



HAL
open science

Connecter des neurones artificiels et des neurones vivants: développement d'une interface fonctionnelle

Dimitri Henniquau, Nathan Schoonjans, Rédha Kassi, David Delcroix, Vanessa Avramovic, Valerio Farfariello, Pascal Mariot, A. Cappy, Alexis Vlandas, Christel Vanbesien, et al.

► To cite this version:

Dimitri Henniquau, Nathan Schoonjans, Rédha Kassi, David Delcroix, Vanessa Avramovic, et al.. Connecter des neurones artificiels et des neurones vivants: développement d'une interface fonctionnelle. GDR BioComp PhD Forum 2021, GDR BioComp, Nov 2021, Grenoble (virtual), France. hal-03455151

HAL Id: hal-03455151

<https://hal.science/hal-03455151v1>

Submitted on 29 Nov 2021

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.

CONNECTER DES NEURONES ARTIFICIELS ET DES NEURONES VIVANTS : DEVELOPPEMENT D'UNE INTERFACE FONCTIONNELLE

D. Henniquau¹, N. Schoonjans¹, R. Kassi^{1,2}, D. Delcroix², V. Avramovic¹, V. Farfariello³, P. Mariot³, A. Cappy^{1,2}, A. Vlandas¹, C. Vanbesien-Mailliot¹, V. Hoel¹

¹ Univ Lille, CNRS, Centrale Lille, Junia, Univ. Polytechnique Hauts-de-France, UMR 8520 - IEMN - Institut d'Electronique de Microélectronique et de Nanotechnologie, F-59000 Lille, France. ² Univ. Lille, CNRS, USR 3380 - IRCICA - Institut de Recherche sur les Composants logiciels et matériels pour l'Information et la Communication Avancée, F-59000 Lille, France. ³ Univ. Lille, Inserm, U1003 - PHYCEL - Physiologie Cellulaire, F-59000 Lille, France

Introduction

L'ingénierie neuromorphique est un champ disciplinaire en pleine expansion qui vise à reproduire le fonctionnement du cerveau humain par le biais de réseaux de neurones artificiels. Les systèmes neuromorphiques ainsi produits permettraient de développer des systèmes de traitement de l'information à la fois plus efficaces et plus économes en énergie que les ordinateurs actuels. Leur utilisation est également envisagée dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques visant à prendre en charge les maladies neurodégénératives, particulièrement par la production de neuroprothèses. Dans ce contexte, les chercheurs du groupe Circuits Systèmes Applications des Micro-ondes de l'Institut d'Electronique de Microélectronique et de Nanotechnologies (CSAM) ont contribué au développement d'une boîte à outils constituée de neurones artificiels et de synapses artificielles. Ces neurones artificiels présentent une excellente efficacité énergétique et sont capables d'émettre des signaux électriques biomimétiques (Sourikopoulos *et al.*, 2017, Hedayat, 2018).

Afin d'intégrer les systèmes neuromorphiques dans des neuroprothèses, il apparaît nécessaire d'étudier les solutions permettant d'interfacer un neurone vivant et un neurone artificiel. En ce sens, la conception et la réalisation d'une interface fonctionnelle permettant d'établir une boucle de communication bidirectionnelle entre des neurones artificiels et des neurones vivants fait l'objet du travail de thèse ici présenté. Ce travail se concrétise par le développement d'une interface fonctionnelle permettant la culture de neurones vivants puis l'étude par imagerie calcique de la réponse des neurones vivants à une stimulation électrique biomimétique.

Développement d'un système neurobiohybride permettant la culture de neurones vivants

Tout d'abord, un état de l'art des réseaux de microélectrodes (Microelectrodes Array, MEA) a permis d'orienter notre travail vers la conception d'un système neurobiohybride constitué d'électrodes métalliques planaires sur lesquelles sont cultivés des neurones vivants (Radivojevic *et al.*, 2016, Mosbacher *et al.*, 2020 Ballini *et al.*, 2014; Frey *et al.*, 2010). Après

ce travail bibliographique préliminaire, nous avons commencé par concevoir et développer un modèle électrique représentant un neurone vivant interfacé avec une électrode métallique planaire. Ce modèle est complété par une modélisation des éléments parasites liés à l'interface entre la membrane neuronale et l'électrode. L'exploitation de ce modèle a permis de montrer qu'il est possible de stimuler un neurone vivant en utilisant les signaux biomimétiques issus du modèle de neurone artificiel tout en conservant des tensions d'excitation faibles au regard de la littérature (Bucelli *et al.*, 2019; Radivojevic *et al.*, 2016; Wagenaar *et al.*, 2004, Akbar *et al.*, 2016; Eusebio *et al.*, 2011; Little & Brown, 2012). L'utilisation de faibles tensions d'excitation permettrait d'améliorer l'efficacité énergétique des systèmes neurobiohybrides intégrant ces neurones artificiels et d'amoindrir le risque d'endommager les tissus vivants. Cette étape de modélisation et de simulation est poursuivie par un travail de conception et de réalisation du système neurobiohybride permettant l'observation de la réponse de neurones vivants à des excitations biomimétiques. Ce système neurobiohybride est constitué d'un substrat de verre sur lequel sont déposées les électrodes métalliques par un procédé de résinage et de métallisation par évaporation. Le transfert du motif des électrodes sur la résine est effectué par gravure laser. Cette technique innovante ne nécessite pas de masque physique, autorisant une modification simple et rapide des motifs à transférer. Le puits de culture cellulaire est obtenu en collant un anneau de polydiméthylsiloxane (PDMS) sur le substrat. Dans les conditions expérimentales, les électrodes sont recouvertes d'un revêtement de poly-D-lysine et de collagène et le puits est rempli de milieu de culture cellulaire. Une caractérisation expérimentale de l'interface entre les électrodes et le milieu de culture cellulaire a permis de valider l'approche consistant à exciter un neurone vivant au travers d'une électrode métallique planaire.

Démonstration de l'excitation de neurones vivants cultivés en dispositifs neurobiohybrides par des signaux électriques biomimétiques

Les cellules utilisées sont des neurones catécholaminergiques dérivés de cellules PC-12 (ATCC, CRL-1721) différenciées par exposition au NGF (Sigma-Aldrich, SRP4304) (Greene & Tischler, 1976; Wiatrak *et al.*, 2020). Ce choix a été guidé par les données disponibles dans la littérature, montrant que ces cellules sont bien caractérisées sur les plans morphologiques et électrophysiologiques (Dichter *et al.*, 1977; Hu *et al.*, 2018) et sont communément utilisées en neuroscience (Hu *et al.*, 2018; Wiatrak *et al.*, 2020). L'étude des techniques de détection usuelles des potentiels d'actions a permis de sélectionner l'imagerie calcique afin d'objectiver la réponse des neurones vivants à nos excitations.

Ainsi, nous avons cultivé et différencié ces neurones vivants sur les électrodes du système neurobiohybride. Une caractérisation au microscope optique et en utilisant la technique du *patch clamp* (en collaboration avec l'unité INSERM UMR 1003) permet d'affirmer que les cellules PC-12 différenciées développent un phénotype neuronal et sont électriquement actives après exposition au NGF, conformément aux descriptions disponibles dans la littérature (Dichter *et al.*, 1977; Hu *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2011; Zhong *et al.*, 2019). Les études par imagerie calcique réalisées en collaboration avec l'unité INSERM UMR 1003 montrent que les neurones différenciés dans les systèmes neurobiohybrides répondent bien aux stimulations exercées par des signaux électriques biomimétiques.

Conclusion

Les travaux réalisés au cours de cette thèse apportent une preuve expérimentale de la capacité de signaux électriques biomimétiques à exciter des neurones vivants et étayent ainsi la première partie de la boucle de communication bidirectionnelle. Il apparaît ensuite nécessaire de développer un banc innovant permettant de mettre en évidence l'ensemble de la boucle de communication bidirectionnelle. Ce banc permettra simultanément l'excitation d'un neurone vivant interfacé avec une électrode sur une première voie et l'enregistrement des signaux électriques émis par ce neurone vivant sur une seconde voie. Ces travaux font l'objet d'une thèse réalisée par Mr. Nathan Schoonjans. En vue du développement de neuroprothèses utilisant cette technologie de neurones artificiels, il apparaît important d'adapter les systèmes neurobiohybrides aux contraintes imposées par une implantation dans des tissus vivants. En ce sens, une thèse menée par Mme. Chakrya-Anna Chhuon vise à concevoir de nouveaux neurobiohybrides sur substrats souples.

Remerciements

Nous remercions le Dr. Aude Sivery et le Dr. Jérôme Follet pour leur aide et leurs précieux conseils de culture cellulaire. Nous remercions également à Pascal Tilmant et au Dr. François Vaurette ainsi que toute l'équipe de la Centrale de Micro et Nano Fabrication de l'IEMN pour leurs contributions essentielles à la fabrication des neurobiohybrides. Nous remercions également le Dr. Mohamed Bellaredj pour ses importantes contributions à l'évolution des Neurobiohybrides. Enfin, nous adressons nos remerciements aux chercheurs du projet SPINE, le Pr. Alain Cappy, le Pr. François Danneville, le Pr. Virginie Hoel, le Dr. Christophe Loyez, le Dr. Ilias Sourikopoulos et Mr. Kevin Carpentier pour leur contribution au développement des neurones et synapses artificiels.

Ce travail a pu être mené à bien grâce au soutien financier de Interconnect CNRS Innovation, DiSyknow ISite ULNE et Retina CPER Photonics for Society, ainsi que le réseau français RENATECH.

References

Akbar, U., Raike, R. S., Hack, N., Hess, C. W., Skinner, J., Martinez-Ramirez, D., DeJesus, S., & Okun, M. S. (2016). Randomized, Blinded Pilot Testing of Nonconventional Stimulation Patterns and Shapes in Parkinson's Disease and Essential Tremor: Evidence for Further Evaluating Narrow and Biphasic Pulses. *Neuromodulation*, 19(4), 343-356. <https://doi.org/10.1111/ner.12397>

Ballini, M., Müller, J., Livi, P., Chen, Y., Frey, U., Stettler, A., Shadmani, A., Viswam, V., Jones, I. L., Jäckel, D., Radivojevic, M., Lewandowska, M. K., Gong, W., Fiscella, M., Bakkum, D. J., Heer, F., & Hierlemann, A. (2014). A 1024-Channel CMOS Microelectrode Array With 26,400 Electrodes for Recording and Stimulation of Electrogenic Cells In Vitro. *IEEE Journal of Solid-State Circuits*, 49(11), 2705-2719. <https://doi.org/10.1109/JSSC.2014.2359219>

Bucelli, S., Bornat, Y., Colombi, I., Ambroise, M., Martines, L., Pasquale, V., Bisio, M., Tessadori, J., Nowak, P., Grassia, F., Averna, A., Tedesco, M., Bonifazi, P., Difato, F., Massobrio, P., Levi, T., & Chiappalone, M. (2019). A Neuromorphic Prosthesis to Restore Communication in Neuronal Networks. *IScience*, 19, 402-414. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.07.046>

Dichter, M. A., Tischler, A. S., & Greene, L. A. (1977). Nerve growth factor-induced increase in electrical excitability and acetylcholine sensitivity of a rat pheochromocytoma cell line. *Nature*, 268(5620), 501-504. <https://doi.org/10.1038/268501a0>

Eusebio, A., Thevathasan, W., Doyle Gaynor, L., Pogosyan, A., Bye, E., Foltynie, T., Zrinzo, L., Ashkan, K., Aziz, T., & Brown, P. (2011). Deep brain stimulation can suppress pathological synchronisation in parkinsonian patients. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 82(5), 569-573. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2010.217489>

Frey, U., Sedivy, J., Heer, F., Pedron, R., Ballini, M., Mueller, J., Bakkum, D., Hafizovic, S., Faraci, F. D., Greve, F., Kirstein, K., & Hierlemann, A. (2010). Switch-Matrix-Based High-Density Microelectrode Array in CMOS Technology. *IEEE Journal of Solid-State Circuits*, 45(2), 467-482. <https://doi.org/10.1109/JSSC.2009.2035196>

Greene, L. A., & Tischler, A. S. (1976). Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 73(7), 2424-2428.

Hedayat, S. (2018). *Conception et fabrication de neurones artificiels pour le traitement bioinspiré de l'information* [These de doctorat, Lille]. <https://www.theses.fr/2018LILUI039>

Hu, R., Cao, Q., Sun, Z., Chen, J., Zheng, Q., & Xiao, F. (2018). A novel method of neural differentiation of PC12 cells by using Opti-MEM as a basic induction medium. *International Journal of Molecular Medicine*, 41(1), 195-201. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3195>

Little, S., & Brown, P. (2012). Brain Stimulation in Neurology and Psychiatry. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1265(1), 9-24. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06650.x>

Mosbacher, Y., Khoystatee, F., Goldin, M., Kanner, S., Malakai, Y., Silva, M., Grassia, F., Simon, Y. B., Cortes, J., Barzilai, A., Levi, T., & Bonifazi, P. (2020). Toward neuroprosthetic real-time communication from in silico to biological neuronal network via patterned optogenetic stimulation. *Scientific Reports*, 10(1), 7512. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63934-4>

Radivojevic, M., Jäckel, D., Altermatt, M., Müller, J., Viswam, V., Hierlemann, A., & Bakkum, D. J. (2016). Electrical Identification and Selective Microstimulation of Neuronal Compartments Based on Features of Extracellular Action Potentials. *Scientific Reports*, 6(1), 31332. <https://doi.org/10.1038/srep31332>

Sourikopoulos, I., Hedayat, S., Loyez, C., Danneville, F., Hoel, V., Mercier, E., & Cappy, A. (2017a). A 4-fJ/Spike Artificial Neuron in 65 nm CMOS Technology. *Frontiers in Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00123>

Wagenaar, D. A., Pine, J., & Potter, S. M. (2004). Effective parameters for stimulation of dissociated cultures using multi-electrode arrays. *Journal of Neuroscience Methods*, 138(1-2), 27-37. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.03.005>

Wiatrak, B., Kubis-Kubiak, A., Piwowar, A., & Barg, E. (2020). PC12 Cell Line : Cell Types, Coating of Culture Vessels, Differentiation and Other Culture Conditions. *Cells*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/cells9040958>

Yang, X., Liu, X., Zhang, X., Lu, H., Zhang, J., & Zhang, Y. (2011). Investigation of morphological and functional changes during neuronal differentiation of PC12 cells by combined Hopping Probe Ion Conductance Microscopy and patch-clamp technique. *Ultramicroscopy*, 111(8), 1417-1422. <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2011.05.008>

Zhong, L.-Y., Fan, X.-R., Shi, Z.-J., Fan, Z.-C., Luo, J., Lin, N., Liu, Y.-C., Wu, L., Zeng, X.-R., Cao, J.-M., & Wei, Y. (2019). Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Ion (HCN) Channels Regulate PC12 Cell Differentiation Toward Sympathetic Neuron. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00415>