



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. Biophysique. Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc, 2012. Français. NNT: . tel-00808610v1

HAL Id: tel-00808610

<https://theses.hal.science/tel-00808610v1>

Submitted on 8 Apr 2013 (v1), last revised 30 May 2022 (v2)

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 (Na^+ et 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 Na^+ entrant rapide (G_{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 K^+ sortants, un rectifiant retardé activé à haut seuil (G_{KH} , activation: $V_{1/2}=-41$ mV; $\tau_{act} < 2.5$ ms) et un activé à bas seuil (G_{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 μs de durée pic à pic à 1 kHz contre 250 μs 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 Na^+ et des 2 courants 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 (Na^+ and 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 to the identification of: *i*) one fast inward Na^+ current (G_{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 K^+ conductances, a high voltage-activated delayed-rectifier component (G_{KH} , activation: $V_{1/2} = -41$ mV; $\tau_{\text{act}} < 2.5$ ms) and a low voltage-activated component (G_{KL} , activation: $V_{1/2} = -56$ mV; $\tau_{\text{act}} < 5$ ms). Node of Ranvier model generate spikes that fit with *in vivo* recordings. Interestingly, the different spike duration along the tonotopic axis measured *in vivo* (i.e. 450 μs peak-to-peak duration versus 250 μs 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 Na^+ current and the two 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 modiolus	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, Echterler 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 μ 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

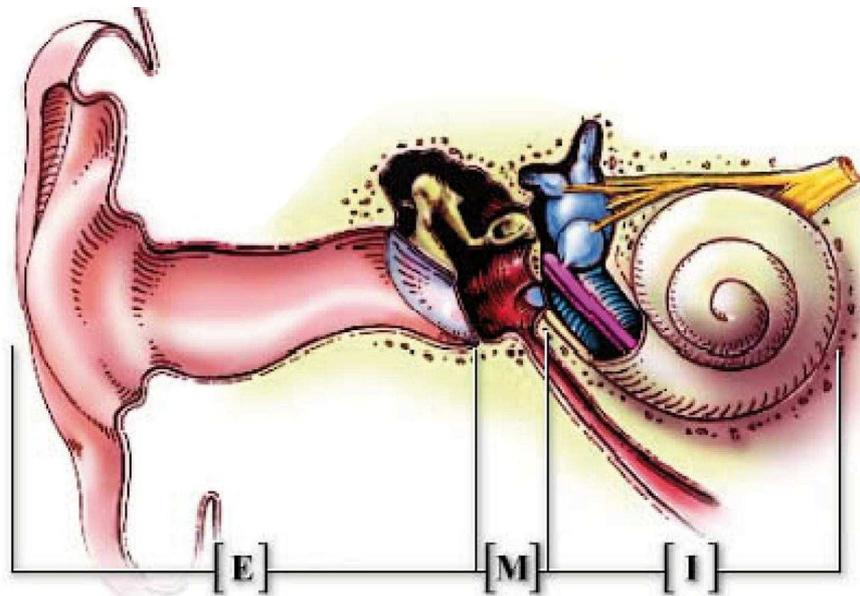


Figure 1, L'organe périphérique de l'audition. Le système auditif périphérique permet la transformation des vibrations sonores en un système bioélectrique interprétable par le système nerveux central. Ce système est constitué de trois compartiments : l'oreille externe (E), l'oreille moyenne (M) et l'oreille 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.

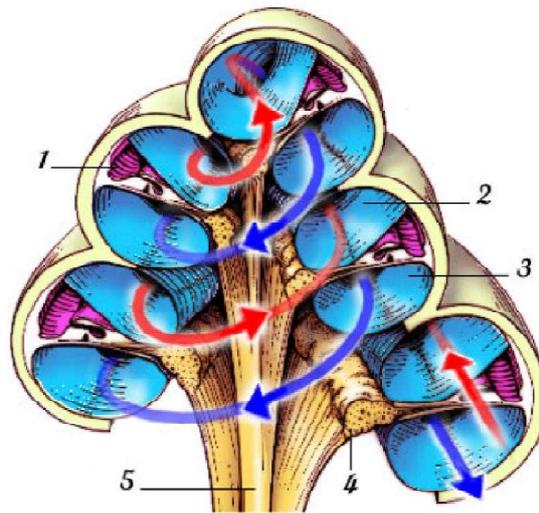


Figure 2, Coupe transversale de la cochlée. La cochlée est formée de trois rampes : canal cochléaire (1) contenant l'organe de Corti, la rampe vestibulaire (2) et la rampe tympanique (3) enroulées autour d'un axe osseux le modiolus (5). Les deux dernières rampes communiquent entre elles par un orifice 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 contient 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 endolympatique, 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*^{-/-} (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**).

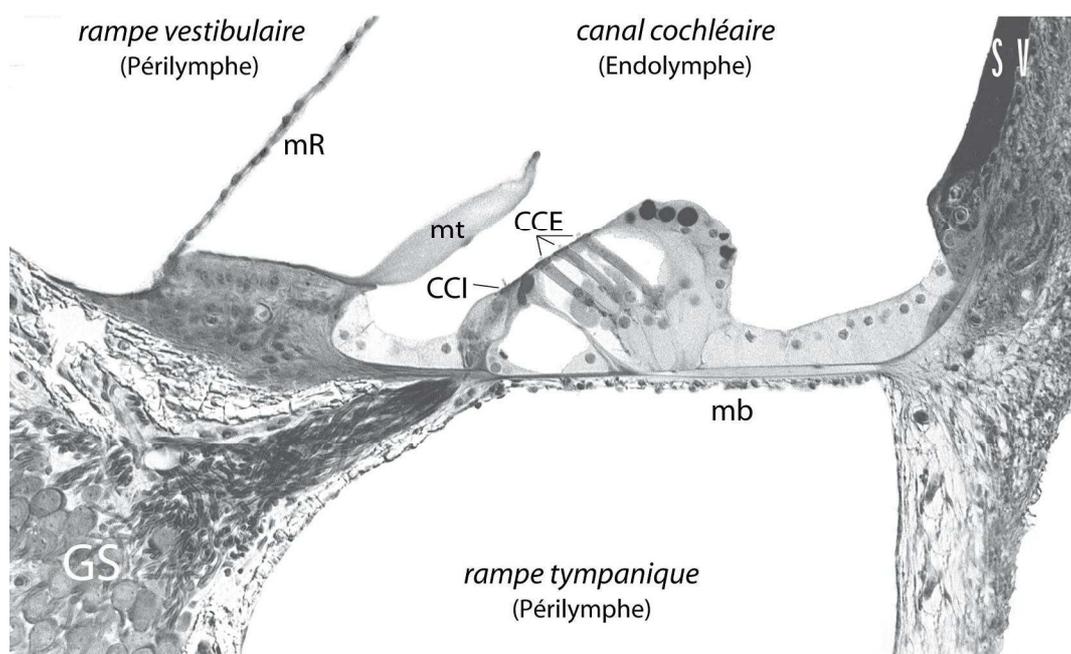


Figure 3, Section transversale d'un tour de spire de la cochlée. Coupe transversale effectuée au troisième tour d'une cochlée de cobaye visualisée en microscopie électronique à balayage. Cette image montre l'organe de Corti, situé entre la membrane basilaire (mb), la membrane de Reissner (mR) et la strie 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' α - et β - 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

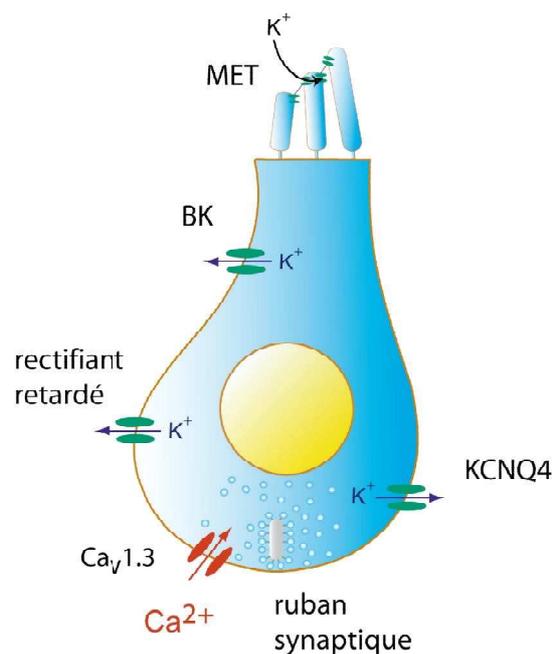


Figure 4, La cellule ciliée interne. Représentation schématique d'une cellule ciliée interne. Le noyau de la cellule occupe généralement une position centrale. Au pôle apical de la cellule, trois rangées de stéréocils reposent sur la plaque cuticulaire. L'activité électrique de la cellule ciliée interne 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.

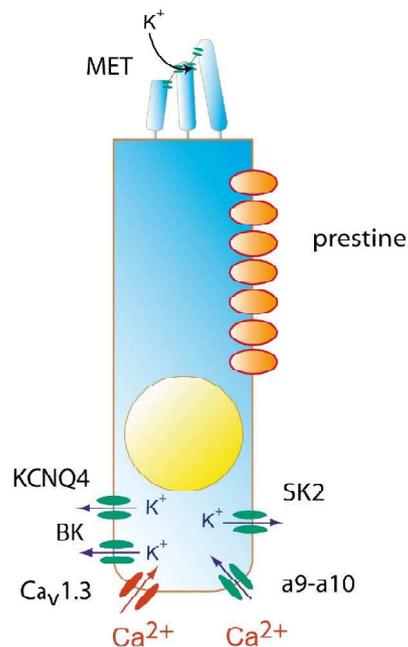


Figure 5, La cellule ciliée externe. Représentation schématique d'une cellule ciliée externe. Le noyau de la cellule occupe une position très basale. Au pôle apical de la cellule, trois rangées de stéréocils reposent sur la plaque cuticulaire. L'activité électrique de la cellule ciliée externe est assurée 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

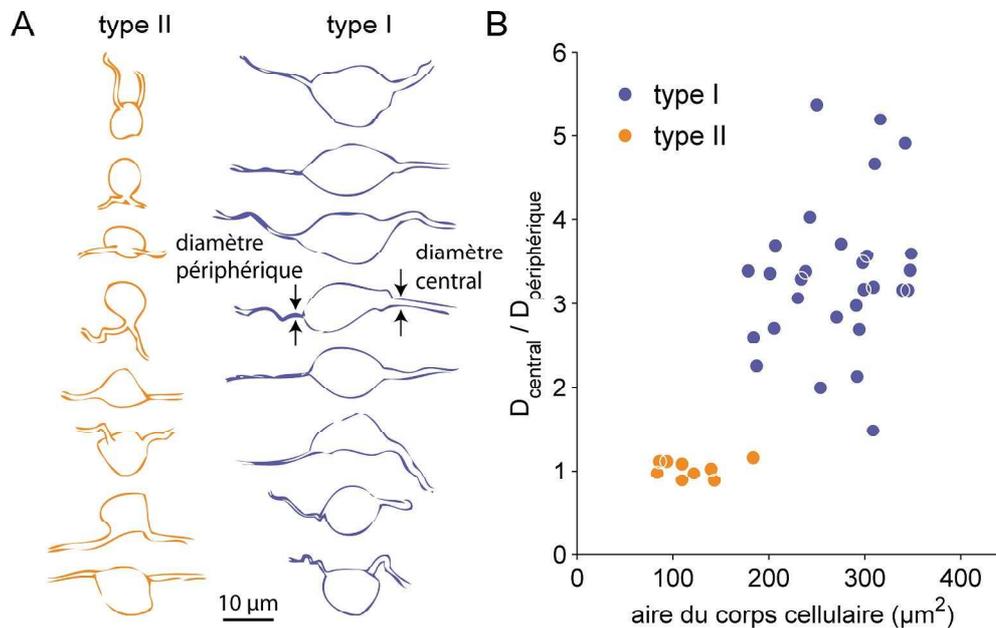


Figure 6, Morphologie des neurones du ganglion spiral de type I et II. A Corps cellulaires de neurone du ganglion spiral innervant les CCI (type I, bleu) et les CCE (type II, orange) chez le chat. Les corps cellulaires des neurones de type I sont bipolaires et de dimension supérieure aux neurones de 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 (Spendlin 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; Yugas 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

le système efférent médian est également activé lors de processus d'attention sélective, qu'elle soit visuelle ou auditive (Puel, Bobbin et al. 1988; Froehlich, Collet et al. 1990; Puel and Rebillard 1990; Winter, Robertson et al. 1990; Meric and Collet 1992).

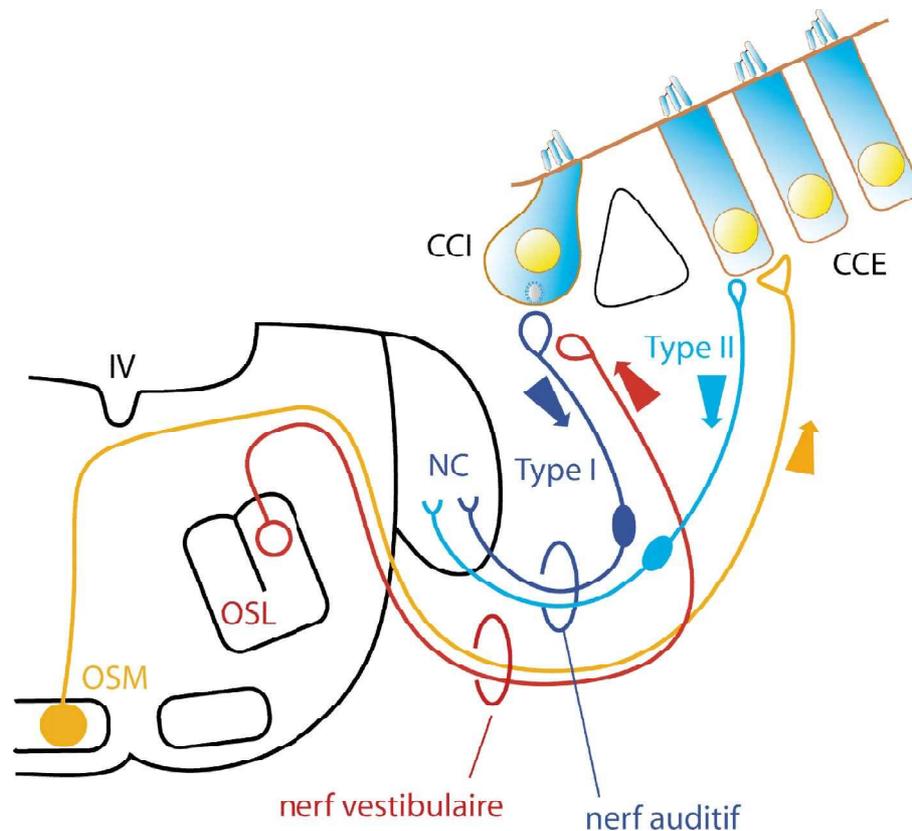


Figure 7, L'innervation de l'organe de Corti. Cette figure représente les connexions entre les cellules ciliées et le tronc cérébral. Les cellules ciliées internes font synapse avec tous les neurones de type I du ganglion spiral, formant le système afférent radial (représenté en bleu nuit) qui relie la cochlée aux noyaux cochléaires. Les informations auditives sont transmises au cerveau par ce système. Le système efférent latéral (représenté en rouge) est issu de neurones issus de l'olive supérieure latérale (OSL). Les cellules ciliées externes font synapse avec les cellules ganglionnaires de type II formant le système afférent spiral (représenté en bleu ciel). Les cellules ciliées externes sont directement innervées par les terminaisons axoniques (représentées en jaune) de neurones situés bilatéralement dans le noyau ventral médian du corps trapézoïde, sur le pourtour du complexe olivaire supérieur médian (OSM).

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

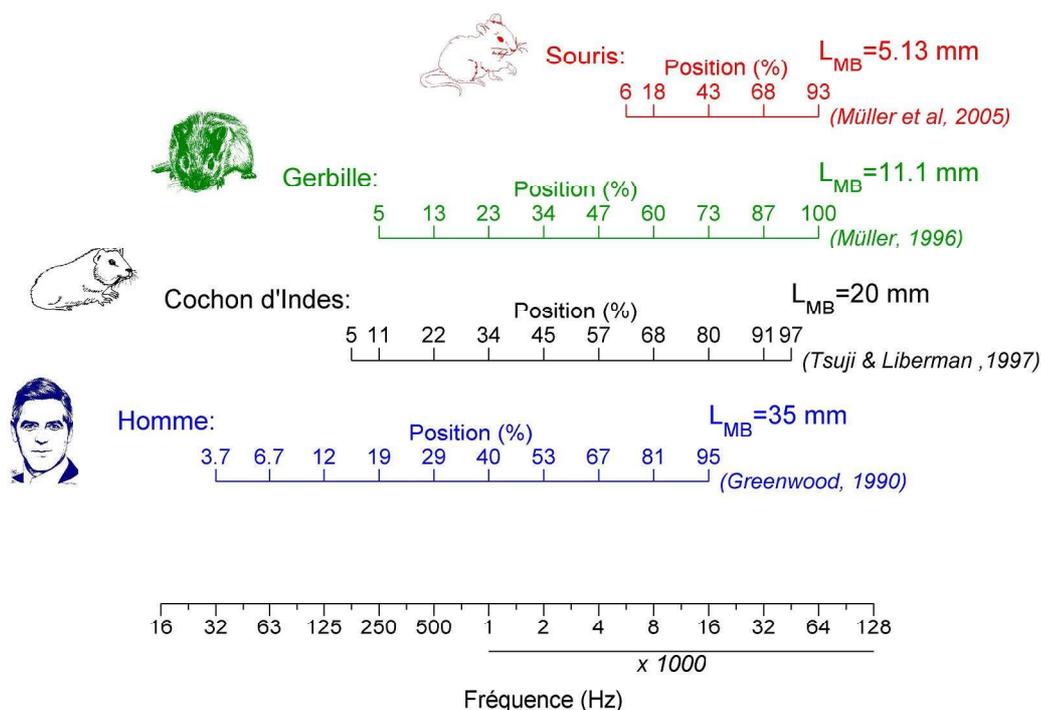


Figure 8, Carte fréquentielle chez le mammifère. L'homme (bleu) et le rongeur (noir : cochon d'Indes, vert : gerbille, rouge : souris). L'axe tonotopique est présenté à la base du schéma en échelle logarithmique de 16 Hz à 128 kHz. La position du codage le long de la membrane basilaire est exprimée en % 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 τ (égal au produit RC et environ égal à 500 μ 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 Fettiplace 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	(Liberman 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

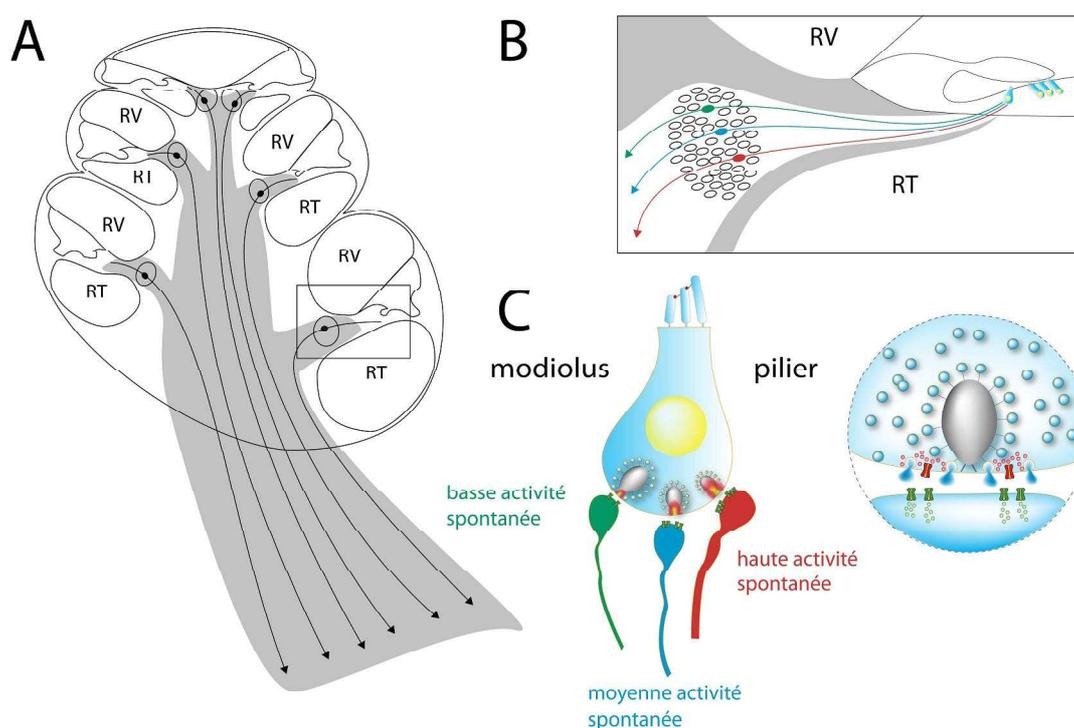


Figure 9, Localisation des différents types de neurones dans le modiolus. A. Schéma en coupe longitudinale d'une cochlée de chat d'après (Kawase and Liberman 1992). RV : Rampe vestibulaire, RT : Rampe tympanique. Les corps cellulaires (symboles noir plein) sont localisés dans le ganglion spiral (ellipses). **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

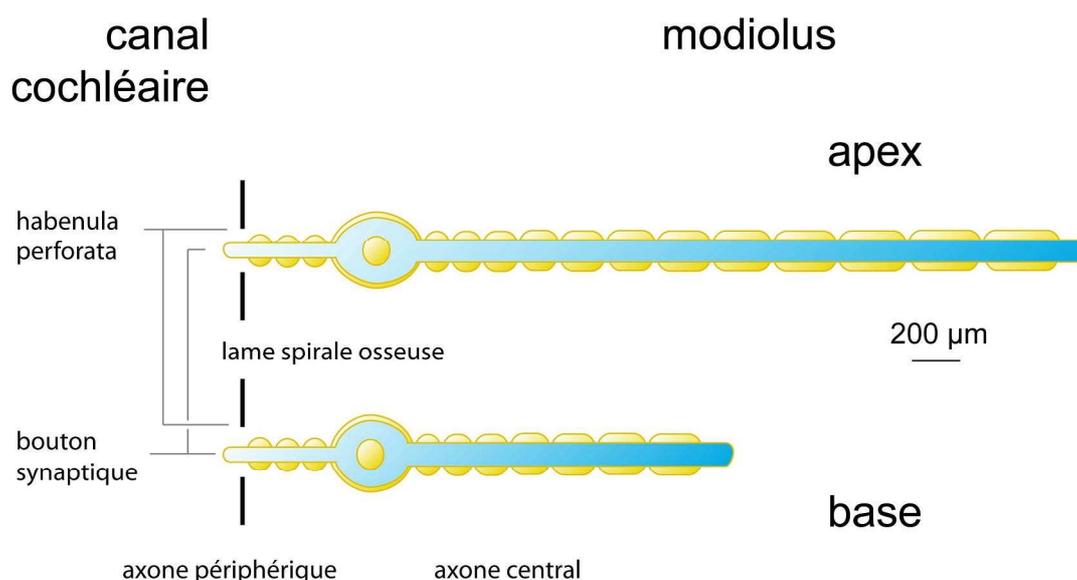


Figure 10, Morphologie des neurones auditifs primaires. Représentation schématique d'un neurone de l'apex (en haut, longueur ~7 mm) et d'un neurone de la base (en bas, longueur ~4 mm). La lame spirale osseuse (trait noir épais) sépare le modiolus du canal cochléaire. Les neurones du ganglion spiral rejoignent le canal cochléaire par l'*habenula 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 µm² à l'apex et de 250 µm² 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 μm^2) et plus allongés (grand axe / petit axe ~ 0.8) que les neurones de la base (section longitudinale ~ 250 μm^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 μm l'unité contre 7 à 12 segments myélinisés de 300 à 400 μm 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} , ~ -60 mV), ii) une composante à haut seuil, qui s'inactive peu (I_{KH} , ~ -40 mV), ii) une composante à bas seuil, caractérisée par une forte inactivation (I_{KA} , ~ -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	α -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

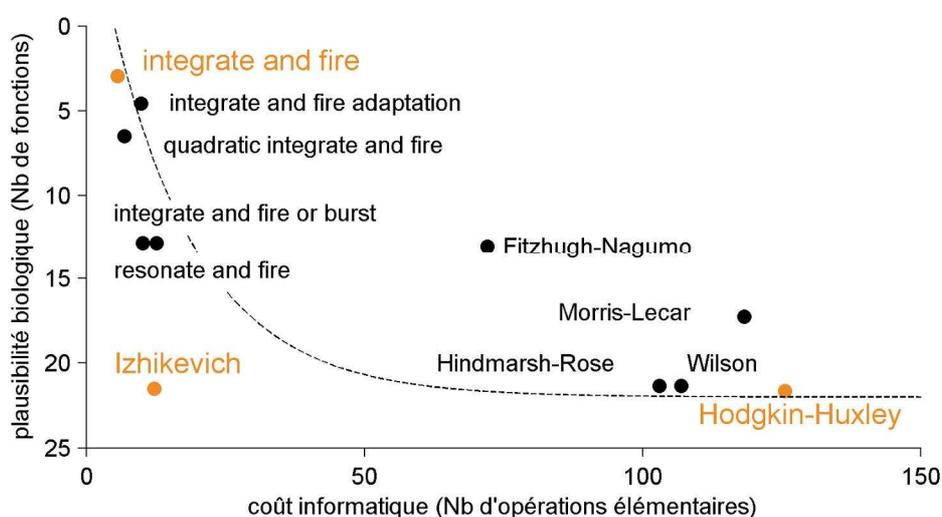


Figure 11, Classification des modèles de neurones selon le compromis crédibilité physiologique / rapidité de temps de calculs. La crédibilité physiologique a été calculée selon le nombre de caractéristiques sur 22 caractéristiques de référence que le modèle est capable de reproduire. Les modèles *Integrate 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

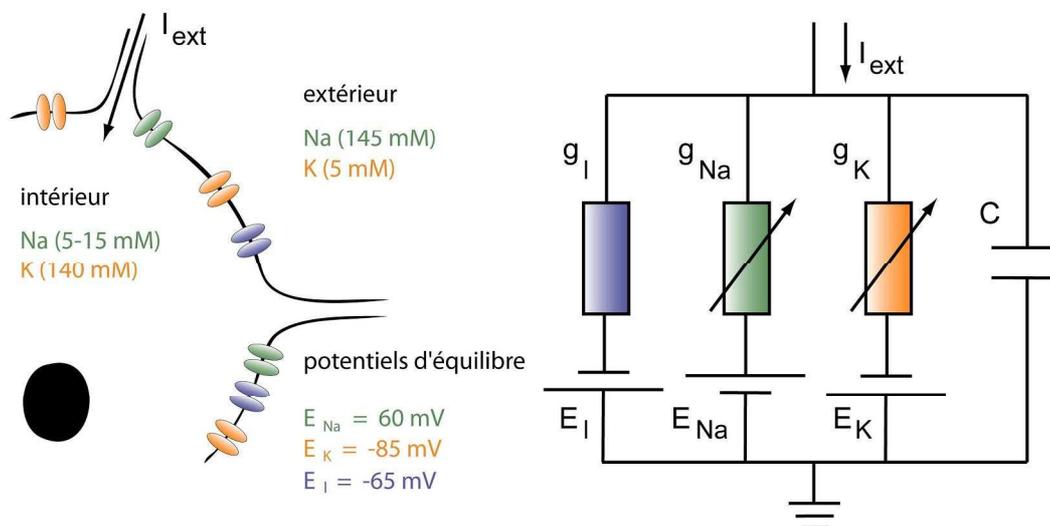


Figure 12, Schéma d'une cellule excitable et modèle d'Hodgkin-Huxley correspondant. Schéma anatomique et électrique d'une cellule excitable. Canaux sodiques, potassiques et de fuite en orange, vert et bleu, respectivement. Les potentiels d'équilibre E_{Na} , E_K et E_l (dûs aux différences de concentrations 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 α_x et β_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 α_x , et que les portes d'activation qui sont ouvertes x , se ferment avec un taux β_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_∞ est la valeur asymptotique de la variable d'(in)activation et τ_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_∞ 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

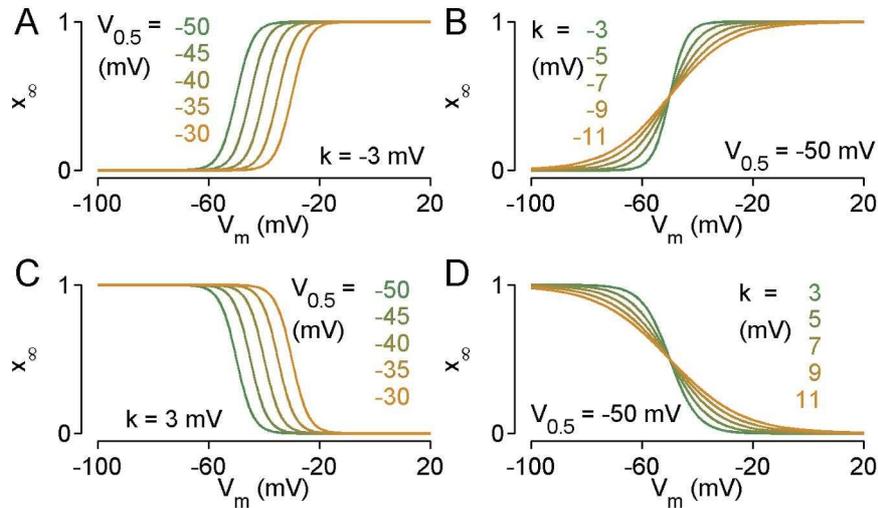


Figure 13, Influence des paramètres du modèle sur la forme de l'activation et de l'inactivation. **A** $V_{0.5}$ varie de -50 (en vert) à -30 mV (en orange), k est fixé à -3 mV **B** $V_{0.5}$ est fixé à -50 mV, k varie de -3 (en vert) à -11 mV (en orange) **C** $V_{0.5}$ varie de -50 mV (en vert) à -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 , τ_a et τ_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, σ détermine la largeur de la courbe, C_{amp} fixe l'amplitude et C_{base} fixe la valeur de la composante continue.

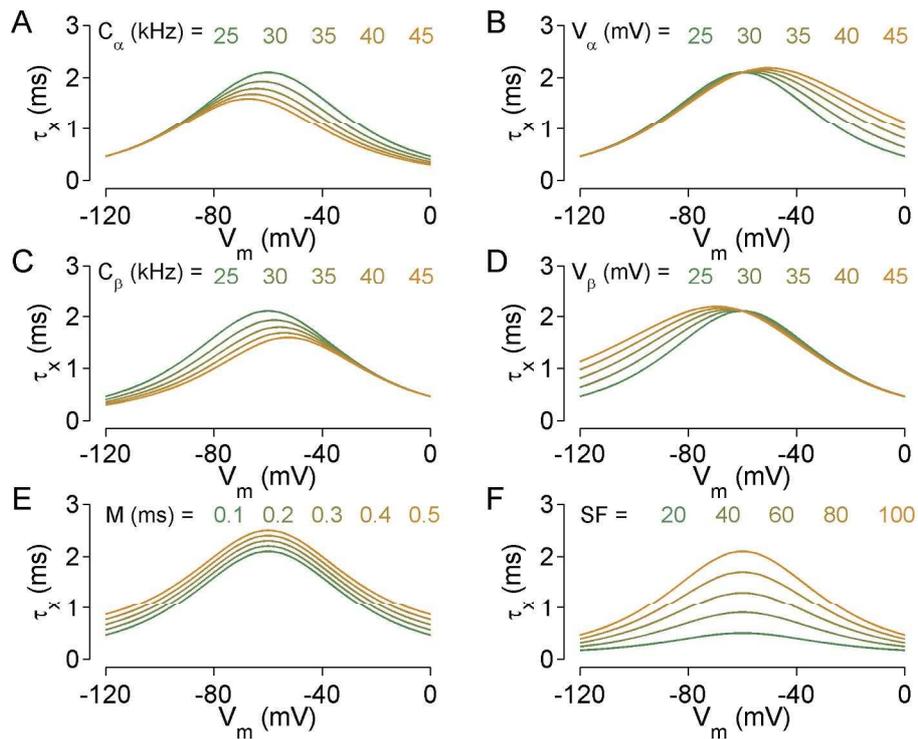


Figure 14, Influence des paramètres du modèle sur la forme de la cinétique. Pour tous ces graphes $C_\alpha = C_\beta = 25$ (kHz), $V_\beta = V_\alpha = 25$ mV, $SF = 100$, $M = 0.1$ sauf pour le paramètre testé dont la valeur est indiquée en haut. La couleur de tracé des courbes correspond à la valeur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

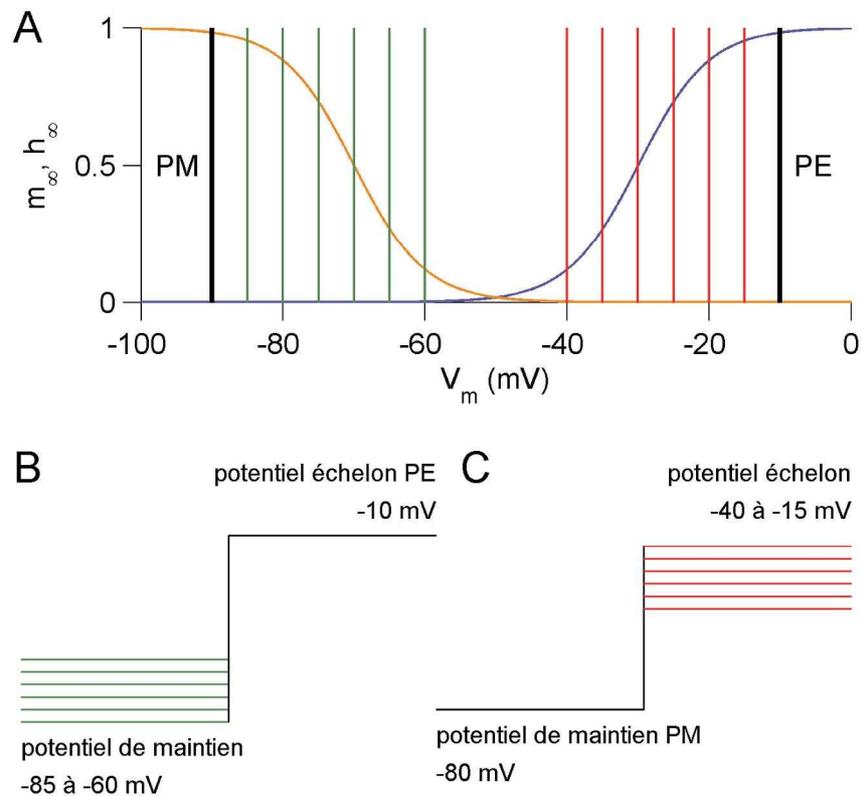


Figure 15, Protocoles permettant l'identification des paramètres des courants ioniques. **A.** Courbes d'activation en bleu, d'inactivation en orange, les lignes vertes et rouges représentent les potentiels tests nécessaires à l'identification des valeurs de ces courbes. **B.** Protocole d'inactivation, 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 τ_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 τ_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_∞).

L'estimation de la cinétique d'activation (τ_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 (τ_m) à l'aide du modèle d'ajustement (**Equation 15**) surtout lorsque (τ_m) est du même l'ordre de grandeur que la durée de la contamination.

L'estimation de cinétique d'inactivation (τ_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 (τ_d) de quelques dixièmes de ms (Willms, Baro et al. 1999).

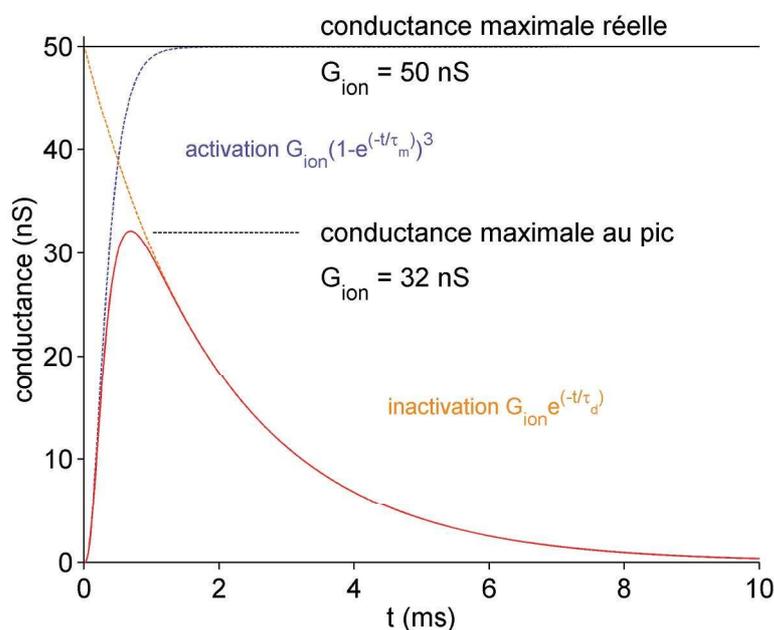


Figure 16, Sous estimation de la conductance maximale par la mesure du pic. Pour des cinétiques d'activation τ_m de 0.2 ms et d'inactivation τ_d de 2 ms, l'erreur d'estimation de la conductance maximale par le pic est de 30%.

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_{∞} et h_{∞} sont les courbes d'activation et d'inactivation, G_{ion} est la conductance maximale, τ_m et τ_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_∞ et h_∞ 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 $R=500 M\Omega$ (soit $G_{leak}=2 nS$) 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 $10.1\pm 1.7 pF$. 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 ($x = Na, KH, KL, hf, hs, \text{ or } leak$) 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_{∞}		τ_x					
			$V_{0.5}$ (mV)	k (mV)	C_{α} (ms ⁻¹)	V_{α} (mV)	C_{β} (ms ⁻¹)	V_{β} (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	10^4	5
I_{hf}	10	f	-110	6	40	30	30	40	10^5	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.

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 ~ 1300 canaux/ μm^2 pour le courant sodique, ~ 250 canaux/ μm^2 pour le courant potassique à bas seuil, et ~ 100 canaux/ μm^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 ~ 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 ~ 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 ~ 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 μ 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 ± 0.1 ms) que ceux prélevés à l'apex (2.3 ± 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 ~ 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⁺ 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). "CaV1.3 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_h) 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⁺ 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⁺ conductance permeable to Cs⁺ 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⁺ current increases gain by offsetting a frequency-dependent increase in low-threshold K⁺ 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 Ca²⁺ 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 Ca²⁺ 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 mechanoelectrical 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 Ca²⁺ channels and Ca(2+)-activated K⁺ 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 Ca²⁺ 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 Ca²⁺ 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 Iu (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 Ca²⁺ channel subunit beta2 regulates Ca²⁺ 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 Ca²⁺ 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⁻ 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⁺ 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.