

Avis de Soutenance

Madame Sarvenaz KHODAYARI

NEUROSCIENCES ET COGNITION (Domaine scientifique : Biologie, médecine et santé)

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés
Neurostimulation par ultrasons focalisés pour la libération ciblée de neurotransmetteurs : faisabilité, ciblage spatial et dynamique de libération de la dopamine

Travaux dirigés par Monsieur Stephane MARINESCO et Monsieur W. Apoutou N'DJIN

Soutenance prévue le **mercredi 25 février 2026** à 13h30

Lieu : Salle de conférence LabTAU (U1032), 151 Cr Albert Thomas, 69003 Lyon

Composition du jury proposé

M. Stéphane MARINESCO	Directeur de recherche	INSERM Lyon	Directeur de thèse
M. Jean-Michel ESCOFFRE	Chargé de recherche	INSERM Tours	Rapporteur
Mme Charlotte ROSSO	Professeure des universités - praticienne hospitalière	Sorbonne Université Paris	Rapporteure
Mme Marion RICHARD	Maître de conférences	Université Claude Bernard Lyon 1	Examinatrice
M. Skandar BASROUR	Professeur des universités	Université Grenoble Alpes	Examineur
M. Apoutou N'DJIN	Chargé de recherche	INSERM Lyon	Co-directeur de thèse
M. Ivan SUAREZ-CASTELLANOS	INSERM Lyon	Invité	

Mots-clés : In-vitro, ultrasons focalisé, neurostimulation

Résumé :

La neuromodulation/neurostimulation par ultrasons focalisés (FUS) suscite un intérêt croissant en raison de sa précision et de son caractère peu invasif, mais ses mécanismes biologiques et neurochimiques restent mal connus. Pour faire progresser cette technologie, il est nécessaire de mieux comprendre la dynamique spatio-temporelle de la libération de neurotransmetteurs déclenchée par les FUS. Nous avons précédemment montré qu'une impulsion unique de FUS dans la gamme des mégahertz peut provoquer des ondes de calcium (Ca^{2+}) dans des cultures mixtes de cellules neuronales et gliales humaines à l'aide d'un petit prototype de FUS, conçu pour le développement d'une approche de neurostimulation extradurale. Dans ce travail, nous avons examiné si une impulsion unique de FUS dans la gamme des mégahertz peut également provoquer

des ondes de Ca^{2+} et la libération de dopamine (DA) dans des neurones dopaminergiques humains en culture. Pour ce faire, nous avons conçu et construit une plateforme hybride combinant un prototype d'implant FUS sur mesure (transducteur sphérique de 15 mm) avec une microscopie à fluorescence Ca^{2+} en temps réel et une voltamétrie cyclique à balayage rapide (FSCV) utilisant des microélectrodes en fibre de carbone (CFME). Nous avons comparé les réponses Ca^{2+} et DA provoquées par le FUS dans les neurones dopaminergiques (neurones DA) à celles observées dans des cultures standard (cellules neuronales + gliales avec $<0,1\%$ de neurones DA). Les deux groupes provenaient de la même lignée de progéniteurs neuronaux humains ReNCell VM. Des impulsions uniques de 5,11 MHz (700 μs , 7-14 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$, moyenne spatiale, intensité moyenne des impulsions (Isapa) mesurée à la surface du transducteur) ont déclenché de manière fiable l'activité Ca^{2+} dans les cellules dopaminergiques et standard. Des réponses immédiates ($< \text{tFUS-stim} + 1 \text{ s}$) sont apparues dans les deux types de cellules. Cependant, alors que les cellules standard présentaient une propagation retardée forte, continue et omnidirectionnelle qui s'étendait vers l'extérieur à partir du foyer du faisceau FUS selon un schéma concentrique vers des régions plus éloignées, les neurones dopaminergiques ont montré une activation principalement dans la région ciblée par le FUS, accompagnée uniquement de réponses clairsemées et moins organisées spatialement au-delà de celle-ci. Il est important de noter que seuls les neurones DA ont présenté une libération causale de DA provoquée par le FUS, confirmée par des enregistrements FSCV à l'aide de CFME. Aucune libération de DA n'a été détectée à partir d'échantillons témoins standard stimulés par FUS. Dans l'ensemble, cette étude montre qu'un FUS mégahertz à impulsion unique peut déclencher une signalisation intracellulaire du Ca^{2+} tout en induisant la libération de DA à partir de neurones DA humains. Ces résultats soulignent le potentiel du FUS mégahertz implantable en tant qu'outil de neurostimulation sélective pour cibler les circuits dopaminergiques liés aux troubles neurologiques.

Summary:

Focused Ultrasound (FUS) neuromodulation/neurostimulation is gaining interest due to its precise targeting and minimally invasive nature, but its biological and neurochemical mechanisms remain unclear. Advancing this technology requires a better understanding of the spatiotemporal dynamics of neurotransmitter release triggered by FUS. We previously showed that single-pulse megahertz-range FUS can evoke calcium (Ca^{2+}) waves in mixed human neuronal and glial cell cultures using a small FUS prototype, designed for the development of an extradural neurostimulation approach. In this work, we examined whether single-pulse megahertz FUS can also evoke Ca^{2+} waves and dopamine (DA) release in cultured human dopaminergic neurons. To do this, we designed and built a hybrid platform combining a custom-made FUS implant prototype (15-mm spherical transducer) with real-time Ca^{2+} fluorescence microscopy and fast-scan cyclic voltammetry (FSCV) using carbon fiber microelectrodes (CFMEs). We compared FUS-evoked Ca^{2+} and DA responses in dopaminergic neurons (DA neurons) to those in standard cultures (neuronal + glial cells with $<0.1\%$ DA neurons). Both groups were derived from the same ReNCell VM human neural progenitor line. Single 5.11-MHz pulses (700 μs , 7–14 $\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$, spatial-average, pulse average intensity (Isapa) measured at the surface of the transducer) reliably triggered Ca^{2+} activity in both dopaminergic and standard cells. Immediate responses ($< \text{tFUS-stim} + 1 \text{ s}$) appeared in both cell types. However, whereas standard cells exhibited strong, continuous, and omnidirectional delayed propagation that spread outward from the focus of the FUS beam in a concentric pattern toward more distant regions, dopaminergic neurons showed activation primarily within the FUS-targeted region, accompanied only by sparse and less spatially organized responses beyond it. Importantly, only DA neurons exhibited FUS-evoked causal DA release, confirmed by FSCV recordings using CFMEs. No DA release was detected from FUS-stimulated standard control samples. Overall, this study shows that single-pulse megahertz FUS delivered can drive intracellular Ca^{2+} signaling while inducing DA release from human DA neurons. These findings highlight the potential of implantable megahertz FUS as a

selective neurostimulation tool for targeting dopaminergic circuits relevant to neurological disorders.