

L3 de Psychologie – Module UE5 (2017-2018 2d semestre)
TD MECANISMES MOLECULAIRES DE L'OUBLI
(J-M TAYMANS)

Ces dernières décennies, de nombreux travaux se sont attachés à explorer les mécanismes moléculaires de la mémoire à long terme (MLT). Il semblerait finalement qu'il soit plus facile d'appréhender ceux de l'oubli, ce qui renseigne indirectement sur ceux de la MLT. Ainsi, les équipes de Bruno Bontempi (Bordeaux) et Sheena Josselyn (Toronto) ont développé une approche expérimentale originale chez la souris afin d'éliminer le « *chemin physique du souvenir* » engrammé lors d'une réaction conditionnée de peur. A cet effet, ils ont dans un premier temps développé plusieurs lignées de souris transgéniques exprimant ou non le facteur de transcription CREB dans les amygdales. Ils ont ainsi généré deux groupes d'animaux transgéniques : l'un surexprimant CREB dans sa version sauvage (CREB_{WT}) dans l'amygdale

latérale, l'autre déficient en CREB (CREB^{-/-}). Dans le premier cas, un gène rapporteur GFP a été associé à la construction génétique permettant ainsi de visualiser par fluorescence les neurones exprimant le transgène dans l'amygdale.

Question 1 : A quoi correspondent ces 2 groupes d'animaux ? Selon vous, quel(s) groupe(s) supplémentaire(s) aurai(en)t pu être ajouté(s) ? Pourquoi ?

Question 2 : D'après vos connaissances en neurochimie, pourquoi ces auteurs ont-ils ciblé le facteur de transcription CREB ?

Les stimulations aversives primaires, telles que le choc électrique, évoquent des réactions végétatives puissantes et facilement conditionnables de façon classique. Il suffit d'associer un son ou une lumière à un choc électrique pour que l'organisme émette une réaction conditionnée de peur à l'apparition du seul stimulus sonore ou visuel (en anglais : « *fear conditioning* »). Il est maintenant clairement établi que l'amygdale est la structure-clé des systèmes cérébraux qui modulent la consolidation mnésique en relation avec les émotions. Les auteurs de ces travaux ont donc ciblé l'expression de leurs transgènes dans la région latérale des amygdales cérébrales. Voici les résultats qu'ils ont obtenus :

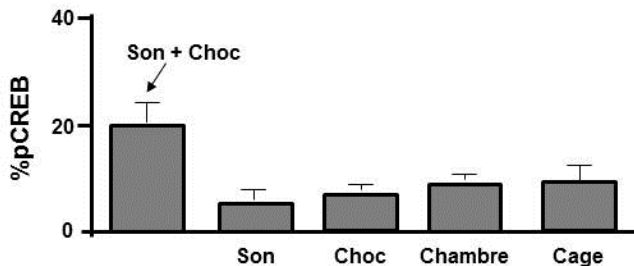


Figure 1 : Pourcentage de cellules de l'amygdale latérale (AL) exprimant le facteur CREB phosphorylé (pCREB) après un protocole de peur conditionnée (son + choc, $n=6$) chez les souris CREB_{WT}.

Question 3a : Combien de cellules (en %) expriment pCREB dans l'amygdale latérale après le protocole de peur conditionnée chez ces souris CREB_{WT} ?

Question 3b : A quoi correspondent les autres mesures figurant sur ce graphe ? Quelle conclusion pouvez-vous en tirer ?

Dans un deuxième temps, les auteurs ont mesuré l'immobilisation des différents animaux en situation de peur conditionnée. Voici leurs résultats :

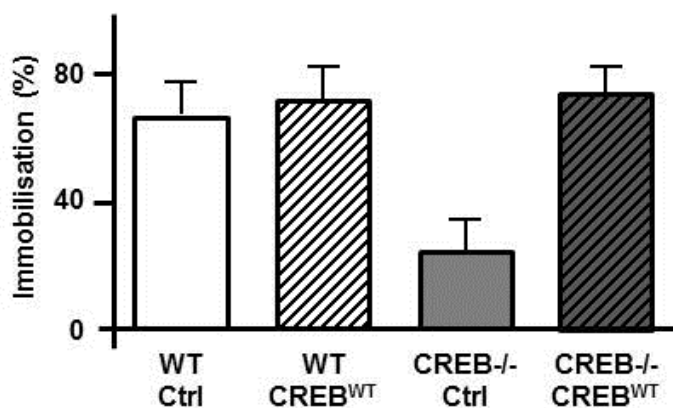


Figure 2 : Pourcentage d'immobilisation chez les souris sauvage ayant reçu des injections de vecteur contrôle (*WT/Ctrl*) ou CREB_{WT} (*WT/CREB_{WT}*) et chez les souris déficientes en CREB (*CREB^{-/-}*) ayant reçu le vecteur contrôle (Ctrl) ou CREB_{WT}.

Question 4 : Que pouvez-vous conclure de ces différentes manipulations génétiques sur l'immobilisation dans la réaction conditionnée de peur ? Veuillez préciser à quel groupe d'animaux se rapportent vos propos.

Afin de visualiser dans le cerveau le réseau neuronal sous-tendant la trace mnésique de cette réaction conditionnée de peur, les auteurs vont utiliser un marqueur cérébral de l'activité neuronale récente (5-15 min), le marqueur Arc. Ils comptabilisent donc les neurones de l'AL exprimant le marqueur Arc juste après l'apprentissage de la réaction conditionnée de peur ; ils dénombrent également les neurones exprimant la protéine de fusion GFP. Leurs résultats sont les suivants :

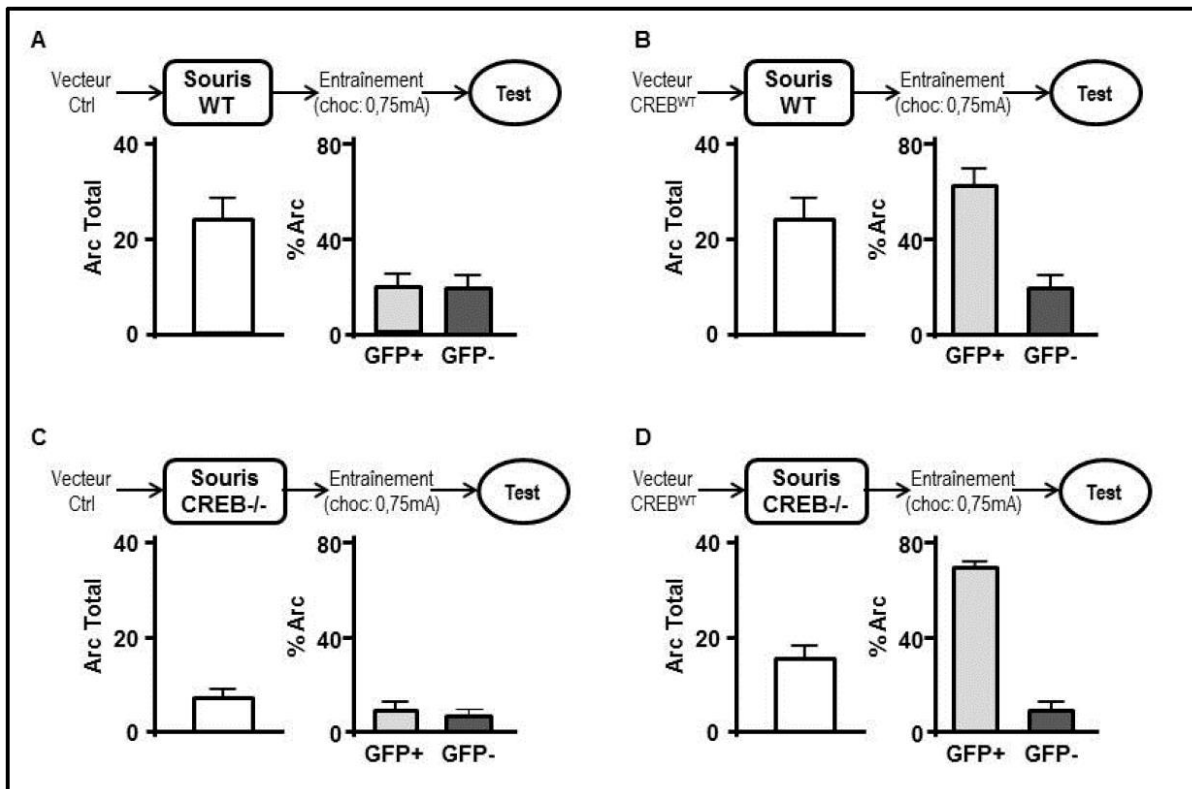


Figure 3 : Pourcentage de neurones de l'amygdale latérale (AL) des souris transgéniques WT ou CREB^{-/-} exprimant le marqueur d'activité neuronale récente Arc et/ou la protéine de fusion GFP, chez les souris WT exprimant : (A) le vecteur contrôle (Ctrl), ou (B) le vecteur CREB^{WT}, ainsi que chez les souris déficientes en CREB (CREB^{-/-}) exprimant : (C) le vecteur contrôle (Ctrl), ou (D) le vecteur CREB^{WT}.

Question 5 : Quel est l'effet de l'expression de CREB sur l'activation neuronale : a) des souris WT, et b) des souris déficientes en CREB ?

- a) _____

- b) _____

Dernière étape pour démontrer que ce réseau neuronal est bien le support de la trace mnésique acquise lors du protocole de peur conditionnée : il suffit de le détruire sélectivement. Dans ce but, les auteurs vont créer de nouvelles souris transgéniques exprimant un récepteur inducible de la toxine botulique (iDTR) dans les neurones de l'AL. La souris est normalement insensible à cette toxine mortelle pour l'Homme. Les expérimentateurs soumettent ces souris iDTR aux mêmes protocoles que précédemment (transgénèse & conditionnement) (*Voir explications lors de la séance de T.D.*). Après le test, ils injectent la toxine botulique à ces animaux : seuls les neurones de l'AL ayant été activés lors du conditionnement vont être détruits. Deux jours après cette injection, ils testent de nouveau les animaux par rapport à la réaction conditionnée de peur. Voici leurs résultats :

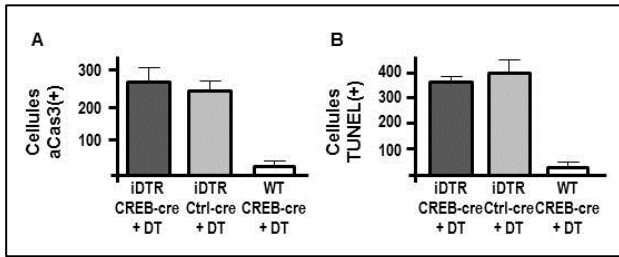


Figure 4 : Effet de la toxine diphtérique (DT) dans l'amygdale latérale des souris exprimant la forme inducible du récepteur à la DT (iDTR) avec co-expression du vecteur CREB_{WT} ou contrôle (Ctrl) : A) nombre de neurones exprimant la caspase 3 active (marqueur d'apoptose) ; B) nombre de neurones présentant des cassures de l'ADN (TUNEL).

Question 6 : Sachant que le comptage des cellules exprimant la caspase 3 active (aCas3, Fig. 4A) et le test du TUNEL (Fig. 4B) permettent d'évaluer la mort neuronale dans l'AL après injection de la toxine diphtérique, que pouvez-vous conclure ?

Question 7 : Quelle est la conséquence de la destruction par la toxine diphtérique du réseau neuronal activé par le protocole de peur conditionnée ? Qu'en concluez-vous quant au postulat des auteurs ?

Question 8 : Au regard de cette dernière série d'expériences, quelle(s) vérification(s) méthodologique(s) manque-t-il pour pouvoir tirer ces conclusions sans équivoque ?
