



Centre de Neurophénotypage Détermination du phénotype Comportemental

Institut Douglas

Par Eve-Marie Charbonneau TSA RLAT

Superviseure et coordonnatrice du centre de Neurophénotypage

Le neurophénotypage permet de déterminer comment certains gènes soumis à des stress environnementaux, affectent le cerveau, le comportement et les fonctions cognitives. Comme une modification unique au code génétique peut provoquer une multitude de changements phénotypiques et comportementaux, il faut parfois recourir à plusieurs évaluations comportementales pour identifier avec justesse les effets de la génétique sur le comportement.

Phénotype et génotype : Quelle est la différence?

Le génotype constitue le code génétique complet de l'organisme. Lorsqu'un animal possède un gène en particulier, ce dernier sera exprimé (aussi activé) ou pas. De plus, le degré d'activation d'un gène peut avoir une signification fonctionnelle au niveau comportemental. Selon des observations récentes, il a été clairement démontré qu'un bon nombre de gènes reste silencieux dans l'attente d'éléments déclencheurs qui les activeront. Il a aussi été démontré que parmi ces éléments déclencheurs, nous comptons les facteurs expérimentaux et environnementaux.

Le phénotype peut être considéré comme la manifestation physique des gènes qui ont été activés, ainsi que leur degré d'activation. D'un point de vue technique, le phénotype est la totalité des traits et des caractéristiques d'un individu. Comme nous l'avons préalablement mentionné, les facteurs environnementaux jouent un rôle dans l'activation des gènes et le phénotype est alors considéré comme étant un indicateur de l'interaction entre les gènes et le milieu. Prenons par exemple, les gènes qui déterminent la taille d'une personne. La possibilité qu'une personne atteigne sa taille potentiellement maximale dépendra de facteurs expérimentaux comme la qualité du régime alimentaire de la personne durant son développement, le niveau de stress avec lequel un enfant a été élevé, etc. Cela dit, les joueurs de basketball ne font pas que venir au monde : même s'ils possèdent les gènes qui leur permettent de mesurer 7 pieds, sans un environnement propice à leur développement, ils risquent de ne mesurer que 5 pieds.

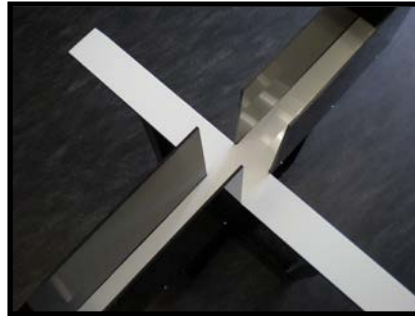
Le phénotype ne se limite pas aux traits physiques, il englobe également les «traits psychologiques», comme l'intelligence, le profil émotionnel et la prédisposition à réagir d'une certaine manière à une situation donnée. Ces traits apparaissent plus tard et ils sont regroupés sous l'étiquette «phénotype comportemental». Chez les rongeurs, les spécialistes en comportement ont mis au point une série de tests qui constituent la norme pour déterminer le phénotype comportemental provoqué par une modification génétique. Voici une brève présentation de ces tests.

Tests courants pour déterminer les phénotypes comportementaux

Précisons d'abord que chaque test a été utilisé sur de longues périodes. De plus, leur utilisation ne soulève généralement pas de grandes questions éthiques. Cela dit, tous les tests utilisés par le centre de Neurophénotypage de l'institut Douglas sont faits selon les protocoles approuvés par le comité d'éthique animale de l'université McGill et conformément aux lignes directrices du Conseil Canadien de la protection des animaux (CCPA).

Labyrinthe en forme de plus surélevé (Elevated plus maze)

C'est le test par excellence pour mesurer la peur et l'anxiété chez les rongeurs. Le test crée un conflit entre l'envie naturelle d'explorer du rongeur et sa peur des espaces ouverts sans protection. Le test est très sensible à l'utilisation d'anxiolytiques traditionnels (benzodiazépine) et plus récents (à base de sérotonine). Le labyrinthe, en forme de « + », possède deux corridors fermés et deux ouverts (sans murs). L'animal est placé au cœur de ce labyrinthe et l'observateur note la période totale de temps passé dans les corridors ouverts et les corridors fermés. Nous pouvons conclure que plus un animal est anxieux, moins il passera de temps dans les corridors ouverts.



peur des espaces ouverts sans protection. Le test est très sensible à l'utilisation d'anxiolytiques traditionnels (benzodiazépine) et plus récents (à base de sérotonine). Le labyrinthe, en forme de « + », possède deux corridors fermés et deux ouverts (sans murs). L'animal est placé au cœur de ce labyrinthe et l'observateur note la période totale de temps passé dans les corridors ouverts et les corridors fermés. Nous pouvons conclure que plus un animal est anxieux, moins il passera de temps dans les corridors ouverts.

Labyrinthe aquatique (The Morris Water Maze)

Le test est utilisé pour évaluer l'apprentissage et la mémoire spatiale et il est très sensible aux manipulations visant l'amélioration et la dépréciation du rongeur est placé dans un bassin opaque rempli d'eau pour trouver une plateforme submergée. Pour y arriver, il utilise des indices spatiaux dans la pièce (pour le rat) ou la piscine (pour la souris). Plus l'animal prend du temps à trouver la plateforme, plus sa mémoire est affectée. Chaque animal effectue 3 ou 4 essais par jour pendant 5 jours consécutifs. Un système de repérage automatique enregistre la distance parcourue par l'animal et le temps nécessaire pour trouver la plateforme. Plus le temps d'exécution est long, moins l'apprentissage est bon. Une fois l'apprentissage évalué, le protocole peut être modifié de deux façons. Le premier consiste à retirer la plateforme et à laisser l'animal explorer la piscine pour une période précise. Ces essais permettent de mesurer la mémoire référentielle en analysant le temps passé près de l'endroit où était la plateforme. Pour le deuxième protocole, la plateforme est remise en place et elle est rendue visible en abaissant le niveau d'eau. Ce test permet d'observer si un mauvais rendement peut être dû à une déficience visuelle.



Le test est très sensible aux manipulations visant l'amélioration et la dépréciation du rongeur est placé dans un bassin opaque rempli d'eau pour trouver une plateforme submergée. Pour y arriver, il utilise des indices spatiaux dans la pièce (pour le rat) ou la piscine (pour la souris). Plus l'animal prend du temps à trouver la plateforme, plus sa mémoire est affectée. Chaque animal effectue 3 ou 4 essais par jour pendant 5 jours consécutifs. Un système de repérage automatique enregistre la distance parcourue par l'animal et le temps nécessaire pour trouver la plateforme. Plus le temps d'exécution est long, moins l'apprentissage est bon. Une fois l'apprentissage évalué, le protocole peut être modifié de deux façons. Le premier consiste à retirer la plateforme et à laisser l'animal explorer la piscine pour une période précise. Ces essais permettent de mesurer la mémoire référentielle en analysant le temps passé près de l'endroit où était la plateforme. Pour le deuxième protocole, la plateforme est remise en place et elle est rendue visible en abaissant le niveau d'eau. Ce test permet d'observer si un mauvais rendement peut être dû à une déficience visuelle.

Activité locomotrice en champ ouvert (Open field locomotor activity)

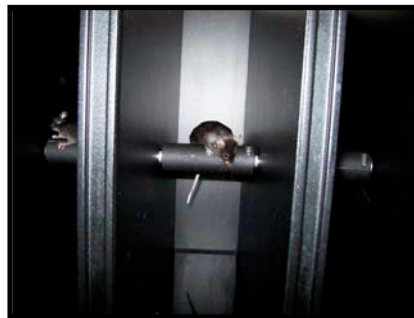
Ce test sert à évaluer l'activité et la motricité en générale. Le test est également idéal pour l'évaluation des médicaments (composés dopaminergiques) qui produisent des substrats du système nerveux central les manifestations motrices. L'animal est placé dans un plexiglas pour permettre l'accoutumance. Une fois accoutumé, son activité locomotrice est mesurée puis un système informatique sous la forme de signaux. Chaque boîte est munie de rangées de rayons (rayons infrarouges) situés à des hauteurs différentes. Un tel système permet d'enregistrer les mouvements verticaux, ainsi que les comportements stéréotypés, de façon automatique.



agissent sur la jouant un rôle dans une boîte de l'animal enregistrée par un photoélectriques. photoélectriques différentes. Un tel horizontal et

Rotation sur un axe (Rotarod)

Ce test sert généralement à évaluer la coordination motrice et l'équilibre d'un rongeur. Pendant la période d'entraînement, qui nécessite 3 essais, les animaux sont placés sur une tige qui tourne à une vitesse constante. à l'animal d'assimiler la tâche demandée. Lors du test, placés sur la tige et la vitesse de rotation augmente temps au cours duquel reste sur la tige, soit jusqu'à ce plancher de l'appareil est noté. Plus l'animal reste tige ou plus la vitesse de rotation est grande, coordination et l'équilibre.



animaux sont Cette étape permet les animaux sont graduellement. Le qu'il tombe sur le longtemps sur la meilleures sont la

Test de la sensibilité thermique (Thermal sensitivity test)

Ce test permet d'évaluer la sensibilité thermique en phase aiguë de la surface plantaire de la patte arrière d'un animal à la chaleur générée par un faisceau lumineux de haute intensité. Il s'agit d'un test causant une douleur aiguë tissulaire. Ce test est facile et rapide à effectuer et il plusieurs fois sur un même animal. Les animaux sont cage en plexiglas placé sur une plateforme surélevée placé un faisceau lumineux. Les animaux doivent être cage en plexiglas avant de procéder au test. Le test source de chaleur sous le plancher transparent une patte arrière de l'animal. L'évaluateur éteint le faisceau lorsque l'animal retire sa patte de la lumière. Le temps écoulé avant que l'animal lève ou déplace sa patte est pris en note.



lumineux de haute sans dommage peut être répété placés dans une sous laquelle est familiarisés à la consiste à placer la directement sous

Test de nage forcée (Forced swim test)

Le test de nage forcée évalue la réaction à une situation désagréable et sans issue. L'animal est placé dans un petit contenant d'eau et le temps de latence et d'immobilité sont pris en note. Bien que l'interprétation de floue, le test s'est révélé très sensible aux composés ayant des propriétés antidépressives. Cela dit, il s'agit simple et fiable pouvant servir à évaluer les nouveaux L'animal est placé dans un cylindre de verre contenant reprises (une séance avant le test et une pour le test test permet de montrer à l'animal qu'il est impossible cylindre. Le test est effectué le lendemain et le temps grimper, plonger et rester immobile est pris en note. Les composés antidépresseurs provoquent généralement une diminution de la période au cours de laquelle l'animal reste immobile.



et d'immobilité l'immobilité reste pharmaceutiques d'un test pratique, antidépresseurs. de l'eau à deux lui-même). Le pré de s'échapper du passé à nager,

Renforcement différentiel à haut débit (Differential reinforcement of low rates task)

Ce test évalue l'impulsivité, soit la capacité d'une réponse pendant une période prédéfinie dans le but récompense. L'animal est conditionné à être privé de heures chaque jour pendant plusieurs jours. Par la suite, il à appuyer sur un levier pour obtenir de la nourriture. Les fois où la pesée du levier est récompensée sont de plus exemple, une fois que l'animal a pesé sur le levier et qu'il doit attendre 30 secondes avant d'appuyer de nouveau et l'animal appuie avant 30 secondes, le compteur est remis devra attendre un autre intervalle de 30 secondes avant d'appuyer une autre fois s'il veut de la nourriture. Le paramètre pris en note lors du test est le nombre de fois que l'animal pèse sur le levier sans être récompensé.



animal à contenir une d'obtenir une nourriture pendant 23 est entraîné de façon intervalles entre les en plus long. Par a été récompensé, il être récompensé. Si à zéro et l'animal

Inhibition par pré pulsation PPI (Prepulse inhibition PPI)

Le PPI est le principal test servant à évaluer la synchronisation sensorimotrice d'un mécanisme pré attentionnel qui correspond à la synchronisation d'un stimulus fort et imprévue. Le PPI fait référence à la stimulus de faire intensité appelé pré pulsation, qui stimulus acoustique fort qui fera sursauter l'animal sursaut), ce qui atténuera la réponse suscitée par le Il est convenu que le stimulus de pré pulsation réduit sursaut. Chez l'humain, les troubles psychotiques, en schizophrénie, affectent le PPI. Le PPI est évaluer dans des qui sont chacun constitués d'un tube de plexiglas fixés à une boîte éclairée, ventilée et munie d'un dispositif qui haut parleur est placé au plafond de la boîte et il émet à la fond : le pré stimulus et le stimulus. Un piézomètre apposé à la base transmet l'ampleur de la réaction de sursaut. Les résultats obtenus par le stabilisateur sont corrigés et enregistré par un ordinateur. Lors de chaque essai, un résultat moyen de 100 1-msec, débutant à l'émission du stimulus, sert de mesure pour l'amplitude du sursaut.



Le PPI est le principal test servant à évaluer la synchronisation sensorimotrice d'un mécanisme pré sursaut à un perception d'un pré survient avant un (stimulus de stimulus de sursaut. l'ampleur du particulier la caissons à sursaut une base placé dans atténue le bruit. Un fois un bruit de

Les animaux sont placés dans des tubes en plexiglas et après une période d'acclimatation, ils sont exposés à une série de 37 essais. Les deux premiers essais permettent de mesurer l'amplitude du sursaut car il n'y a pas

de pré stimulus. Au cours des 35 essais qui suivent, l'animal sera exposé à 10 essais de sursaut et 5 essais pour chacun des 5 degrés de pré pulsation.

Conclusion

La liste préalablement présentée n'est certes pas exhaustive, mais elle donne une idée des types de tests pouvant être effectués pour évaluer les mécanismes comportementaux. Il est aussi important de noter que tous les tests présentés sont adaptables au modèle utilisé et aussi à l'hypothèse à vérifier. Pour obtenir un phénotypage qui est exact, il est important d'avoir recours à une variété de tests qui évaluent différents mécanismes comportementaux. Par exemple, une mauvaise performance dans le labyrinthe aquatique peut bien sur signifier un problème d'apprentissage ou de mémoire spatiale, mais il ne s'agit pas de la seule interprétation possible. Un mauvais résultat peut être causé par une difficulté à nager ou par un grand stress quand l'animal est placé dans la piscine. C'est pourquoi il faut, pour différencier les scénarios possibles, faire appel à des tests qui évaluent les fonctions motrices et la sensibilité au stress. Si les résultats sont «normaux», un processus d'exclusion permettra de conclure que le mauvais résultat dans le labyrinthe est un signe de trouble d'apprentissage ou de mémoire.

Pour de plus amples renseignements ou pour faire une demande de service, veuillez visiter le :

http://www.douglasrecherche.qc.ca/pages/view?section_id=132

Eve-Marie Charbonneau TSA RLAT

Superviseur du Centre de Neurophénotypage et coordonnatrice de la plateforme de Neurophénotypage

