence caractéristique = 5.5 kHz) stimulé par une bouffée tonale de forte intensité (100 dB SPL) présentée à sa fréquence caractéristique. A cette intensité, le taux de décharge du neurone est maximal (~350 PAE/sec) et l'intervalle de temps entre 2 potentiels d'action consécutifs atteint une valeur minimale. Pour estimer les périodes réfractaires absolue et relative, nous

avons superposé 603 potentiels d'action extracellulaires sur une durée de 3 ms (**Figure 36-A**) Nous avons ensuite exprimé le rapport d'amplitude du second PAE sur le premier PAE en fonction de l'intervalle de temps séparant le premier du second potentiel d'action. Lorsque ce rapport est égal à 1, l'amplitude du second potentiel d'action n'est pas affectée par la présence du premier potentiel d'action ce qui signifie que la fibre est sortie de sa période réfractaire totale (>2.5 ms, **Figure 36-A**). Lorsque ce rapport devient inférieur à 1, la fibre est dans sa période réfractaire



**Figure 36, Les périodes réfractaires expérimentales et simulées par le modèle le long de la cochlée.** **A** Panel haut : potentiels d'action extracellulaires successifs synchronisés sur le premier, *in vivo* (en noir) et reconstruits (en rouge). Panel bas : le rapport d'amplitude second potentiel d'action extracellulaire/ premier potentiel d'action extracellulaire est exprimé en fonction de l'intervalle de temps qui sépare les deux potentiels d'action extracellulaires. Pour les données en gris ; pour le modèle, ces valeurs sont ajustées avec une simple exponentielle (en rouge). **B** la période réfractaire absolue ( $A_1/A_2 = 0.75$ , en bleu) et la somme des périodes réfractaires absolue et relative ( $A_1/A_2 = 0.95$ , en vert) sont exprimées en fonction de la fréquence caractéristique, elles sont toutes deux décroissantes lorsque la fréquence augmente ( $A_1$  amplitude du premier potentiel d'action extracellulaire et  $A_2$  amplitude du second).

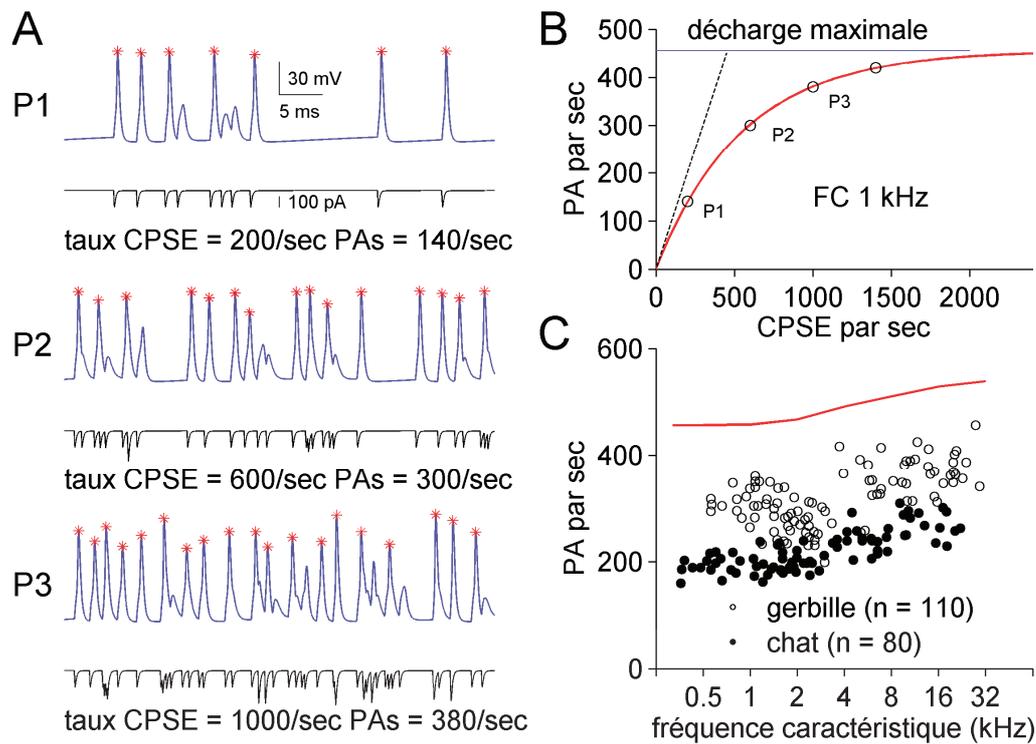
absolue + relative (1 - 2,5 ms, **Figure 36-A**). Lorsque qu'un potentiel ne peut pas être généré, la fibre est dans sa période réfractaire absolue (<1 ms, **Figure 36-A**).

La même analyse a été menée sur le modèle de nœud de Ranvier lorsque celui-ci était stimulé par un couple de courants post-synaptiques excitateurs de forte amplitude (150 pA) séparé par un intervalle de temps croissant de 0 à 3 msec par pas de 0.1 ms (**Figure 36-A**, haut, traces rouges). Le rapport d'amplitude second sur premier potentiel d'action extracellulaire suit la tendance observée *in vivo* avec des périodes réfractaires absolue et relative égale respectivement à 0.9 et 1.1 ms respectivement.

Pour étudier la sensibilité des périodes réfractaires absolue et relative le long du gradient base/apex, nous avons répété cette simulation pour des neurones de fréquence caractéristique comprise entre 2 et 32 kHz puis nous avons mesuré la période réfractaire absolue et relative pour chaque fréquence. Le résultat présenté sur la **Figure 36-B** montre que les périodes réfractaires absolue et relative diminuent lorsque la fréquence caractéristique augmente. Ce résultat est en accord avec une durée de potentiels d'action plus courte à la base de la cochlée.

#### 4.5.2 Fréquence de décharge maximale

Nous avons ensuite comparé la fréquence de décharge maximale observée expérimentalement et la fréquence de décharge maximale supportée par le modèle. Ne disposant pas de données expérimentales suffisamment importantes en nombre au laboratoire, nous avons utilisé les données publiées dans la littérature chez le chat (Liberman 1978) et la gerbille (Ohlemiller, Echteler et al. 1991). Ces études ont montré une augmentation de la fréquence maximale de décharge avec le gradient apex - base (**Figure 37-C**). Pour mesurer la fréquence de décharge maximale du modèle, nous l'avons stimulé par un train de courants post-synaptiques excitateurs



**Figure 37, Les fréquences de décharge maximales le long de la cochlée.** **A** Pour un neurone de FC de 1 kHz, le modèle est stimulé par un nombre croissant de CPSE aléatoirement répartis dans le temps (processus de Poisson). En noir les courants synaptiques, en bleu le potentiel de membrane, les étoiles représentent les potentiels d'action détectés ( $V_m > -10\text{ mV}$ ). Les graphes P1, P2 et P3 montrent des taux de PA émis de 140/sec, 300/sec et 380/sec pour des taux de stimulation des 200, 600 et 1000 CPSE/sec respectivement. **B.** Lorsque le nombre de CPSE est faible, le nombre de PA déclenchés est proche de la droite  $y = x$  (en pointillés noirs), Lorsque le nombre de CPSE augmente le nombre de PA déclenchés sature. Les points P1, P2 et P3 sont ceux montrés en A. **C.** Le taux de décharge maximal de la gerbille, du chat et du modèle sont comparés pour des fréquences allant de 500 Hz à 32 kHz, les trois sont croissants, celui du chat passe de 200 PA/s à 250 PA/s, celui de la gerbille passe de 250 PA/s à 400 PA/s, celui du modèle de 450 PA/s à 550 PA/s.

(distribués dans le temps suivant un processus de Poisson) présentés à une fréquence variant de 0 à 2500 pulse/s (La **Figure 37-A**). Lorsque la fréquence des courants est inférieure à 100 courants /s, le modèle génère un potentiel d'action pour un courant post-synaptique (taux de conversion supérieur à 70%), au delà de 200 courants/s le taux de conversion est inférieur à 70% (la fréquence de décharge

s'éloigne de la droite  $y = x$ , dans la **Figure 37-B**). Au delà de 2000 courants/s, le nombre de potentiels d'action sature à 450 PA/s.

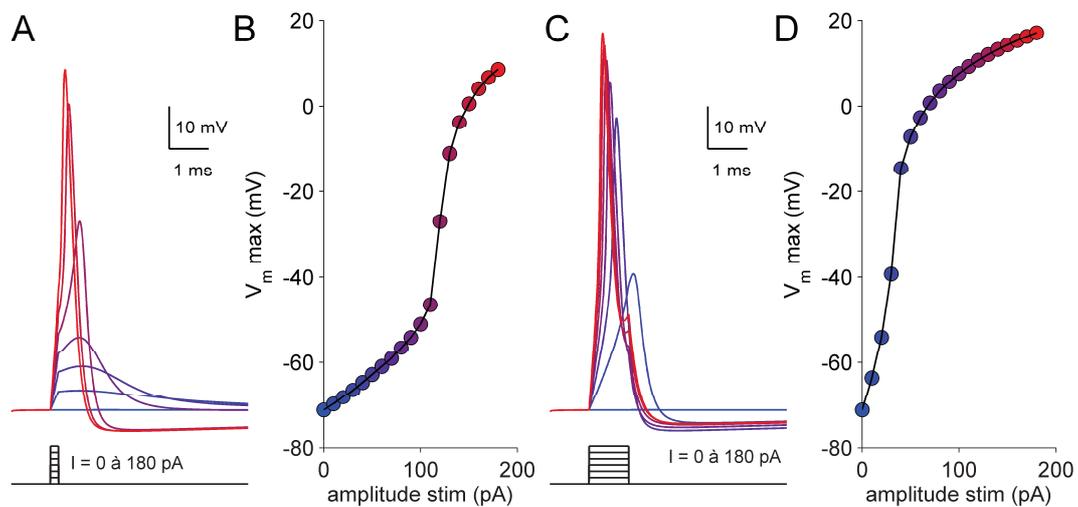
Le taux de PA par seconde en fonction de la fréquence de stimulation en courants /s (**Figure 37-B**) suit une fonction exponentielle  $y = 450(1 - e^{-x/x_0})$  avec  $x_0 = 550$  pulses/s (pour une fréquence caractéristique de 1 kHz). Lorsque cette analyse à été reconduite pour des fibres de fréquence caractéristique comprise entre 1 et 32 kHz, la fréquence de décharge supportée par le modèle variait de 450 à 530 PA/sec (trace rouge, **Figure 37-C**). Cette courbe délimite les données expérimentales par excès ce qui montre que la zone de fonctionnement du modèle est compatible avec les données expérimentales.

#### 4.5.3 Effet de la stimulation en courant imposé type implant cochléaire

Dans cette partie, nous avons étudié l'influence de l'amplitude et la durée des pulses de courant ainsi que l'impact de la charge en courant sur le seuil de déclenchement du potentiel d'action. Cette question est capitale pour la stimulation électrique des neurones auditifs primaires par l'implant cochléaire. La **Figure 38** montre la réponse du modèle à des impulsions de courant courtes (durée 200  $\mu$ s) ou longue (durée 1 ms) pour des amplitudes comprises entre 0 et 180 pA. Pour des impulsions de 200  $\mu$ s (**Figure 38-A**), le modèle génère un potentiel d'action lorsque l'amplitude du courant atteint 130 pA (**Figure 38-B**). Pour des impulsions plus longues (**Figure 38-C**), l'amplitude nécessaire pour déclencher un potentiel d'action n'est que de 40 pA (**Figure 38-D**). Il faut noter que quelque soit la forme de l'impulsion, le seuil de déclenchement en tension reste égal à  $\sim$ -50 mV.

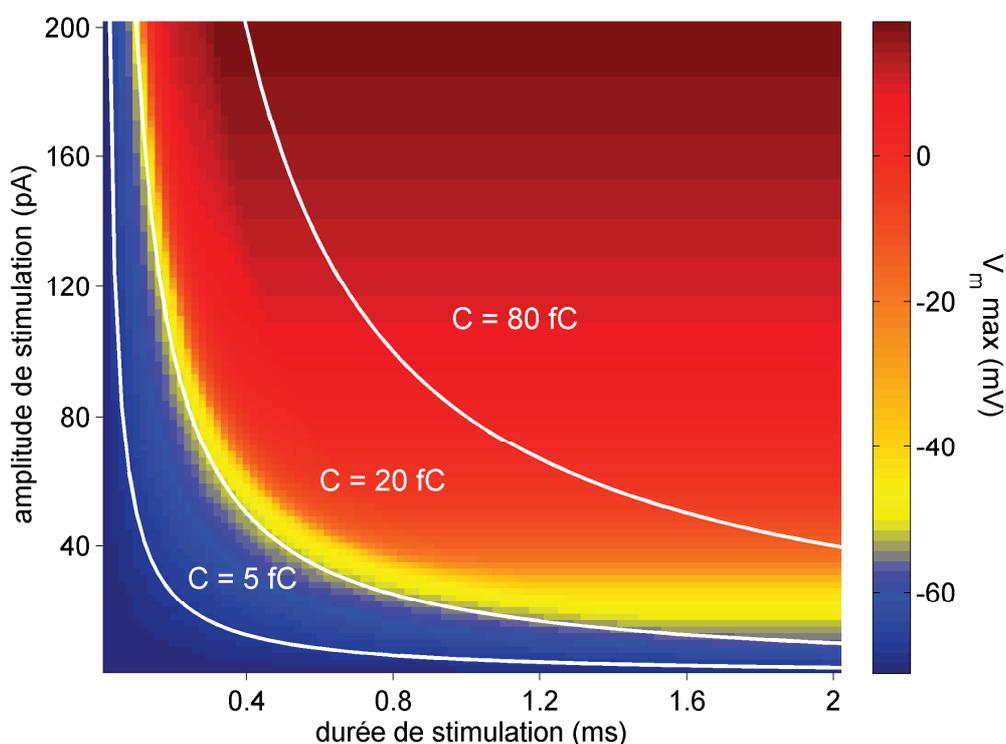
Le compromis amplitude/durée peut être éludé en considérant la charge en courant qui équivaut simplement, dans le cas d'une impulsion monophasique, à

l'amplitude multipliée par la durée. Pour cela, nous avons reproduit l'expérience réalisée dans la **Figure 38** pour des durées de stimulation comprises entre 0 et 2 ms par pas de 20  $\mu$ s. Pour chaque durée de stimulation, nous avons calculé l'amplitude de la réponse du modèle en mV lorsque l'amplitude augmentait de 0 à 200 pA par pas de 2 pA puis nous l'avons visualisée sous la forme d'une image couleur (**Figure 39**). Dans cette représentation, le bleu correspond à des réponses dont l'amplitude est de l'ordre de -60 mV c'est-à-dire  $\sim$  15 mV au dessus du potentiel de repos, il ne s'agit donc pas d'un potentiel d'action. La courbe rouge correspond à des amplitudes élevées ( $>$  -10 mV) révélatrice de la génération d'un potentiel d'action. Le jaune correspond à la zone du seuil de déclenchement d'un potentiel d'action (amplitude autour de -50 mV).



**Figure 38, Influence de la durée et de l'amplitude de l'impulsion sur le déclenchement du potentiel d'action.** **A.** Réponse du modèle à une impulsion courte (durée = 200  $\mu$ s) d'amplitude comprise entre 0 et 180 pA. **B.** Amplitude de la réponse en fonction de l'amplitude de la stimulation. L'échelle de couleur de bleu à rouge est identique en A et en B. **C.** Réponse du modèle à une impulsion longue (durée = 1 ms) d'amplitude comprise entre 0 et 180 pA. **D.** Amplitude de la réponse en fonction de l'amplitude de la stimulation. L'échelle de couleur de bleu à rouge est identique en C et en D.

Sur ce graphique, trois courbes isocharges ont été affichées en blanc. Pour la première situation,  $C = 5$  fC, les pulses ne déclenchent jamais de potentiels d'action. Pour la troisième situation,  $C = 80$  fC, le modèle génère toujours un potentiel d'action. La situation intermédiaire  $C = 20$  fC correspond à la situation critique où la stimulation est proche du seuil de déclenchement. Il est intéressant d'observer que la courbe isocharge  $C = 20$  fC suit parfaitement la courbe de seuil pour des durées de stimulation comprises entre 0.1 et 1.5 ms. Au delà de 1.5 ms, la courbe de seuil



**Figure 39, Influence de l'amplitude et de la durée de stimulation sur le déclenchement du potentiel d'action.** Ce graphe représente l'amplitude de la réponse du modèle (amplitude mesurée du potentiel de repos au pic de la réponse, échelle de couleur à droite) en fonction de la durée (en abscisse) et de l'amplitude de l'impulsion (en ordonnée). La région bleue correspond aux réponses du modèle dont l'amplitude est inférieure à -50 mV (pas de déclenchement de PA), la région rouge aux réponses supérieures à 0 mV (déclenchement d'un PA), le jaune correspond à -50 mV, le seuil de déclenchement du PA. Les courbes blanches sont les courbes isocharges  $C=5, 20, 80$  fC.

s'écarte de la courbe isocharge ce qui signifie qu'il faudrait dans cette région augmenter l'amplitude de la stimulation de quelques pA pour déclencher un potentiel d'action.

Cette forme de représentation est particulièrement intéressante dans le contexte de la stimulation électrique *via* l'implant cochléaire car elle fournit un « abaque fonctionnel » à l'aide duquel les ingénieurs électroniciens peuvent prédire la quantité de charge nécessaire et suffisante pour déclencher des trains de potentiels d'action dans les fibres du nerf auditif.

Selon l'hypothèse où un potentiel d'action est déclenché lorsque la valeur du potentiel de membrane dépasse -50 mV, valeur du seuil, l'expérience montre qu'un potentiel d'action est déclenché pour des impulsions courtes ( $< 0.2$  ms) pour peu que l'amplitude de stimulation soit suffisamment importante ( $> 150$  pA) et pour des amplitudes relativement faibles ( $< 20$  pA) pour peu que la durée soit suffisamment longue ( $> 1.5$  ms). Le déclenchement du potentiel d'action semble plus dépendre de la charge de l'impulsion que de son amplitude ou sa durée.

## 5 Discussion

Au cours de ce travail, nous avons identifié les conductances ioniques responsables de l'émission des potentiels d'action des neurones auditifs primaires. La présence d'un courant sodique entrant rapide et de 2 courants potassiques (l'un activé à -60 mV, l'autre plus rapide est activé à -45 mV) explique à la fois, i) la génération des potentiels d'action, ii) leur période réfractaire (absolue et relative), iii) la fréquence de décharge maximale des neurones, et iv) un gradient base/apex de la durée des potentiels d'action. Le travail d'analyse a été mené en simulation au moyen de modèles mathématiques qui ont été évalués et validés en les comparant avec des données expérimentales. Outre la compréhension des mécanismes fondamentaux du codage de l'information sonore, le modèle de nœud de Ranvier que nous avons développé présente aussi des applications prothétiques (réhabilitation de l'audition par l'implant cochléaire).

### 5.1 Courants ioniques à l'origine des potentiels d'action

#### 5.1.1 Courants sodiques

Nous avons identifié une conductance sodique rapide exprimée par les neurones auditifs primaires. Les propriétés biophysiques de la conductance sodique des corps cellulaires isolés sont comparables à celles observées sur des neurones auditifs maintenus en culture (Lin 1997), ce qui suggère que i) l'isolation mécanique n'altère pas les canaux sodiques et ii) notre méthode d'analyse reproduit fidèlement les caractéristiques de cette conductance. En outre, le courant sodique des neurones auditifs est similaire à celui des neurones de la voie auditive (Wang, Gan et al. 1998), du nerf sciatique (Schwarz and Eikhof 1987), ou du cerveau ((Costa 1996),

(Fernandez, Mehaffey et al. 2005), (Mercer, Chan et al. 2007)). Avec des constantes des temps d'activation et d'inactivation inférieures respectivement à 0.4 et 2 ms, les courants sodiques des neurones auditifs primaires sont parmi les plus rapides.

L'observation en microscopie confocale a montré une forte expression de la sous-unité Nav1.6 dans les nœuds de Ranvier (Hossain, Antic et al. 2005; Fryatt, Vial et al. 2009). Cette dernière pourrait donc être responsable du déclenchement de potentiels d'action. En revanche, l'inactivation très lente de la sous-unité Nav1.7 (Herzog, Cummins et al. 2003), qui semble être exprimée par les neurones auditifs (Fryatt, Vial et al. 2009), ne lui permettrait pas de contribuer aux courants sodiques des neurones auditifs primaires.

### 5.1.2 Courants potassiques

Nous avons identifié deux conductances potassiques exprimées par les neurones auditifs primaires. La présence de ces deux conductances potassiques a également été observée sur des corps cellulaires fraîchement isolés (Szabo, Harasztosi et al. 2002) ou placés en culture (Mo and Davis 1997; Mo, Adamson et al. 2002). A l'inverse, nous n'avons pas identifié de courant de type  $I_{KA}$ . Ce dernier a été observé dans des neurones dont la dissociation reposait sur l'utilisation d'enzymatique (enzymes collagenase et pronase), à l'inverse de notre préparation (dissociation mécanique). L'utilisation d'enzymes pourrait être à l'origine de l'inactivation d'une fraction des courants potassiques. En outre, l'observation du courant de type  $I_{KA}$  sur des tranches de cochlée pourrait refléter son expression au cours du développement (Jagger and Housley 2002). La composante activée à haut seuil ( $I_{KH}$ ) dans notre étude correspond au courant potassique à haut seuil classique (Frankenhaeuser and Huxley 1964). Il faut préciser que la composante activée à bas seuil ( $I_{KL}$ ) s'inactive dans les neurones du noyau cochléaire (Rothman and Manis

2003; Rothman and Manis 2003; Rothman and Manis 2003; McGinley, Liberman et al. 2012).

Il est important de noter que ces deux composantes potassiques sont fréquemment co-exprimées dans des neurones à haute fréquence de décharge (Fernandez, Mehaffey et al. 2005). Sur le plan fonctionnel, la composante lente à bas seuil d'activation ( $\tau < 4.9$  ms) contrôlerait l'excitabilité du neurone (Dodson and Forsythe 2004) alors que la composante à haut seuil plutôt rapide ( $\tau < 2.5$  ms) permettrait de repolariser rapidement la membrane après le déclenchement d'un potentiel d'action. Les courants activés à haut seuil seraient formés par les canaux de la famille des Kv3 (Kv3.1, Kv3.2 et Kv3.4) et les canaux potassiques activés à bas seuil de la famille des Kv1 (Kv1.1, Kv1.2 et Kv1.6) ((Adamson, Reid et al. 2002), (Bakondi, Por et al. 2008)).

### **5.1.3 Courants activés par hyperpolarisation et courants calciques**

Nos simulations ont montré qu'en absence de courant  $I_h$  et de courant calcique  $I_{Ca}$ , le modèle de corps cellulaire reproduit fidèlement la réponse de la cellule à des sauts de courant ou de potentiel. Ce résultat suggère donc que ces 2 courants observés expérimentalement par (Hisashi, Nakagawa et al. 1995; Chen 1997) ne sont pas nécessaires dans la réponse électrophysiologique. Les courants activés par hyperpolarisation ne participent pas à la forme du potentiel d'action compte tenu probablement de leur constante de temps très élevée (Chen 1997). Ces courants pourraient être impliqués dans le mécanisme de régulation du potentiel de repos du bouton synaptique d'autant que leur activité pourrait être rétro-contrôlée par le système efférent latéral (Yi, Roux et al. 2010). Enfin, les courants calciques

dépendants du voltage (Hisashi, Nakagawa et al. 1995), qui ne participent pas à la forme du potentiel d'action, pourraient être impliqués dans la régulation transcriptionnelle et dans la plasticité synaptique (Chen, Xue et al. 2011).

## **5.2 Propriétés électrophysiologiques des neurones auditifs primaires**

### **5.2.1 Déclenchement des potentiels d'action**

Les densités en canaux ioniques par nœud de Ranvier sont déterminantes dans le processus d'initiation et de conduction saltatoire des potentiels d'action (Poliak and Peles 2003). Nous avons montré que les densités de canaux devaient approcher  $\sim 1300$  canaux/ $\mu\text{m}^2$  pour le courant sodique,  $\sim 250$  canaux/ $\mu\text{m}^2$  pour le courant potassique à bas seuil, et  $\sim 100$  canaux/ $\mu\text{m}^2$  pour le courant potassique à haut seuil. Ce qui signifie que pour qu'un nœud de Ranvier génère un potentiel d'action, le rapport de densités ( $d_{\text{Na}}/(d_{\text{KL}}+d_{\text{KH}})$ ) doit être proche de  $\sim 4$  en faveur du sodium. Ce résultat pourrait expliquer l'absence de potentiel d'action dans des corps cellulaires isolés à l'inverse de ceux maintenus en culture. En effet, un corps cellulaire fraîchement isolé ne génèrent pas de potentiels d'action car le rapport de densités est proche de  $\sim 1$  d'après notre étude. En revanche, lorsque les corps cellulaires sont placés en culture, la forte expression de canaux sodiques modifie le rapport de densité permettant ainsi l'émission des potentiels d'action (Lin 1997).

### **5.2.2 Périodes réfractaires, fréquence maximale de décharge, et gradient base/apex**

Les neurones auditifs primaires sont caractérisés par une fréquence de décharge élevée  $\sim 400$  Hz et une période réfractaire courte ( $< 2.5$  ms, périodes réfractaires absolue + relative) (Liberman 1978; Ohlemiller, Echteler et al. 1991).

Cette propriété est essentielle au neurone pour assurer le mécanisme de verrouillage de phase avec la stimulation sonore. Nos résultats suggèrent que la mise en jeu du courant sodique  $I_{Na}$  et les 2 courants potassiques  $I_{KL}$  et  $I_{KH}$  sont suffisantes pour assurer un haut taux de décharge.

Notre étude montre que la durée des potentiels d'action extracellulaires augmente de +60  $\mu$ s/octave de la base à l'apex. Ce résultat suggère que les neurones qui innervent la base de la cochlée génèrent des potentiels d'action plus courts que les neurones qui innervent l'apex. Cette propriété pourrait permettre aux neurones dont la fréquence caractéristique est supérieure à 3 kHz, de continuer à coder les sons en verrouillage de phase (Taberner and Liberman 2005). Ce résultat est en accord avec une étude menée en culture (Adamson, Reid et al. 2002) dans laquelle il a été montré que les neurones prélevés à la base génèrent des potentiels d'action plus courts ( $1.5 \pm 0.1$  ms) que ceux prélevés à l'apex ( $2.3 \pm 0.3$  ms, température: 19-22 °C). Cette différence base/apex pourrait provenir d'un gradient de densité en canaux potassiques (Mo, Adamson et al. 2002). Il a également été montré que les neurones de la base ont une amplitude plus petite que ceux de l'apex ce qui est également en accord avec nos résultats (Adamson, Reid et al. 2002). Ici encore, la densité des canaux suffit à expliquer une différence d'amplitude.

### 5.3 Stimulation électrique

L'implant cochléaire est un dispositif qui permet de restituer une audition chez des patients sourds en stimulant électriquement les neurones du nerf auditif. Un implant cochléaire délivre des trains d'impulsions électriques qui vont initier, à distance, des potentiels d'action au niveau des nœuds de Ranvier. La forme des impulsions et la cadence de stimulation constituent des paramètres importants dans la stratégie de stimulation. Ces paramètres pourtant cruciaux pour la réussite

prothétique d'une implantation sont réglés empiriquement en fonction du ressenti du patient.

Le modèle de nœud de Ranvier développé au cours de cette thèse constitue un outil qui pourra permettre de tester et d'optimiser les stratégies de stimulation. Dans cette thèse, nous avons étudié l'influence de la charge sur le déclenchement du potentiel d'action. Nos résultats ont montré que le seuil de déclenchement du potentiel d'action est sensible uniquement à la charge. En outre, la quantité de charge suffisante pour initier un potentiel d'action est de l'ordre de  $\sim 20$  fC. Cette valeur définit une zone préférentielle pour les fabricants d'implant afin d'élaborer une stratégie de stimulation optimisée (stimulation sélective des neurones, limitation des stimulations trop fortes, économie de la consommation électrique du processeur).

#### **5.4 Algorithme d'identification**

Un algorithme d'identification des conductances a été développé au laboratoire au cours de cette thèse. Cet algorithme qui s'inspire des travaux de Willms et collaborateurs (Willms, Baro et al. 1999; Izhikevich 2003), peut être appliqué de façon systématique à des courants évoqués par des protocoles de patch-clamp dépolarisants, ou polarisants, voire les 2 simultanément (dans le cas où les 2 protocoles ont été appliqués à la même cellule). Pour configurer l'algorithme, l'utilisateur doit fixer 3 paramètres, *i*) la zone de recherche (en spécifiant une valeur centrale et une dispersion autour de cette valeur centrale pour chaque paramètre du modèle), *ii*) le nombre d'essais (une initialisation différente par essai), *iii*) le nombre d'itérations par essai. Les évaluations menées en simulation ont montré que l'algorithme était très fiable. Pour une zone de recherche de  $\pm 50\%$ , 20 essais, et 1000 itérations par essai, l'erreur entre les courbes caractéristiques cibles et identifiées était inférieure à 1%. L'implémentation en routine de cet algorithme dans

un environnement de patch-clamp pourrait permettre aux électrophysiologistes d'analyser de façon systématique et en temps-réel leurs résultats.

### **5.5 Modèle de neurone**

La plupart des modèles mathématiques de neurones auditifs primaires (Frijns, de Snoo et al. 1995; Matsuoka, Rubinstein et al. 2001; Mino, Rubinstein et al. 2004; Woo, Miller et al. 2009; Woo, Miller et al. 2009) utilisent le courant sodique mesuré sur le nerf sciatique de rat et le courant potassique mesuré chez la grenouille ou le calmar (Schwarz and Eikhof 1987). Tous ces modèles pourraient rapidement être mis à jour avec le courant sodique et les courants potassiques mesurés sur le nerf auditif du cochon d'Indes adulte.

## 6 Conclusion et perspectives

Au cours de cette thèse, nous avons identifié les conductances ioniques impliquées dans la génération des potentiels d'action des neurones auditifs primaires. Le modèle développé ouvre de nombreuses perspectives. Ce modèle stimulant par des courants post-synaptiques excitateurs évoqués par la libération de glutamate permettrait d'étudier le couplage fonctionnel entre mécanismes pré-synaptiques et post-synaptiques. Une modélisation complète du processus de neurotransmission permettrait par exemple de comprendre le mécanisme de codage de l'intensité sonore.

Nous pourrions étudier en simulation l'effet d'une libération multi-vésiculaire coordonnée ou non-coordonnée (Grant et al, J Neurosci. 2010) sur le déclenchement des potentiels d'action. Il serait alors possible de déterminer si la sensibilité d'un neurone à l'intensité sonore dépend du mode de libération du neurotransmetteur (libération coordonnée pour les neurones à seuil d'activation bas ; libération non-coordonnée pour les neurones à haut seuil d'activation).

Nous pourrions aussi étudier l'effet d'un allongement du segment initial sur le déclenchement des potentiels d'action. Comme le montre une étude récente (Kuba, Oichi et al. 2010), dans un contexte de privation sensorielle conduisant à une perte d'activité pré-synaptique, le neurone compense la diminution de l'entrée sensorielle par une plus grande sensibilité due à l'augmentation de la longueur du segment initial (en adressant massivement des canaux sodiques à la membrane). Ce mécanisme pourrait tout à fait expliquer l'apparition d'acouphènes après une surdité.

Le modèle de segment initial pourrait aussi permettre d'étudier le rétrocontrôle exercé par le système efférent latéral (Ruel, J., R. Nouvian, et al. 2001) dont les

nombreux neurotransmetteurs influenceraient les paramètres des conductances responsables du déclenchement du potentiel d'action (Chen, 1997 ; Yi, 2010).

Enfin, dans le contexte de la stimulation électrique, ce modèle complété par un modèle morphologique de cochlée (Goldwyn, 2010), pourrait permettre d'optimiser les stratégies de stimulation avec notamment le problème de la forme de l'impulsion et la question de la cadence de stimulation.

## Bibliographie

Adamson, C. L., M. A. Reid, et al. (2002). "Firing features and potassium channel content of murine spiral ganglion neurons vary with cochlear location." J Comp Neurol **447**(4): 331-350.

Bakondi, G., A. Por, et al. (2008). "Voltage-gated K<sup>+</sup> channel (Kv) subunit expression of the guinea pig spiral ganglion cells studied in a newly developed cochlear free-floating preparation." Brain Res **1210**: 148-162.

Bean, B. P. (2007). "The action potential in mammalian central neurons." Nat Rev Neurosci **8**(6): 451-465.

Benser, M. E., R. E. Marquis, et al. (1996). "Rapid, active hair bundle movements in hair cells from the bullfrog's sacculus." J Neurosci **16**(18): 5629-5643.

Beurg, M., R. Fettiplace, et al. (2009). "Localization of inner hair cell mechanotransducer channels using high-speed calcium imaging." Nat Neurosci **12**(5): 553-558.

Blanchet, C., C. Erostequi, et al. (1996). "Acetylcholine-induced potassium current of guinea pig outer hair cells: its dependence on a calcium influx through nicotinic-like receptors." J Neurosci **16**(8): 2574-2584.

Bobbin, R. P. and T. Konishi (1971). "Acetylcholine mimics crossed olivocochlear bundle stimulation." Nat New Biol **231**(24): 222-223.

Bourien, J., J. Ruel, et al. (2007). "Comparison of three spike detectors dedicated to single unit action potentials of the auditory nerve." Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc **2007**: 1430-1433.

Brandt, A., J. Striessnig, et al. (2003). "Ca<sub>v</sub>1.3 channels are essential for development and presynaptic activity of cochlear inner hair cells." J Neurosci **23**(34): 10832-10840.

Brismar, T. (1980). "Potential clamp analysis of membrane currents in rat myelinated nerve fibres." J Physiol **298**: 171-184.

Brownell, W. E., C. R. Bader, et al. (1985). "Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair cells." Science **227**(4683): 194-196.

Cao, X. J. and D. Oertel (2005). "Temperature affects voltage-sensitive conductances differentially in octopus cells of the mammalian cochlear nucleus." J Neurophysiol **94**(1): 821-832.

- Cartee, L. A. (2000). "Evaluation of a model of the cochlear neural membrane. II: comparison of model and physiological measures of membrane properties measured in response to intrameatal electrical stimulation." Hear Res **146**(1-2): 153-166.
- Casti, A. R., A. Omurtag, et al. (2002). "A population study of integrate-and-fire-or-burst neurons." Neural Comput **14**(5): 957-986.
- Chen, C. (1997). "Hyperpolarization-activated current (I<sub>h</sub>) in primary auditory neurons." Hear Res **110**(1-2): 179-190.
- Chen, W. C., H. Z. Xue, et al. (2011). "Complex distribution patterns of voltage-gated calcium channel alpha-subunits in the spiral ganglion." Hear Res **278**(1-2): 52-68.
- Clay, J. R. and L. J. DeFelice (1983). "Relationship between membrane excitability and single channel open-close kinetics." Biophys J **42**(2): 151-157.
- Cohen-Salmon, M., A. El-Amraoui, et al. (1997). "Otogelin: a glycoprotein specific to the acellular membranes of the inner ear." Proc Natl Acad Sci U S A **94**(26): 14450-14455.
- Costa, P. F. (1996). "The kinetic parameters of sodium currents in maturing acutely isolated rat hippocampal CA1 neurones." Brain Res Dev Brain Res **91**(1): 29-40.
- Crawford, A. C. and R. Fettiplace (1985). "The mechanical properties of ciliary bundles of turtle cochlear hair cells." J Physiol **364**: 359-379.
- Dallos, P. (1992). "The active cochlea." J Neurosci **12**(12): 4575-4585.
- Denk, W. and W. W. Webb (1992). "Forward and reverse transduction at the limit of sensitivity studied by correlating electrical and mechanical fluctuations in frog saccular hair cells." Hear Res **60**(1): 89-102.
- Dodson, P. D. and I. D. Forsythe (2004). "Presynaptic K<sup>+</sup> channels: electrifying regulators of synaptic terminal excitability." Trends Neurosci **27**(4): 210-217.
- Elgoyhen, A. B., D. S. Johnson, et al. (1994). "Alpha 9: an acetylcholine receptor with novel pharmacological properties expressed in rat cochlear hair cells." Cell **79**(4): 705-715.
- Elgoyhen, A. B., D. E. Vetter, et al. (2001). "alpha10: a determinant of nicotinic cholinergic receptor function in mammalian vestibular and cochlear mechanosensory hair cells." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(6): 3501-3506.
- ErosteGUI, C., A. P. Nenov, et al. (1994). "Acetylcholine activates a K<sup>+</sup> conductance permeable to Cs<sup>+</sup> in guinea pig outer hair cells." Hear Res **81**(1-2): 119-129.
- Evans, M. G. (1996). "Acetylcholine activates two currents in guinea-pig outer hair cells." J Physiol **491** ( Pt 2): 563-578.

Eybalin, M. (1993). "Neurotransmitters and neuromodulators of the mammalian cochlea." Physiol Rev **73**(2): 309-373.

Fernandez, F. R., W. H. Mehaffey, et al. (2005). "High-threshold K<sup>+</sup> current increases gain by offsetting a frequency-dependent increase in low-threshold K<sup>+</sup> current." J Neurosci **25**(2): 363-371.

Fettiplace, R. and C. M. Hackney (2006). "The sensory and motor roles of auditory hair cells." Nat Rev Neurosci **7**(1): 19-29.

Fitzhugh, R. (1962). "Computation of impulse initiation and saltatory conduction in a myelinated nerve fiber." Biophys J **2**: 11-21.

Frank, T., D. Khimich, et al. (2009). "Mechanisms contributing to synaptic Ca<sup>2+</sup> signals and their heterogeneity in hair cells." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(11): 4483-4488.

Frankenhaeuser, B. and A. F. Huxley (1964). "The Action Potential in the Myelinated Nerve Fiber of *Xenopus Laevis* as Computed on the Basis of Voltage Clamp Data." J Physiol **171**: 302-315.

Frijns, J. H., S. L. de Snoo, et al. (1995). "Potential distributions and neural excitation patterns in a rotationally symmetric model of the electrically stimulated cochlea." Hear Res **87**(1-2): 170-186.

Froehlich, P., L. Collet, et al. (1990). "[Effect of attention on audition. Contribution of the study of the olivocochlear efferent system]." Ann Otolaryngol Chir Cervicofac **107**(8): 519-520.

Fryatt, A. G., C. Vial, et al. (2009). "Voltage-gated sodium channel expression in rat spiral ganglion neurons." Mol Cell Neurosci **42**(4): 399-407.

Fuchs, P. A. and B. W. Murrow (1992). "Cholinergic inhibition of short (outer) hair cells of the chick's cochlea." J Neurosci **12**(3): 800-809.

Gerstner, W. (2006). Spiking Neuron Model, Cambridge.

Glowatzki, E. and P. A. Fuchs (2002). "Transmitter release at the hair cell ribbon synapse." Nat Neurosci **5**(2): 147-154.

Grant, L., E. Yi, et al. (2010). "Two modes of release shape the postsynaptic response at the inner hair cell ribbon synapse." J Neurosci **30**(12): 4210-4220.

Grothe, B., M. Pecka, et al. (2010). "Mechanisms of sound localization in mammals." Physiol Rev **90**(3): 983-1012.

He, D. Z., S. Jia, et al. (2004). "Mechano-electrical transduction of adult outer hair cells studied in a gerbil hemicochlea." Nature **429**(6993): 766-770.

Herzog, R. I., T. R. Cummins, et al. (2003). "Distinct repriming and closed-state inactivation kinetics of Nav1.6 and Nav1.7 sodium channels in mouse spinal sensory neurons." J Physiol **551**(Pt 3): 741-750.

Hille, B. (1991). Ionic Channels of Excitable Membrane.

Hisashi, K., T. Nakagawa, et al. (1995). "Voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels in the spiral ganglion cells of guinea pig cochlea." Hear Res **91**(1-2): 196-201.

Hodgkin, A. L. and A. F. Huxley (1952). "A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve." J Physiol **117**(4): 500-544.

Hossain, W. A., S. D. Antic, et al. (2005). "Where is the spike generator of the cochlear nerve? Voltage-gated sodium channels in the mouse cochlea." J Neurosci **25**(29): 6857-6868.

Housley, G. D. and J. F. Ashmore (1991). "Direct measurement of the action of acetylcholine on isolated outer hair cells of the guinea pig cochlea." Proc Biol Sci **244**(1310): 161-167.

Howard, J. and A. J. Hudspeth (1987). "Mechanical relaxation of the hair bundle mediates adaptation in mechano-electrical transduction by the bullfrog's saccular hair cell." Proc Natl Acad Sci U S A **84**(9): 3064-3068.

Huang, G. and J. Santos-Sacchi (1994). "Motility voltage sensor of the outer hair cell resides within the lateral plasma membrane." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(25): 12268-12272.

Issa, N. P. and A. J. Hudspeth (1994). "Clustering of Ca<sup>2+</sup> channels and Ca(2+)-activated K<sup>+</sup> channels at fluorescently labeled presynaptic active zones of hair cells." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(16): 7578-7582.

Issa, N. P. and A. J. Hudspeth (1996). "The entry and clearance of Ca<sup>2+</sup> at individual presynaptic active zones of hair cells from the bullfrog's sacculus." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(18): 9527-9532.

Izhikevich, E. (2003). Dynamical Systems in Neuroscience, The geometry of Excitability and Bursting. Cambridge.

Izhikevich, E. M. (2003). "Simple model of spiking neurons." IEEE Trans Neural Netw **14**(6): 1569-1572.

Izhikevich, E. M. (2004). "Which model to use for cortical spiking neurons?" IEEE Trans Neural Netw **15**(5): 1063-1070.

Izhikevich, E. M. and G. M. Edelman (2008). "Large-scale model of mammalian thalamocortical systems." Proc Natl Acad Sci U S A **105**(9): 3593-3598.

- Jagger, D. J. and G. D. Housley (2002). "A-type potassium currents dominate repolarisation of neonatal rat primary auditory neurones in situ." Neuroscience **109**(1): 169-182.
- Kawase, T. and M. C. Liberman (1992). "Spatial organization of the auditory nerve according to spontaneous discharge rate." J Comp Neurol **319**(2): 312-318.
- Kazmierczak, P., H. Sakaguchi, et al. (2007). "Cadherin 23 and protocadherin 15 interact to form tip-link filaments in sensory hair cells." Nature **449**(7158): 87-91.
- Kennedy, H. J., A. C. Crawford, et al. (2005). "Force generation by mammalian hair bundles supports a role in cochlear amplification." Nature **433**(7028): 880-883.
- Khimich, D., R. Nouvian, et al. (2005). "Hair cell synaptic ribbons are essential for synchronous auditory signalling." Nature **434**(7035): 889-894.
- Kiang, N. Y., J. M. Rho, et al. (1982). "Hair-cell innervation by spiral ganglion cells in adult cats." Science **217**(4555): 175-177.
- Knirsch, M., N. Brandt, et al. (2007). "Persistence of Ca(v)1.3 Ca<sup>2+</sup> channels in mature outer hair cells supports outer hair cell afferent signaling." J Neurosci **27**(24): 6442-6451.
- Kozlov, A. S., T. Risler, et al. (2007). "Coherent motion of stereocilia assures the concerted gating of hair-cell transduction channels." Nat Neurosci **10**(1): 87-92.
- Krinskii, V. I. and M. Kokoz lu (1973). "Analysis of the equations of excitable membranes. I. Reduction of the Hodgkins-Huxley equations to a 2d order system." Biofizika **18**(3): 506-511.
- Kros, C. J. and A. C. Crawford (1990). "Potassium currents in inner hair cells isolated from the guinea-pig cochlea." J Physiol **421**: 263-291.
- Kuba, H., Y. Oichi, et al. (2010). "Presynaptic activity regulates Na(+) channel distribution at the axon initial segment." Nature **465**(7301): 1075-1078.
- Kujawa, S. G., T. J. Glatke, et al. (1993). "Contralateral sound suppresses distortion product otoacoustic emissions through cholinergic mechanisms." Hear Res **68**(1): 97-106.
- Kujawa, S. G., T. J. Glatke, et al. (1994). "A nicotinic-like receptor mediates suppression of distortion product otoacoustic emissions by contralateral sound." Hear Res **74**(1-2): 122-134.
- Lapicque, L. (2007). "Quantitative investigations of electrical nerve excitation treated as polarization. 1907." Biol Cybern **97**(5-6): 341-349.
- Le Prell, C. G., S. E. Shore, et al. (2003). "Disruption of lateral efferent pathways: functional changes in auditory evoked responses." J Assoc Res Otolaryngol **4**(2): 276-290.

- Legan, P. K., A. Rau, et al. (1997). "The mouse tectorins. Modular matrix proteins of the inner ear homologous to components of the sperm-egg adhesion system." J Biol Chem **272**(13): 8791-8801.
- Liberman, L. D., H. Wang, et al. (2011). "Opposing gradients of ribbon size and AMPA receptor expression underlie sensitivity differences among cochlear-nerve/hair-cell synapses." J Neurosci **31**(3): 801-808.
- Liberman, M. C. (1978). "Auditory-nerve response from cats raised in a low-noise chamber." J Acoust Soc Am **63**(2): 442-455.
- Liberman, M. C. (1982). "Single-neuron labeling in the cat auditory nerve." Science **216**(4551): 1239-1241.
- Liberman, M. C. and M. E. Oliver (1984). "Morphometry of intracellularly labeled neurons of the auditory nerve: correlations with functional properties." J Comp Neurol **223**(2): 163-176.
- Lin, X. (1997). "Action potentials and underlying voltage-dependent currents studied in cultured spiral ganglion neurons of the postnatal gerbil." Hear Res **108**(1-2): 157-179.
- Maison, S. F., J. C. Adams, et al. (2003). "Olivocochlear innervation in the mouse: immunocytochemical maps, crossed versus uncrossed contributions, and transmitter colocalization." J Comp Neurol **455**(3): 406-416.
- Marcus, D. C., J. E. Demott, et al. (1981). "Specificity of action of vanadate to the organ of corti." Hear Res **5**(2-3): 231-243.
- Martin, P. and A. J. Hudspeth (1999). "Active hair-bundle movements can amplify a hair cell's response to oscillatory mechanical stimuli." Proc Natl Acad Sci U S A **96**(25): 14306-14311.
- Mathews, P. J., P. E. Jercog, et al. (2010). "Control of submillisecond synaptic timing in binaural coincidence detectors by K(v)1 channels." Nat Neurosci **13**(5): 601-609.
- Matsubara, A., Y. Kawabata, et al. (1998). "Quantitative immunogold cytochemistry reveals sources of glutamate release in inner ear ischemia." Acta Otolaryngol Suppl **539**: 48-51.
- Matsuoka, A. J., J. T. Rubinstein, et al. (2001). "The effects of interpulse interval on stochastic properties of electrical stimulation: models and measurements." IEEE Trans Biomed Eng **48**(4): 416-424.
- McCulloch, W. S. and W. Pitts (1990). "A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. 1943." Bull Math Biol **52**(1-2): 99-115; discussion 173-197.

- McGinley, M. J., M. C. Liberman, et al. (2012). "Generating synchrony from the asynchronous: compensation for cochlear traveling wave delays by the dendrites of individual brainstem neurons." J Neurosci **32**(27): 9301-9311.
- Mercer, J. N., C. S. Chan, et al. (2007). "Nav1.6 sodium channels are critical to pacemaking and fast spiking in globus pallidus neurons." J Neurosci **27**(49): 13552-13566.
- Merchan-Perez, A. and M. C. Liberman (1996). "Ultrastructural differences among afferent synapses on cochlear hair cells: correlations with spontaneous discharge rate." J Comp Neurol **371**(2): 208-221.
- Meric, C. and L. Collet (1992). "Visual attention and evoked otoacoustic emissions: a slight but real effect." Int J Psychophysiol **12**(3): 233-235.
- Meyer, A. C., T. Frank, et al. (2009). "Tuning of synapse number, structure and function in the cochlea." Nat Neurosci **12**(4): 444-453.
- Mino, H., J. T. Rubinstein, et al. (2004). "Effects of electrode-to-fiber distance on temporal neural response with electrical stimulation." IEEE Trans Biomed Eng **51**(1): 13-20.
- Mo, Z. L., C. L. Adamson, et al. (2002). "Dendrotoxin-sensitive K(+) currents contribute to accommodation in murine spiral ganglion neurons." J Physiol **542**(Pt 3): 763-778.
- Mo, Z. L. and R. L. Davis (1997). "Endogenous firing patterns of murine spiral ganglion neurons." J Neurophysiol **77**(3): 1294-1305.
- Mo, Z. L. and R. L. Davis (1997). "Heterogeneous voltage dependence of inward rectifier currents in spiral ganglion neurons." J Neurophysiol **78**(6): 3019-3027.
- Modolo, J., E. Mosekilde, et al. (2007). "New insights offered by a computational model of deep brain stimulation." J Physiol Paris **101**(1-3): 56-63.
- Moore, E. J., D. B. Hall, et al. (1996). "Sodium and potassium currents of type I spiral ganglion cells from rat." Acta Otolaryngol **116**(4): 552-560.
- Moser, T. and D. Beutner (2000). "Kinetics of exocytosis and endocytosis at the cochlear inner hair cell afferent synapse of the mouse." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(2): 883-888.
- Neef, J., A. Gehrt, et al. (2009). "The Ca<sup>2+</sup> channel subunit beta2 regulates Ca<sup>2+</sup> channel abundance and function in inner hair cells and is required for hearing." J Neurosci **29**(34): 10730-10740.
- Nouvian, R., D. Beutner, et al. (2006). "Structure and function of the hair cell ribbon synapse." J Membr Biol **209**(2-3): 153-165.

Oesterle, E. and P. Dallos (1986). "Intracellular recordings from supporting cells in the organ of Corti." Hear Res **22**: 229-232.

Ohlemiller, K. K., S. M. Echter, et al. (1991). "Factors that influence rate-versus-intensity relations in single cochlear nerve fibers of the gerbil." J Acoust Soc Am **90**(1): 274-287.

Oliver, D., T. Schachinger, et al. (2006). "Interaction of prestin (SLC26A5) with monovalent intracellular anions." Novartis Found Symp **273**: 244-253; discussion 253-260, 261-244.

Oliver, D. L. (2000). "Ascending efferent projections of the superior olivary complex." Microsc Res Tech **51**(4): 355-363.

Palmer, A. R. and I. J. Russell (1986). "Phase-locking in the cochlear nerve of the guinea-pig and its relation to the receptor potential of inner hair-cells." Hear Res **24**(1): 1-15.

Parsons, T. D., D. Lenzi, et al. (1994). "Calcium-triggered exocytosis and endocytosis in an isolated presynaptic cell: capacitance measurements in saccular hair cells." Neuron **13**(4): 875-883.

Platzer, J., J. Engel, et al. (2000). "Congenital deafness and sinoatrial node dysfunction in mice lacking class D L-type Ca<sup>2+</sup> channels." Cell **102**(1): 89-97.

Poliak, S. and E. Peles (2003). "The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier." Nat Rev Neurosci **4**(12): 968-980.

Puel, J. L. (1995). "Chemical synaptic transmission in the cochlea." Prog Neurobiol **47**(6): 449-476.

Puel, J. L., R. P. Bobbin, et al. (1988). "An ipsilateral cochlear efferent loop protects the cochlea during intense sound exposure." Hear Res **37**(1): 65-69.

Puel, J. L. and G. Rebillard (1990). "Effect of contralateral sound stimulation on the distortion product 2F1-F2: evidence that the medial efferent system is involved." J Acoust Soc Am **87**(4): 1630-1635.

Rangan, A. V. and D. Cai (2007). "Fast numerical methods for simulating large-scale integrate-and-fire neuronal networks." J Comput Neurosci **22**(1): 81-100.

Ricci, A. J., H. J. Kennedy, et al. (2005). "The transduction channel filter in auditory hair cells." J Neurosci **25**(34): 7831-7839.

Robertson, D. (1984). "Horseradish peroxidase injection of physiologically characterized afferent and efferent neurones in the guinea pig spiral ganglion." Hear Res **15**(2): 113-121.

- Rose, J. E., J. F. Brugge, et al. (1967). "Phase-locked response to low-frequency tones in single auditory nerve fibers of the squirrel monkey." J Neurophysiol **30**(4): 769-793.
- Rothman, J. S. and P. B. Manis (2003). "Differential expression of three distinct potassium currents in the ventral cochlear nucleus." J Neurophysiol **89**(6): 3070-3082.
- Rothman, J. S. and P. B. Manis (2003). "Kinetic analyses of three distinct potassium conductances in ventral cochlear nucleus neurons." J Neurophysiol **89**(6): 3083-3096.
- Rothman, J. S. and P. B. Manis (2003). "The roles potassium currents play in regulating the electrical activity of ventral cochlear nucleus neurons." J Neurophysiol **89**(6): 3097-3113.
- Ruel, J., R. P. Bobbin, et al. (2000). "The selective AMPA receptor antagonist GYKI 53784 blocks action potential generation and excitotoxicity in the guinea pig cochlea." Neuropharmacology **39**(11): 1959-1973.
- Ruel, J., C. Chen, et al. (1999). "AMPA-preferring glutamate receptors in cochlear physiology of adult guinea-pig." J Physiol **518** ( Pt 3): 667-680.
- Ruel, J., R. Nouvian, et al. (2001). "Dopamine inhibition of auditory nerve activity in the adult mammalian cochlea." Eur J Neurosci **14**(6): 977-986.
- Russell, I. J. and P. M. Sellick (1978). "Intracellular studies of hair cells in the mammalian cochlea." J Physiol **284**: 261-290.
- Rutherford, M. A., N. M. Chapochnikov, et al. (2012). "Spike encoding of neurotransmitter release timing by spiral ganglion neurons of the cochlea." J Neurosci **32**(14): 4773-4789.
- Rybalchenko, V. and J. Santos-Sacchi (2003). "Cl<sup>-</sup> flux through a non-selective, stretch-sensitive conductance influences the outer hair cell motor of the guinea-pig." J Physiol **547**(Pt 3): 873-891.
- Sakagami, M., K. Fukazawa, et al. (1991). "Cellular localization of rat Isk protein in the stria vascularis by immunohistochemical observation." Hear Res **56**(1-2): 168-172.
- Santos-Sacchi, J. (1993). "Voltage-dependent ionic conductances of type I spiral ganglion cells from the guinea pig inner ear." J Neurosci **13**(8): 3599-3611.
- Santos-Sacchi, J., L. Song, et al. (2006). "Control of mammalian cochlear amplification by chloride anions." J Neurosci **26**(15): 3992-3998.
- Schmiedt, R. A. (1989). "Spontaneous rates, thresholds and tuning of auditory-nerve fibers in the gerbil: comparisons to cat data." Hear Res **42**(1): 23-35.

- Schulte, B. A. and K. P. Steel (1994). "Expression of alpha and beta subunit isoforms of Na,K-ATPase in the mouse inner ear and changes with mutations at the Wv or Sld loci." Hear Res **78**(1): 65-76.
- Schwarz, J. R. and G. Eikhof (1987). "Na currents and action potentials in rat myelinated nerve fibres at 20 and 37 degrees C." Pflugers Arch **409**(6): 569-577.
- Siegel, J. H. (1992). "Spontaneous synaptic potentials from afferent terminals in the guinea pig cochlea." Hear Res **59**(1): 85-92.
- Siemens, J., C. Lillo, et al. (2004). "Cadherin 23 is a component of the tip link in hair-cell stereocilia." Nature **428**(6986): 950-955.
- Sollner, C., G. J. Rauch, et al. (2004). "Mutations in cadherin 23 affect tip links in zebrafish sensory hair cells." Nature **428**(6986): 955-959.
- Spoendlin, H. (1969). "Innervation patterns in the organ of corti of the cat." Acta Otolaryngol **67**(2): 239-254.
- Szabo, Z. S., C. S. Harasztosi, et al. (2002). "Ionic currents determining the membrane characteristics of type I spiral ganglion neurons of the guinea pig." Eur J Neurosci **16**(10): 1887-1895.
- Taberner, A. M. and M. C. Liberman (2005). "Response properties of single auditory nerve fibers in the mouse." J Neurophysiol **93**(1): 557-569.
- Takeuchi, S. and M. Ando (1998). "Inwardly rectifying K<sup>+</sup> currents in intermediate cells in the cochlea of gerbils: a possible contribution to the endocochlear potential." Neurosci Lett **247**(2-3): 175-178.
- Tsuji, J. and M. C. Liberman (1997). "Intracellular labeling of auditory nerve fibers in guinea pig: central and peripheral projections." J Comp Neurol **381**(2): 188-202.
- Tucker, T. and R. Fettiplace (1995). "Confocal imaging of calcium microdomains and calcium extrusion in turtle hair cells." Neuron **15**(6): 1323-1335.
- Tunstall, M. J., J. E. Gale, et al. (1995). "Action of salicylate on membrane capacitance of outer hair cells from the guinea-pig cochlea." J Physiol **485** ( Pt 3): 739-752.
- von\_Békésy (1960). "Experiment in hearing." New York: Mc Grow-Hill.
- Wang, L. Y., L. Gan, et al. (1998). "Contribution of the Kv3.1 potassium channel to high-frequency firing in mouse auditory neurones." J Physiol **509** ( Pt 1): 183-194.
- Weisz, C. J., M. Lehar, et al. (2012). "Synaptic transfer from outer hair cells to type II afferent fibers in the rat cochlea." J Neurosci **32**(28): 9528-9536.
- Willms, A. R., D. J. Baro, et al. (1999). "An improved parameter estimation method for Hodgkin-Huxley models." J Comput Neurosci **6**(2): 145-168.

Winter, I. M., D. Robertson, et al. (1990). "Diversity of characteristic frequency rate-intensity functions in guinea pig auditory nerve fibres." Hear Res **45**(3): 191-202.

Woo, J., C. A. Miller, et al. (2009). "Biophysical model of an auditory nerve fiber with a novel adaptation component." IEEE Trans Biomed Eng **56**(9): 2177-2180.

Woo, J., C. A. Miller, et al. (2009). "Simulation of the electrically stimulated cochlear neuron: modeling adaptation to trains of electric pulses." IEEE Trans Biomed Eng **56**(5): 1348-1359.

Yi, E., I. Roux, et al. (2010). "Dendritic HCN channels shape excitatory postsynaptic potentials at the inner hair cell afferent synapse in the mammalian cochlea." J Neurophysiol **103**(5): 2532-2543.

Yuhas, W. A. and P. A. Fuchs (1999). "Apamin-sensitive, small-conductance, calcium-activated potassium channels mediate cholinergic inhibition of chick auditory hair cells." J Comp Physiol A **185**(5): 455-462.

Zenisek, D., V. Davila, et al. (2003). "Imaging calcium entry sites and ribbon structures in two presynaptic cells." J Neurosci **23**(7): 2538-2548.

Zhao, H. B. and J. Santos-Sacchi (1999). "Auditory collusion and a coupled couple of outer hair cells." Nature **399**(6734): 359-362.