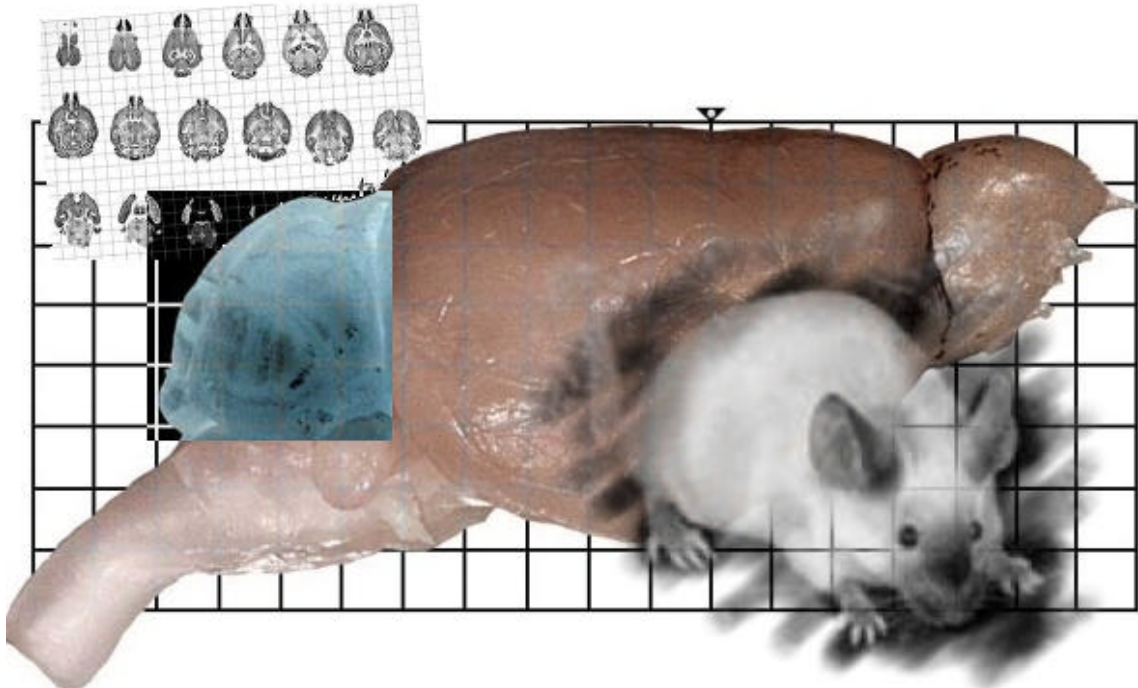


Capacités d'habituation et de mémorisation des souris Lurcher en Openfield Spatial

*Rapport de stage de Maitrise de Biologie des Populations
et des Écosystèmes, présenté par Thomas PIAZZA*

Maitre de stage : Catherine BELZUNG



Remerciements

Je tiens à remercier tout le personnel du Laboratoire d'Éthologie et de Pharmacologie du Comportement, en particulier Monsieur Le Roux pour m'avoir permis de trouver ce stage et pour son énergie communicative ; Madame Belzung pour ses conseils, ses travaux statistiques, et sa bonne humeur ; Monsieur Chapillon pour m'avoir fourni le matériel biologique ainsi que de précieuses informations ; et Nadia pour m'avoir aiguillé dans mon étude.

Je remercie également Monsieur Bonnet et Monsieur Guinet, du CEBC-CNRS de Chizé, qui ne sont pas intervenus directement pour mon stage de Maîtrise, mais m'ont fait comprendre quelques subtilités de l'interprétation et de l'énonciation scientifique.

Enfin je remercie ma famille et mes amis pour leur soutien, et Noémie pour son assistance attentionnée et sa compréhensive patience tout au long de mon travail.

Sommaire

1. Introduction	1
2. Matériel et méthodes	4
2.1. Animaux	4
2.2. Dispositif expérimental	4
2.3. Procédure	5
2.4. Comportements observés	5
2.5. Analyse statistique	6
3. Résultats	7
3.1. Comportement des souris au sein de chaque séance	7
3.2. Habituation et mémorisation	9
4. Discussion	11
4.1. Activité générale	11
4.2. Habituation et mémorisation	12
4.3. Comparaison animal/homme	14
Bibliographie	Annexe - a

1. Introduction

Depuis les premiers travaux, il y a une trentaine d'années, portant sur le cervelet en tant que "machine neuronale" (ECCLES et al., 1967), l'idée selon laquelle cette région du cerveau joue un rôle primordial dans l'apprentissage locomoteur et le contrôle de la posture a été couramment acceptée (ITO, 1984 ; MARR, 1969). De plus, beaucoup d'auteurs ont suggéré l'existence d'un rôle plus élaboré du cervelet dans le contrôle du comportement (WATSON, 1978 ; PELLEGRINO et ALTMAN, 1979 ; FEHRENBACH et al., 1984 ; BOTEZ et al., 1985 ; LALONDE et al., 1986 ; STRAZIELLE et LALONDE, 1997) ou dans les capacités d'apprentissage et d'orientation spatiale (LALONDE et BOTEZ, 1990), voire dans la perception du temps (MONFORT et al., 1998). Ces données suggèrent notamment un rôle important du cervelet dans les comportements exploratoires.

L'étude du cervelet est d'autant plus intéressante que la majeure partie de son organisation fonctionnelle s'opère après la naissance. Les mutations neurologiques animales revêtent un intérêt particulier pour l'étude du cervelet, et représentent d'excellents modèles pour certaines pathologies neurodégénératives héréditaires chez l'homme (VIG et al., 1992 ; VIG et al., 1994).

Parmi celles-ci, la pathologie animale "Lurcher" correspond à une mutation neurologique spontanée et semi-dominante des souris, affectant spécifiquement le cervelet, et décrite pour la première fois en 1960 (PHILLIPS, 1960). Des travaux plus récents ont démontré qu'il s'agit d'une substitution nucléotidique entraînant une substitution d'acides aminés dans le domaine transmembranaire III du récepteur *Grid2* (*Glutamate Receptor Ionotropic Delta 2*) de certains neurones (ZUO et al., 1995 ; ZUO et al., 1997). Le gain de fonction de ce récepteur et la perturbation de l'homéostasie de la cellule provoquent la réentrée des neurones dans le cycle cellulaire (HERRUP et BUSSER, 1995) et active le phénomène d'apoptose (mort cellulaire programmée) (HEINTZ, 1993 ; NORMAN et al., 1995).

Les homozygotes (Lc/Lc) meurent rapidement après la naissance bien que sans malformation visible, du fait d'une perte massive, au cours des phases finales de

l'embryogenèse, des neurones du cortex cérébelleux et du tronc cérébral, en particulier au niveau du noyau moteur du trijumeau (ce qui les empêche sans doute de téter) (CHENG et HEINTZ, 1997).

Les souris hétérozygotes (Lc/+) ont une espérance de vie normale et sont fertiles, bien que de taille plus réduite que les souris saines de même souche (PHILLIPS, 1960). En revanche elles sont caractérisées par une dégénérescence massive des cellules de Purkinje au cours de la deuxième semaine après la naissance (CADDY et BISCOE, 1976 ; SWISHER et WILSON, 1977 ; CADDY et BISCOE, 1979 ; HERRUP et MULLEN, 1979a, 1979b, 1981 ; WETTS et HERRUP, 1982). Cet affection induit secondairement la perte de 90% des cellules granulaires et de 60% des neurones du noyau inférieur de l'olive (ZANJANI et al., 1990 ; HECKROTH et EISENMAN, 1991) qui meurent du fait de l'absence de soutien trophique de la part de leur principale cible post-synaptique, les cellules de Purkinje (HERRUP et BUSSE, 1995).

Cette aberration neurale a pour conséquences une ataxie sévère, une mauvaise coordination, des mouvements saccadés et des sursauts caractéristiques (LALONDE et al., 1995 ; LALONDE et al., 1996b), mais pas d'hypo-activité générale (LALONDE et al., 1986 ; LALONDE et al., 1996b).

Les souris Lurcher ont été beaucoup étudiées, ainsi que d'autres rongeurs portant des lésions neurologiques (THOMPSON, 1976 ; BUCHTEL, 1970), dans des tests de coordination visuo-motrice et d'apprentissages sensori-moteurs, ceci dans le cadre de recherches sur l'importance du cervelet et les effets de son altération sur les comportements moteurs orientés dans l'espace. Les souris Lurcher présentent des insuffisances, mais pas dans tous les tests moteurs (LALONDE et al., 1992 ; LALONDE et al., 1996b), et leur vitesse d'apprentissage moteur n'est pas significativement réduite (LALONDE, 1994 ; LALONDE et al., 1995).

Leurs capacités de mémorisation ont déjà été analysées. En particulier ces souris, comparées à des souris saines de même souche, montrent des déficits significatifs dans le test de la piscine de Morris (LALONDE et al., 1988 ; LALONDE et THIFAU, 1994), la tâche d'alternance spontanée en labyrinthe aquatique spatial en "T" (LALONDE et al., 1986), le labyrinthe aquatique en "Z" (LALONDE et al., 1996a), dans des tests d'évitement passif (VOZEH et al., 1997), des processus d'apprentissage de discriminations successives (WATSON, 1978), etc...

Aussi surprenant que cela puisse paraître, la seule étude concernant les effets de lésions du cervelet sur la mémoire visuelle de reconnaissance a été effectuée chez le pigeon (MONJAN

et PETERS, 1970). Dans la mesure où les résultats précédents indiquent que le cervelet a un rôle non-négligeable dans les apprentissages spatiaux liés à une tâche précise, il serait intéressant de mettre en évidence son implication dans les processus d'habituation, d'apprentissage spatiaux latents.

Dans cette optique, la présente étude vise à comparer le comportement des souris saines et des souris Lurcher en Openfield Spatial. Ce protocole, déjà utilisé sur divers rongeurs adultes (WILZ et BOLTON, 1971 ; CHEAL, 1978 ; LUKASZEWSKA et DLAWICHOWSKA, 1982 ; THINUS-BLANC et INGLE, 1985 ; POU CET et al., 1986), sur des souris saines adultes (ROULLET et LASSALLE, 1990 ; LASSALLE et al., 1991), ainsi que sur de jeunes souris saines (CHAPILLON et ROULLET, 1997), a pour objectif de mettre en évidence la capacité des animaux à intégrer les informations sensorielles de leur environnement, et à réagir à une modification de cet environnement: cette réaction, considérée comme une indication valide de la détection de la modification par l'animal, implique que le nouvel environnement soit comparé à une représentation mentale, ou un modèle interne, de l'ancien environnement. Il est étonnant de constater que cette recherche n'a jusqu'à présent jamais été conduite sur les souris Lurcher ou toute autre souris portant une mutation neurodégénérante du cervelet.

Puisque la plupart des tests déjà effectués sur les Lurcher font intervenir des tâches précises d'apprentissage sensori-moteur ou de discrimination, il est difficile de prédire les aptitudes de ces souris dans un protocole où les comportements sont observés en absence de contrainte ou de tâche particulière. Cependant, on peut prévoir des déficits liés à l'ataxie des souris, qui peut faire obstacle à leurs comportements exploratoires.

2. Matériel et méthodes

2.1. Animaux

Ces travaux ont été conduits sur 24 souris de souche B6CBA âgées d'environ quatre mois au moment des observations, élevées à l'animalerie du Laboratoire.

Ces souris étaient réparties en quatre lots : 6 mâles et 6 femelles sauvages (+/+) servant de témoins, et 6 mâles et 6 femelles hétérozygotes pour la mutation *Grid2*<Lurcher> (Lc/+).

Durant les trois semaines de tests, les souris ont été conservées dans leurs quatre cages, disposant d'eau et de nourriture à volonté, et conditionnées dans un local d'expérimentations soumis à un cycle jour/nuit inversé de 12 heures par phase (avec allumage des lumières à 20h), de telle façon que les périodes d'observation (l'après-midi) correspondent à la phase "nocturne" des souris, lorsqu'elles sont les plus actives.

2.2. Dispositif expérimental

Le matériel expérimental (Fig. 1) consistait en un cylindre en PVC gris de 40cm de diamètre et 30 cm de haut. Le fond était divisé en sept secteurs de surface égale (180 cm²), un circulaire au centre et six à la périphérie.

Collée sur la paroi interne du cylindre, une feuille transparente (20x30cm) hachurée d'épaisses rayures noires verticales servait de repère visuel et indiquait le secteur où chaque

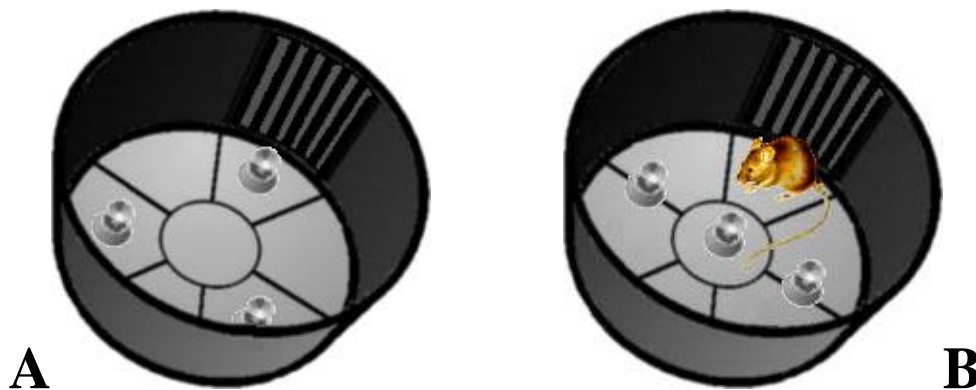


Fig. 1 - Openfield Spatial. A : configuration "en V" pendant les trois séances d'habituation.
B : configuration "en ligne" pendant la séance de test.

souris était déposée au début de chaque séance.

Les observations étant effectuées dans une pièce obscure, la lumière était apportée par une lampe à faible lumière rouge placée 55cm au-dessus de l'Openfield, et dont la position, ainsi que celles de l'observateur et des divers éléments de la pièce, constituaient autant de repères visuels potentiels supplémentaires pour l'orientation des souris.

2.3. Procédure

Chaque souris a été observée pendant quatre séances de 15 minutes, séparées par des intervalles de 1 heure 30 (les souris étaient alors replacées dans leurs cages, en compagnie des autres animaux de leur lot). Les souris étaient observées dans un ordre semi-aléatoire, afin de ne pas introduire un biais observateur dû à l'étude continue du même type de souris. Le fond et les parois de l'Openfield Spatial étaient nettoyés à l'alcool avant chaque séance, afin de supprimer toute trace odorante.

2.3.1. Habituation (séances 1 à 3)

Au cours des trois premières séances, les souris étaient placées dans l'Openfield Spatial au niveau du transparent hachuré, et ainsi exposées à trois objets identiques métalliques, disposés "en V" (Fig. 1A), l'un des objets étant dans le secteur de dépôt des souris, surplombé par le transparent hachuré.

2.3.2. Mémorisation de la configuration spatiale des objets (séance 4)

Au cours de la quatrième séance, également de 15 minutes, la configuration spatiale des objets était changée de telle sorte qu'ils soient alignés (Fig. 1B), le secteur de dépôt des souris ne contenant alors plus d'objet.

2.4. Comportements observés

Les comportements de chaque souris ont été enregistrés à l'aide d'un Organiseur afin d'être quantifiés, et regroupés en quatre catégories :

- 1- Déplacements (D) : traversées des secteurs de l'Openfield Spatial
- 2- Redressements contre la Paroi (RP) : appuis contre la paroi, voire sauts contre celle-ci
- 3- Inspection des Objets (IO) : flairages, léchages, et morsures des objets
- 4- Appuis contre les Objets (AO) : appuis sur les objets, ou marche dessus.

2.5. Analyse statistique

Une ANOVA à deux facteurs a été menée pour estimer les effets du sexe, du génotype, et de leurs interactions, sur les résultats de chaque séance.

Des mesures répétées ont permis d'analyser au sein de chaque génotype les pentes des courbes d'habituation entre les séances 1 et 3, et de réaction à la modification du dispositif entre les séances 3 et 4. Une ANOVA à deux facteurs sur ces mesures répétées a été conduite afin d'évaluer les effets du sexe, du génotype, et de leur interaction, sur les pentes des courbes obtenues.

3. Résultats

3.1. Comportements des souris au sein de chaque séance

3.1.1. Séance 1 (objets "en V")

Dès la première séance, l'effet du génotype est significatif pour tous les comportements observés. La mobilité (Fig. 2-D) est sensiblement réduite chez les souris Lurcher ($F(1, 20) = 16.33, P < 0.005$), de même que les redressements contre la paroi (Fig. 2-RP) ($F(1, 20) = 27.91, P < 0.001$) et les comportements liés aux objets (inspections (Fig. 2-IO) : $F(1, 20) = 29.39, P < 0.001$; appuis (Fig. 2-AO) : $F(1, 20) = 5.58, P < 0.05$).

Le nombre de déplacements montre également une interaction entre sexe et génotype ($F(1, 20) = 6.25, P < 0.05$), les femelles étant plus actives que les mâles chez les souris saines alors que l'inverse est observé chez les souris Lurcher.

3.1.2. Séance 2 (objets "en V")

Durant la seconde séance, la mobilité (Fig. 2-D) reste sous l'influence des mêmes éléments : facteur génotype ($F(1, 20) = 11.2, P < 0.005$) et interaction des facteurs sexe/génotype ($F(1, 20) = 8.36, P < 0.01$).

Les redressements contre la paroi (Fig. 2-RP) sont encore significativement plus nombreux chez les souris saines que chez les souris Lurcher ($F(1, 20) = 11.42, P < 0.005$), et de plus l'écart accentué entre les résultats des souris Lurcher mâles et femelles met en évidence une interaction sexe/génotype pour ce comportement ($F(1, 20) = 5.84, P < 0.05$), les femelles se redressant plus que les mâles chez les souris saines alors que l'inverse est observé chez les souris Lurcher.

Pour l'inspection des objets (Fig. 2-IO), les résultats de cette deuxième séance vont dans le même sens que ceux de la première : les souris saines flairent plus que les souris Lurcher ($F(1, 20) = 5.17, P < 0.05$).

Par contre l'appui contre les objets (Fig. 2-AO) est cette fois influencé par une interaction sexe/génotype ($F(1, 20) = 4.65, P < 0.05$), les femelles saines s'appuyant plus contre les

objets que les mâles sains, alors que le contraire est observé entre souris Lurcher mâles et femelles.

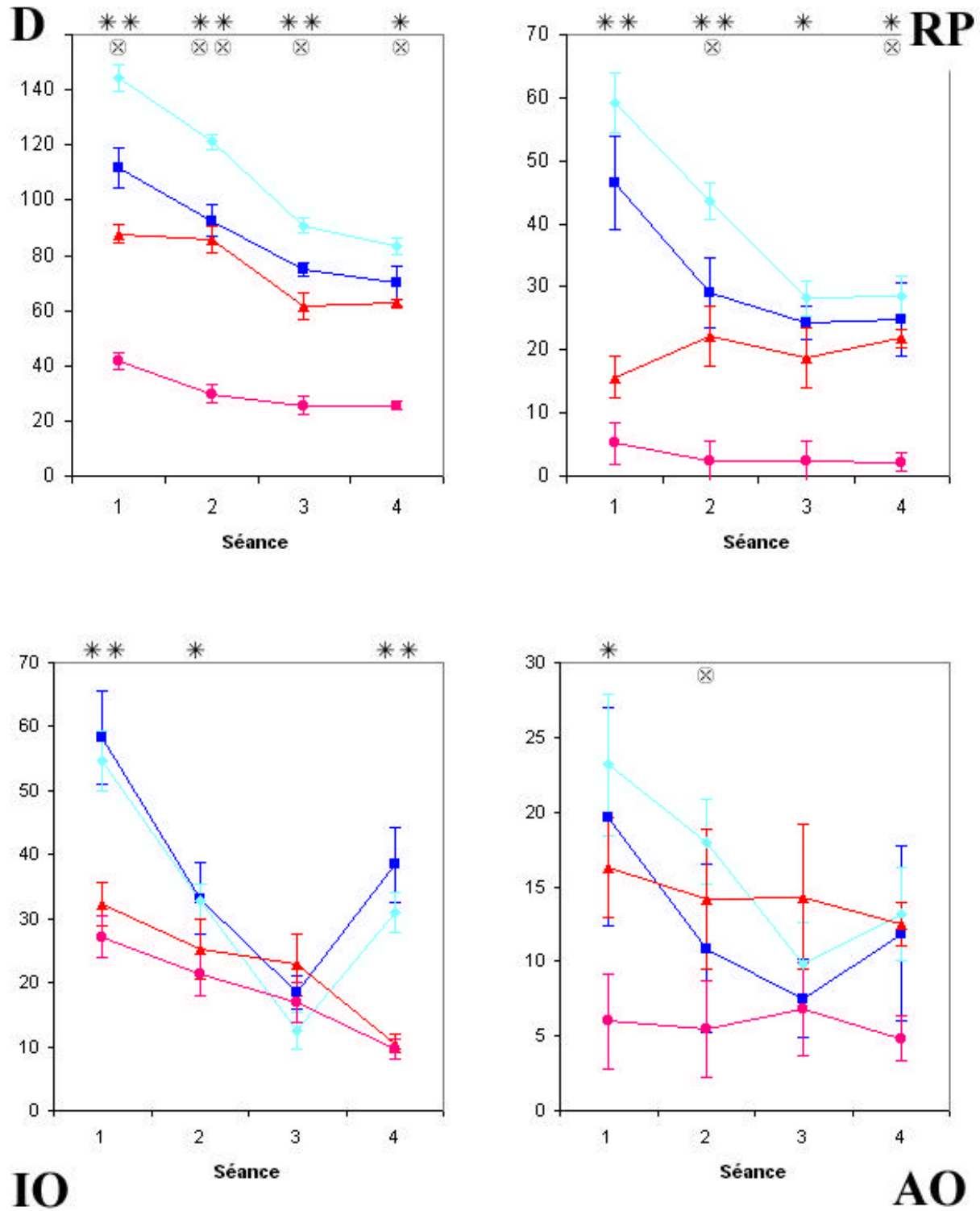


Fig. 2 - Comportements enregistrés (moyenne par lot de souris et erreur-type) au cours de chacune des 4 séances.
Légende : ■ mâles et ● femelles saines ; ▲ mâles et ● femelles Lurcher.
D : déplacements (génotype : * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$; interaction sexe/génotype : ⊗ $P < 0.05$, ⊗⊗ $P < 0.01$).
RP : redressements contre la paroi (génotype : * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$; interaction sexe/génotype : ⊗ $P < 0.05$).
IO : inspection des objets (génotype : * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$).
AO : appuis contre les objets (génotype : * $P < 0.05$; interaction sexe/génotype : ⊗ $P < 0.05$).

3.1.3. Séance 3 (objets "en V")

Au cours de la troisième séance, les déplacements des souris (Fig. 2-D) sont toujours significativement différents en fonction du génotype ($F(1, 20) = 11.49, P < 0.05$) et l'interaction sexe/génotype est également significative ($F(1, 20) = 5.10, P < 0.05$), toujours dans le même sens que précédemment.

De même, encore une fois, les résultats indiquent que les souris saines se redressent beaucoup plus contre la paroi que les souris Lurcher (Fig. 2-RP) ($F(1, 20) = 7.41, P < 0.05$), sans interaction sexe/génotype cependant.

Par contre aucune différence significative n'est mise en évidence entre les souris pour ce qui concerne les comportements liés aux objets (inspection ou appuis).

3.1.4. Séance 4 (objets alignés)

La modification de la configuration des objets dans l'Openfield Spatial au cours de la quatrième séance de test n'affecte pas les différences déjà observées entre les souris pour ce qui concerne les déplacements (Fig. 2-D) : les souris Lurcher sont moins mobiles que les souris saines ($F(1, 20) = 7.68, P < 0.05$), et l'interaction sexe/génotype est encore une fois mise en évidence ($F(1, 20) = 4.66, P < 0.05$).

Les redressements (Fig. 2-RP) sont également significativement plus nombreux chez les souris saines que chez les souris Lurcher ($F(1, 20) = 7.39, P < 0.05$), et l'interaction sexe/génotype montre encore que ce sont les femelles qui se redressent le plus chez les souris saines, alors que ce sont les mâles chez les Lurcher.

L'inspection des objets est dans cette quatrième séance significativement beaucoup plus élevée chez les souris saines que chez les souris Lurcher ($F(1, 20) = 50.34, P < 0.001$) : en effet elle a augmenté entre la troisième et la quatrième séance pour les souris saines, alors que pour les souris Lurcher il n'a cessé de décroître pendant les quatre séances (Fig. 2-IO).

Aucune différence significative n'est révélée par l'ANOVA au cours de cette dernière séance pour ce qui concerne les appuis contre les objets.

3.2. Openfield Spatial : habituation et mémorisation

3.2.1. Habituation des souris entre les séances 1 et 3

L'ANOVA effectuée sur les mesures répétées met en évidence un effet significatif du génotype sur la capacité d'habituation, en ce qui concerne l'inspection des objets, qui diminue

beaucoup plus nettement chez les souris saines que chez les souris Lurcher ($F(1, 20) = 9.54$, $P < 0.01$), au point qu'à la troisième séance le nombre d'inspections d'objets observées (flairages, morsures, etc...) est sensiblement le même pour les quatre lots de souris (voir 3.1.3.) alors qu'à la première séance les souris saines flairaient et mordaient beaucoup plus les objets que les souris Lurcher (voir 3.1.1.). L'ANOVA ne montre pas d'effet du sexe ni d'interaction sexe/génotype pour ce comportement.

L'habituation est significativement différente également si l'on considère les déplacements, cette différence étant cette fois-ci sous l'influence du génotype ($F(1, 20) = 15.72$, $P < 0.001$) mais aussi d'une interaction sexe/génotype ($F(1, 20) = 7.94$, $P < 0.01$) : le nombre de déplacements diminue plus rapidement chez les souris saines que chez les souris Lurcher, et l'effet du sexe est encore une fois inversé entre les deux génotypes.

Les résultats sont moins nets pour les autres comportements : les pentes des courbes de redressements contre la paroi et d'appuis sur les objets des souris Lurcher étant très différent entre les deux sexes, il est difficile d'établir une différence liée au génotype pour ces comportements. Cependant, sans tenir compte des souris Lurcher, le nombre d'appuis contre les objets diminue significativement chez les souris saines, ce qui met en évidence une habituation ($F(1, 20) = 25.17$, $P < 0.001$).

3.2.2 Mémorisation, mise en évidence par la réaction au changement de configuration entre les séances 3 et 4

Entre les séances 3 et 4, les souris réagissent significativement différemment à la modification de la configuration spatiale des objets dans l'Openfield. Le nombre d'inspections d'objets entre ces deux séances augmente (double) chez les souris saines, ce qui correspond aux résultats antérieurs (ROULLET et LASSALLE, 1990 ; LASSALLE et al., 1991), alors qu'il continue de diminuer chez les souris Lurcher ($F(1, 20) = 14.75$, $P < 0.005$). Encore une fois, aucun effet du sexe ou d'une interaction sexe/génotype n'est mise en évidence pour ce comportement.

Pour les souris saines considérées seules, le nombre d'appuis contre les objets augmente également de façon significative, ce qui atteste d'une réaction au changement de configuration des objets ($F(1, 20) = 4.53$, $P < 0.05$). Par contre, les résultats de cette analyse ne sont pas significatifs pour les autres comportements, la variabilité entre les courbes des deux sexes dans chaque génotype étant trop importante pour que se dégage une différence nette imputable à un effet du génotype.

4. Discussion

Cette étude avait pour objectif de déterminer les effets de l'altération du cervelet des souris Lurcher sur leurs capacités d'habituement, et de mémorisation d'une configuration spatiale d'objets. L'analyse statistique des résultats a mis en évidence plusieurs différences entre souris saines et souris Lurcher.

4.1. Activité générale

Traditionnellement, dans l'Openfield Spatial, le dénombrement des déplacements (traversées des secteurs) rend compte de l'activité générale des individus. Au cours de chaque séance, les déplacements des souris Lurcher ont été quantitativement moins importants que ceux des souris saines, en grande partie du fait de leur difficulté à se déplacer.

Par ailleurs une nette différence a été observée entre mâles et femelles Lurcher pour tous les comportements, les femelles étant globalement moins actives. Puisqu'aucune des études précédentes sur les souris Lurcher n'a mis en évidence de telle distinction liée au sexe, et que l'écart entre les performances des femelles et des mâles ne se retrouve pas toujours dans le même sens chez les souris saines, il est délicat d'imputer cette dissemblance à un autre facteur que la grande variabilité comportementale des souris Lurcher : en effet, si certains individus mutants se sont avérés presque aussi actifs que des souris saines, d'autres (en l'occurrence quatre des six femelles Lurcher) ont montré de longues périodes d'immobilité, soit au centre de l'Openfield, soit blottis à sa périphérie.

La taille réduite des échantillons (six souris par lot) est sans doute à mettre en cause, et une étude sur un plus grand nombre d'animaux permettrait sans doute de statuer avec plus de certitude sur l'origine réelle de cette variabilité.

Quoi qu'il en soit, conformément aux hypothèses de départ, l'analyse a révélé que l'ataxie et en général les problèmes locomoteurs des souris Lurcher influencent beaucoup leurs capacités d'exploration de l'environnement. Des travaux antérieurs en labyrinthe en croix surélevé ont déjà suggéré une tendance des Lurcher, liée à leur pathologie, à explorer des régions plus réduites de leur nouvel environnement spatial, et de façon plus hasardeuse

(MONNIER et LALONDE, 1995). Il est certain que cette difficulté à explorer l'environnement constitue un obstacle indirect à l'habituation en Openfield Spatial.

4.2. Habituation et mémorisation

Les résultats des souris saines correspondent à ceux des travaux antérieurs (ROULLET et LASSALLE, 1990 ; LASSALLE et al., 1991). Leur habituation progressive à l'Openfield Spatial et en particulier à la configuration "en V" des objets, entre les séances 1 et 3, est visible pour tous les comportements de façon significative. Par ailleurs ces souris réagissent au changement de configuration au cours de la séance 4, cette réaction étant révélée par une augmentation importante de l'activité exploratoire dirigée particulièrement vers les objets (inspections et appuis), tandis que le nombre de déplacements continue de décroître. On peut donc considérer ces souris comme des témoins valides pour la comparaison avec les souris Lurcher.

L'analyse est plus difficile pour ce qui concerne les souris Lurcher, du fait de la grande variabilité observée entre mâles et femelles et évoquée plus haut. L'habituation des souris Lurcher est visible pour ce qui concerne le flairage (et l'inspection de manière générale) des objets, et à une moindre mesure pour les déplacements, mais nettement plus ambiguë pour les autres comportements quantifiés.

Il importe ici de prendre en compte le caractère "exclusif" de certains comportements, dont l'augmentation en nombre implique directement la diminution des autres : notamment, quatre des douze souris Lurcher ont effectué un nombre important de sauts vers les parois de l'Openfield, la plupart du temps sans réelle coordination, et de façon parfois continue au cours des séances. Il va de soi que pendant que la souris est occupée à sauter, son attention ne peut pas se porter sur la configuration des objets. Cette tendance des souris à vouloir sortir de l'Openfield plutôt que de l'explorer rappelle leur motivation pour sortir de l'eau dans le test de la piscine de Morris. Mais si cette fuite est justement un paramètre intéressant pour la piscine de Morris, à l'inverse dans le cas de l'Openfield Spatial ce comportement particulier, sans doute lié à la néophobie des rongeurs, tend plutôt à empêcher l'évaluation de leurs capacités réelles d'habituation et de mémorisation.

L'habituation des souris Lurcher a certes été mise en évidence, par contre elle se fait plus lentement que chez les souris saines, la diminution du nombre d'inspections des objets et de déplacements étant moins rapide. Cette différence peut s'expliquer en partie par un niveau

d'activité déjà significativement inférieur lors de la première séance, le fait que l'habituation arrive au même niveau d'activité final (pas de différence significative pour l'inspection des objets entre souris saines et Lurcher lors de la séance 3) expliquant une pente plus faible. On peut néanmoins aussi envisager que les souris Lurcher aient plus de difficultés à intégrer tous les stimuli de l'Openfield Spatial et à établir une sorte de "carte mentale" de leur environnement, en partie à cause de leur manque d'exploration : le flairage et les appuis sur les objets supposent une certaine proximité, qui est rendue difficile par une inhibition des déplacements parfois très importante pour certaines souris mutantes...

Le résultat le plus probant est sans doute l'absence de réaction significative au changement de configuration des objets au cours de la quatrième séance, qui révèle un effet important des lésions de ces souris sur leurs capacités d'intégration des données de l'environnement et de mémorisation spatiale. Il est cependant difficile à ce stade de déterminer si les souris mutantes ne réagissent pas parce qu'elles ne sont pas capables d'établir une représentation correcte de l'environnement du fait de leur pathologie, ou parce qu'elles n'ont pas encore eu le temps de correctement s'habituer à cet environnement au bout de seulement trois séances (du fait d'un traitement plus lent des données, mais avec des capacités peut-être égales). Leurs nombreuses difficultés d'apprentissage dans les autres tests, ainsi que d'autres aberrations du comportement des souris Lurcher (par exemple la manière dont certaines ont passé la presque totalité des quatre séances en Openfield Spatial à sauter contre la paroi, sans jamais se rapprocher du bord, mais sans "se rendre compte", c'est à dire "apprendre", que ces efforts étaient vains), conduisent à privilégier la première hypothèse.

On pouvait de toute façon raisonnablement s'attendre à ce que les résultats soient plus mitigés que dans les autres expériences portant sur les souris Lurcher. En effet, si les tests antérieurs ont exploré des processus de mémoire assez clairement défini (la piscine de Morris faisant intervenir la mémoire de référence, alors que le labyrinthe radiaire mobilise plutôt la mémoire de travail), par contre l'Openfield Spatial implique une forme d'apprentissage "latent" des animaux, sans renforcement expérimental ni motivation particulière, et met donc en œuvre une intégration beaucoup plus complexe des stimuli environnementaux, sans doute avec participation des deux types de mémoire. Les résultats obtenus sur la mémoire de travail et la mémoire à long terme des souris Lurcher (CASTON et al., 1997) conduisent à une réflexion sur les relations entre cervelet et hippocampe, et l'analyse des données n'en est que plus complexe.

4.3. Comparaison animal/homme

De plus en plus de données sur l'homme conduisent à penser que le cervelet n'est pas impliqué seulement dans des mécanismes de "stimulus-réponse", mais aussi dans des comportements cognitifs plus élaborés (BOTEZ et al., 1985 ; BOTEZ et al., 1989a ; BOTEZ et al., 1989b ; LEINER et al., 1986, 1987, 1989 ; SCHMAHMANN, 1991 ; BOTEZ-MARQUARD et BOTEZ, 1993).

Il convient de rappeler ici l'importance de ces travaux sur les souris Lurcher qui, outre la connaissance accrue de cette pathologie animale, permettent d'établir des modèles valides pour certaines pathologies humaines. Les troubles d'orientation spatiale observés chez les souris Lurcher concordent avec les études cliniques concernant l'intégration visuo-spatiale des patients ayant une atrophie du cervelet, et il existe à ce jour de nombreuses preuves de rapprochements possibles entre l'homme et l'animal pour ce qui concerne les lésions du cervelet (LISBURGER, 1982 ; CLARK et al., 1984 ; LAVOND et al., 1984 ; McCORMICK et THOMPSON, 1984 ; LINES et MILNER, 1985 ; McCORMICK et al., 1985 ; YEO et al., 1985a, 1985b, 1985c, 1986 ; LAVOND et al., 1987 ; SOLOMON et al., 1989 ; SEARS et STEINMETZ, 1990 ; MILLER et STEINMETZ, 1992).

La mutation Lurcher a d'ailleurs été suggérée comme modèle d'étude pour l'atrophie olivopontocérébelleuse (OPCA) (VIG et al., 1992 ; VIG et al., 1994).

En conclusions, la présente étude a conduit à des hypothèses intéressantes pour l'interprétation du rôle du cervelet dans les processus d'habituation et de mémorisation. Une analyse plus poussée des résultats permettrait sans doute de dégager d'autres pistes et hypothèses de travail. En particulier, l'analyse des données intra-séance (en comparant les cinq premières et les cinq dernières minutes de chaque séance) permettrait d'étudier l'habituation à court terme afin de mieux cibler les capacités des souris Lurcher dans ce domaine.

Par ailleurs, une étude de plus grande envergure, sur un plus grand nombre de souris, et impliquant différents types de mutations neurodégénérantes (Lurcher, mais aussi Staggerer, Weaver, etc...), permettrait sans doute de dégager des conclusions plus significatives et plus précises sur les rôles respectifs, dans les processus de mémorisation, des différents types de cellules atteintes par ces différentes pathologies.

Bibliographie

- BOTEZ M.I., J. LÉVEILLÉ and T. BOTEZ, 1989a.** Role of the cerebellum in cognitive thought: SPECT and neuropsychological findings. In: Rehabilitation: The Path back. (M. Matheson and H. Newman, Eds) Richmond: Australian Society for the Study of Brain Impairment. pp 179-195
- BOTEZ M.I., T. BOTEZ, R. ELIE and E. ATTIG, 1989b.** Role of the cerebellum in complex human behavior. *Ital. J. Neurol. Sci.*, 10 : 291-300.
- BOTEZ M.I., J. GRAVEL, E. ATTIG and J.L. VEZINA, 1985.** Reversible chronic cerebellar ataxia after phenytoin intoxication: possible role of cerebellum in cognitive thought. *Neurology*, 35 : 1152-1157.
- BOTEZ-MARQUARD T. and M.I. BOTEZ, 1993.** Cognitive behavior in heredo-degenerative ataxias. *Eur. Neurol.*, 33 : 351-357.
- BUCHTEL H.A., 1970.** Visual-learning deficits following cerebellar damage in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 72 : 296-305.
- CADDY K.W.T. and T.J. BISCOE, 1976.** The number of Purkinje cells and olive neurones in the normal and lurcher mutant mouse. *Brain Research*, 111 : 396-398.
- CADDY K.W.T. and T.J. BISCOE, 1979.** Structural and quantitative studies on the normal C3H and lurcher mutant mouse. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B.*, 287 : 167-201.
- CASTON J., F. VASSEUR, N. DELHAYE-BOUCHAUD and J. MARIANI, 1997.** Delayed spontaneous alternation in intact and cerebellectomized control and lurcher mutant mice: differential role of cerebellar cortex and deep cerebellar nuclei. *Behav. Neurosci.*, 111(1) : 214-218.
- CHAPILLON P. and P. ROULLET, 1997.** Habituation and memorization of spatial objects' configuration in mice from weaning to adulthood. *Behavioural Processes*, 39 : 249-256.
- CHEAL M.L., 1978.** Amphetamine effects on stimulus elicited investigation in the Mongolian Gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J. Biol. Psychol.*, 20 : 26-32.
- CHENG S.S. and N. HEINTZ, 1997.** Massive loss of mid- and hindbrain neurons during embryonic development of homozygous Lurcher mice. *J. Neurosci.*, 17 : 2400-2407.
- CLARK G.A., D.A. McCORMICK, D.G. LAVOND and R.F. THOMPSON, 1984.** Effects of lesions of cerebellar nuclei on conditioned behavioral and hippocampal neuronal responses. *Brain Res.*, 291 : 125-136.
- ECCLES J.C., M. ITO and J. SZENTAGOTHAÏ, 1967.** The cerebellum as a Neuronal Machine. *Springer-Verlag*.
- FEHRENBACH R.A., C.W. WALLECH and D. CLAUS, 1984.** Neuropsychologic findings in Freidrich's ataxia. *Arch. Neurol.*, 41 : 306-308.
- HECKROTH J.A. and L.M. EISENMAN, 1991.** Olivary morphology and oliocerebellar pathology in adult Lurcher mutant mice. *J. Comp. Neurol.*, 312 : 641-651.
- HEINTZ N., 1993.** Cell death and the cell cycle: a relationship between transformation and neurodegeneration? *Trends Biochem. Sci.*, 18 : 157-159.
- HERRUP K. and J.C. BUSSER, 1995.** The induction of multiple cell cycle events precedes target-related neuronal death. *Development*, 121 : 2385-2395.
- HERRUP K. and R.J. MULLEN, 1979a.** Regional variation and absence of large neurons in the cerebellum of the staggerer mouse. *Brain Res.*, 172 : 1-12.
- HERRUP K. and R.J. MULLEN, 1979b.** Staggerer chimeras: intrinsic nature of Purkinje cell defects and implications for normal cerebellar development. *Brain Res.*, 178 : 443-457.
- HERRUP K. and R.J. MULLEN, 1981.** Role of staggerer gene in determining cell number in the cerebellar cortex: a quantitative analysis of staggerer chimeric mice. *Devel. Brain Res.*, 1 : 475-485.
- ITO M., 1984.** The Cerebellum and Neural Control. *Raven, New York*.
- LALONDE R., 1994.** Motor learning in lurcher mutant mice. *Brain Res.*, 639(2) : 351-353.
- LALONDE R., A.N. BENSOUA and M. FILALI, 1995.** Rotorod sensorimotor learning in cerebellar mutant mice. *Neurosci. Res.*, 22 : 423-426.
- LALONDE R. and M.I. BOTEZ, 1990.** The cerebellum and learning processes in animals. *Brain Res. Rev.*, 15 : 325-332.
- LALONDE R., M.I. BOTEZ, C.C. JOYAL and M. CAUMARTIN, 1992.** Motor abnormalities in lurcher mutant mice. *Physiol. Behav.*, 51(3) : 523-525.
- LALONDE R., M. FILALI, A.N. BENSOUA, C. MONNIER and J.M. GUASTAVINO, 1996a.** Spatial learning in a Z-maze by cerebellar mutant mice. *Physiol. Behav.*, 59(1) : 83-86.
- LALONDE R., C. JOYAL and S. THIFAUÏ, 1996b.** Beam sensorimotor learning and habituation to motor activity in Lurcher mutant mice. *Behav. Brain Res.*, 74 : 213-216.
- LALONDE R., Y. LAMARRE and A.M. SMITH, 1988.** Does the mutant mouse lurcher have deficits in spatially oriented behaviours? *Brain Research*, 455 : 24-30.
- LALONDE R., Y. LAMARRE, A.M. SMITH and M.I. BOTEZ, 1986.** Spontaneous alternation and habituation in lurcher mutant mice. *Brain Research*, 362 : 161-164.
- LALONDE R. and S. THIFAUÏ, 1994.** Absence of an association between motor coordination and spatial orientation in lurcher mutant mice. *Behav. Gen.*, 24 : 497-501.
- LASSALLE J.M., B. BULMAN-FLEMING and D. WAHLSTEN, 1991.** Hybrid vigor and maternal environment in mice. II-Water escape learning, open-field activity and spatial memory. *Behav. Processes*, 23 : 35-46.
- LAVOND D.G., J.S. LINCOLN, D.A. McCORMICK and R.F. THOMPSON, 1984.** Effects of bilateral lesions of the dentate and interpositus cerebellar nuclei on conditioned heart rate and nictitating membrane/eyelid responses in the rabbit. *Brain Res.*, 305 : 323-330.
- LAVOND D.G., J.E. STEINMETZ, M.H. YOKAITIS and R.F. THOMPSON, 1987.** Reacquisition of classical conditioning after removal of cerebellar cortex. *Exp. Brain Res.*, 67 : 569-593.
- LEINER H.C., A.L. LEINER and R.S. DOW, 1986.** Does the cerebellum contribute to mental skills? *Behav. Neurosci.*, 100 : 443-454.
- LEINER H.C., A.L. LEINER and R.S. DOW, 1987.** Cerebro-cerebellar learning loops in apes and humans. *Ital. J. Neurol. Sci.*, 8 : 425-436.
- LEINER H.C., A.L. LEINER and R.S. DOW, 1989.** Reappraising the cerebellum: what does the hindbrain contribute to the forebrain? *Behav. Neurosci.*, 103 : 998-1008.
- LINES C.R. and A.D. MILNER, 1985.** A deficit in ambient visual guidance following superior colliculus lesions in rats. *Behav. Neurosci.*, 99 : 707-716.

- LISBURGER S.G., 1982.** Role of the cerebellum during motor learning in the vestibulo-ocular reflex. Different mechanisms in different species? *Trends Neurosci.*, 5 : 437-441.
- LUKASZEWSKA I. and E. DLAWICHOWSKA, 1982.** How long do rats remember spatial arrangement of visual stimuli? *Acta Neurobiolog. Exp.*, 42 : 127-133.
- MARR D.A., 1969.** A theory of cerebellar cortex. *Journal of Physiology, London*, 202 : 437-470.
- McCORMICK D.A., J.E. STEINMETZ and R.F. THOMPSON, 1985.** Lesions of inferior olivary complex cause extinction of the classically conditioned eyeblink response. *Brain Res.*, 359 : 120-130.
- McCORMICK D.A. and R.F. THOMPSON, 1984.** Cerebellum: essential involvement in the classically conditioned eyelid response. *Science*, 223 : 296-299.
- MILLER D.P. and J.E. STEINMETZ, 1992.** Cerebellar lesions affect lateral but not medial septal activity during rabbit eyelid conditioning. *Physiol. Behav.*, 52 : 83-89.
- MONFORT V., P. CHAPILLON, D. MELLIER, R. LALONDE and J. CASTON, 1998.** Timed active avoidance learning in lurcher mutant mice. *Behav. Brain Res.*, 91(1-2) : 165-172.
- MONJAN A.A. and M.H. PETERS, 1970.** Cerebellar lesions and task difficulty in pigeons. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 72 : 171-176.
- MONNIER C. and R. LALONDE, 1995.** Elevated (+)- maze and hole-board exploration in lurcher mutant mice. *Brain Res.*, 702(1-2) : 169-172.
- NORMAN D.J., L. FENG, S.S. CHENG, J. GUBBAY, E. CHAN and N. HEINTZ, 1995.** The lurcher gene induces apoptotic death in cerebellar Purkinje cells. *Development*, 121 : 1183-1193.
- PELLEGRINO L.J. and J. ALTMAN, 1979.** Effects of differential interference with postnatal cerebellar neurogenesis on motor performance, activity levels, and maze learning of rats : a developmental study. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 93 : 1-33.
- PHILLIPS R.J.S., 1960.** "Lurcher", a new gene in linkage group XI of the house mouse. *J. Genet.*, 57 : 35-42.
- POUCET B., N. CHAPUIS, M. DURUP and C. THINUS-BLANC, 1986.** A study of exploratory behavior as an index of spatial knowledge in hamsters. *Anim. Learn. Behav.*, 14 : 93-100.
- ROULLET P. and J.M. LASSALLE, 1990.** Genetic variation, hippocampal mossy fibers distribution, novelty reaction and spatial representation in mice. *Behav. Brain Res.*, 41 : 61-70.
- SCHMAHMANN J.D., 1991.** An emerging concept: the cerebellar contribution to higher functions. *Arch. Neurol.*, 48 : 1178-1187.
- SEARS L.L. and J.E. STEINMETZ, 1990.** Acquisition of classically conditioned-related activity in the hippocampus is affected by lesions of the cerebellar interpositus. *Behav. Neurosci.*, 104 : 681-692.
- SOLOMON P.R., G.T. STOWE and W.W. PENDBERRY, 1989.** Disturbed eyelid conditioning in a patient with damage to cerebellar afferents. *Behav. Neurosci.*, 103 : 898-902.
- SQUIRE L.R. and A.P. SHIMAMURA, 1986.** Characterizing amnesic patients for neurobehavioral study. *Behav. Neurosci.*, 100 : 866-877.
- STRAZIELLE C. and R. LALONDE, 1997.** Grooming in Lurcher Mutant Mice. *Physiology and Behavior*, 64(1) : 57-61.
- SWISCHER D.A. and D.B. WILSON, 1977.** Cerebellar histogenesis in the lurcher (Lc) mutant mouse. *J. Comp. Neurol.*, 173 : 1038-1041.
- THINUS-BLANC C. and D. INGLE, 1985.** Spatial behavior in the gerbil. *J. Comp. Psychol.*, 99 : 311-315.
- THOMPSON R., 1976.** Sterotaxic mapping of brainstem areas critical for memory of visual discrimination habits in the rats. *Physiol. Psychol.*, 4 : 1-10.
- VIG P.J., D. DESAIAH, P. JOSHI, S.H. SUBRAMONY, J.D. FRATKIN and R.D. CURRIER, 1994.** Decreased insulin-like growth factor I-mediated protein tyrosine phosphorylation in human olivopontocerebellar atrophy and lurcher mutant mouse. *J. Neurol. Sci.*, 124(1) : 38-44.
- VIG P.J., S.H. SUBRAMONY, R.D. CURRIER and D. DESAIAH, 1992.** Inositol 1,4,5-trisphosphate metabolism in the cerebella of Lurcher mutant mice and patients with olivopontocerebellar atrophy. *J. Neurol. Sci.*, 110(1-2) : 139-143.
- VOZEH F., K.W.T. CADDY, J. MYSLIVECEK and A. MOTÁNOVÁ, 1997.** Some morphological and functional characteristics of cerebellar degeneration - animal model (Lurcher mutant mice). *Studia Psychol.*, 39 : 279-281.
- WATSON P.J., 1978.** Nonmotor functions of the cerebellum. *Psychol. Bull.*, 85 : 944-967.
- WETTS R. and K. HERRUP, 1982.** Interaction of granule, Purkinje and inferior olivary neurons in lurcher chimeric mice. I-Qualitative studies. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 68 : 87-98.
- WILZ K.J. and R.L. BOLTON, 1971.** Exploratory behavior in response to the spatial rearrangement of visual stimuli. *Psychonom. Sci.*, 24 : 117-118.
- YEO C.H., M.J. HARDIMAN and M. GLICKSTEIN, 1985a.** Classical conditioning of the nictitating membrane response in the rabbit. I-Lesions of the cerebellar nuclei. *Exp. Brain Res.*, 60 : 87-98.
- YEO C.H., M.J. HARDIMAN and M. GLICKSTEIN, 1985b.** Classical conditioning of the nictitating membrane response in the rabbit. II-Lesions of the cerebellar cortex. *Exp. Brain Res.*, 60 : 99-113.
- YEO C.H., M.J. HARDIMAN and M. GLICKSTEIN, 1985c.** Classical conditioning of the nictitating membrane response in the rabbit. III-Connections of cerebellar lobule HVI. *Exp. Brain Res.*, 60 : 114-126.
- YEO C.H., M.J. HARDIMAN and M. GLICKSTEIN, 1986.** Classical conditioning of the nictitating membrane response in the rabbit. IV-Lesions of the inferior olive. *Exp. Brain Res.*, 63 : 81-92.
- ZANJANI H., J. MARIANI and K. HERRUP, 1990.** Cell loss in the inferior olive of the staggerer mutant mouse is an indirect effect of the gene. *J. Neurogenet.*, 6 : 229-241.
- ZUO J. P.L. de JAGER, D.J. NORMAN and N. HEINTZ, 1995.** Generation of a high-resolution genetic map and a YAC contig of the Lurcher locus on mouse chromosome 6. *Genome Res.*, 5(4) : 381-392.
- ZUO J., P.L. de JAGER, K.A. TAKAHASHI, W. JIANG, D.J. LINDEN and N. HEINTZ, 1997.** Neurodegeneration in Lurcher mice caused by mutation in delta2 glutamate receptor gene. *Nature*, 388(6644) : 769-773.

