

Lettre de la Société Francophone de Chronobiologie

RYTHMES

Bulletin du Groupe d'Étude des Rythmes Biologiques

Tome 41 - Numéro 3

Septembre 2010

<http://www.sf-chronobiologie.org>**Sommaire**

Éditorial	75
<i>In Memoriam : Pr. Ivan Assenmacher</i>	76 & 78
<i>Compte-rendu de l'assemblée générale de la SFC</i>	84
Articles	
<i>Jorge MENDOZA, Clock(s) o' mine</i>	86
<i>Résumés du congrès de la Colle sur Loup</i>	95
Annonces de congrès et conférences	114
Rubriques	
<i>Mise à jour de l'annuaire électronique</i>	76
<i>Notre site Web</i>	77
<i>Chronobiologistes</i>	115

**Éditorial**

Le 42^{ème} congrès de la Société Francophone de Chronobiologie s'est tenu à La Colle sur Loup (06) du 8 au 11 septembre 2010. Il était organisé par Franck Delaunay et son équipe auxquels s'était joint Howard Cooper. L'organisation présentait un caractère original dans la mesure où la réunion se situait dans un camp de vacances, à une période de l'année où beaucoup d'entre nous sont préoccupés par la rentrée universitaire. Si la réunion n'a réuni qu'environ quatre-vingts participants, elle a tenu toutes ses promesses. Le programme scientifique était bien équilibré. C'est avec plaisir que nous avons noté parmi les orateurs de nombreux jeunes, chercheurs titulaires ou doctorants. L'unité de lieu a favorisé les discussions scientifiques, ou autres, qui pouvaient se poursuivre autour de la piscine ou à l'issue d'une partie de pétanque. La seule restriction au succès de cette réunion est la relative faiblesse de la participation des cliniciens, un problème récurrent. Notre Société a en effet des difficultés pour les attirer. S'ils sont de plus en plus nombreux à manifester un intérêt pour notre discipline, ils n'assistent pas à nos réunions, faute de temps en particulier. A l'occasion du congrès de la Colle, ce déficit a néanmoins pu être ponctuellement compensé, Francis Lévi ayant organisé un séminaire satellite drainant des participants Européens et consacré à la chronothérapie du cancer. Cette initiative intéressante est à renouveler sur d'autres thèmes. Elle se situe dans l'esprit de ce que nous avons décidé lorsque l'Association de Chronobiologie Médicale a mis fin à ses activités

Le prix de la SFC et la bourse de voyage ont récompensé deux post-docs particulièrement méritants et dont la qualité des exposés témoigne d'une très bonne intégration dans leur laboratoire d'accueil. Nous remercions donc encore Franck Delaunay et son équipe pour la réussite de cette réunion, tant sur les plans scientifique que de la convivialité. Nous souhaitons que la Société continue sur sa lancée lors de la prochaine réunion qui aura lieu à Nouzilly dans 2 ans, organisée par l'équipe de Benoit Malpau

Bruno Claustrat
Président

In Memoriam Ivan Assenmacher (1927-2010)

Ivan Assenmacher nous a quittés en avril dernier.

Présenter la vie d'un scientifique et son impact sur notre communauté est apparemment facile. Dans les faits, la vie d'un scientifique ne peut être séparée de son contexte historique. Ivan Assenmacher est né dans le sud de l'Alsace dans le premier tiers du siècle dernier. Pendant sa vie, il a été confronté comme jeune adulte à l'entre-deux guerres puis à la deuxième guerre mondiale. Ensuite, il a développé ses activités scientifiques dans la seconde moitié du siècle dernier, à une période où la société et le système économique ont été profondément bouleversés, et où le monde scientifique a pu bénéficier d'un extraordinaire développement technique.

Ivan Assenmacher est donc né en Alsace le 17 mai 1927. En 1927, après une très longue période Allemande, cette région n'était redevenue Française que depuis une dizaine d'années. C'est-à-dire que, comme enfant, Ivan Assenmacher fut confronté à ce bouleversement et cela dans un contexte très difficile puisqu'il fut très tôt privé de son père. L'histoire de ce siècle a été particulièrement dure pour l'Alsace et pour ses habitants et Ivan Assenmacher y fut directement confronté. Pendant la deuxième guerre mondiale, l'Alsace fut non seulement réoccupée mais aussi nazifiée. Ivan Assenmacher assumait alors ses valeurs et, refusant d'être incorporé dans l'armée allemande, passa dans la clandestinité jusqu'à la libération. Pour cela il reçut la Médaille des réfractaires (1939-1940). Dans cette épreuve il a forgé son système de valeurs personnelles, d'altruisme et de générosité qui lui a servi de guide durant toute sa vie.

Après la libération, il entreprit des études de médecine à Strasbourg et entra en 1948 dans le laboratoire de Jacques Benoit. Comme indiqué dans le paragraphe suivant, les travaux d'Ivan Assenmacher caractérisés par la richesse et la subtilité des expérimentations et des analyses, eurent un impact très fort, ce qui explique la place exceptionnelle qu'il occupe dans nos mémoires. Il faut aussi replacer cela dans le contexte de l'époque. Aujourd'hui, la

culture d'une recherche sur projets domine et favorise le développement d'une science technique au service de questions sociétales. Ivan Assenmacher dans ce contexte, aurait-il pu être un des acteurs de cette révolution conceptuelle que fut le développement de la Neuroendocrinologie? La question est ouverte, mais serait-il possible d'obtenir aujourd'hui des contrats ANR avec des hypothèses aussi «étranges» que le contrôle de la glande pituitaire par des neurosécrétats de l'hypothalamus? Ivan Assenmacher a eu la chance, il le reconnaissait volontiers, de commencer ses travaux à une époque où la liberté et la responsabilité des chercheurs était grande et où un grand développement de la recherche scientifique et des Universités avait été initié par les gouvernements successifs et se traduisait par l'apport de financements et la création d'emplois afférents.

L'impact d'Ivan Assenmacher n'est pas exclusivement dû à ses travaux de recherche fondamentale. Il relève également de son exceptionnel charisme qui lui a permis d'être aussi un acteur important dans la vie de notre communauté scientifique au plan national comme au plan international. Il fut membre d'innombrables jurys, commissions et comités, notamment le Comité National d'Ethique et, récemment encore à l'Académie des Sciences, investi de la présidence du Comité chargé des relations avec les Unions Scientifiques Internationales. Pour défendre sa discipline, Ivan Assenmacher contribua à l'organisation de congrès et colloques nationaux et internationaux. Il n'hésita pas également, en fonction des évolutions conceptuelles et pour appuyer des approches novatrices, à s'impliquer directement dans la création de nouvelles sociétés scientifiques. Son rôle dans la création de ce qui est aujourd'hui la Société Francophone de Chronobiologie fut fondamental (voir encadré page 82).



Paul Pévet

(Suite page 78)

Vos coordonnées accessibles sur le site de la SFC

M, Mme, Mlle, Prénom, Nom :

Tel :

Fax :

Titres, fonctions :

Courriel :

Adresse :

Mots clefs :

Pensez à actualiser vos données

Utilisez ce formulaire pour une première inscription ;

Modifiez vos données en ligne si nécessaire (voir page 77).

Ouria Dkhissi-Benyahya, secrétaire générale de la SFC
INSERM U846, Institut Cellule Souche et Cerveau
Département de Chronobiologie
18 avenue du Doyen Lépine, 69500 BRON
Tel : 04.72.91.34.87
Fax : 04.72.91.34.61

Email : ouria.benyahya@inserm.fr

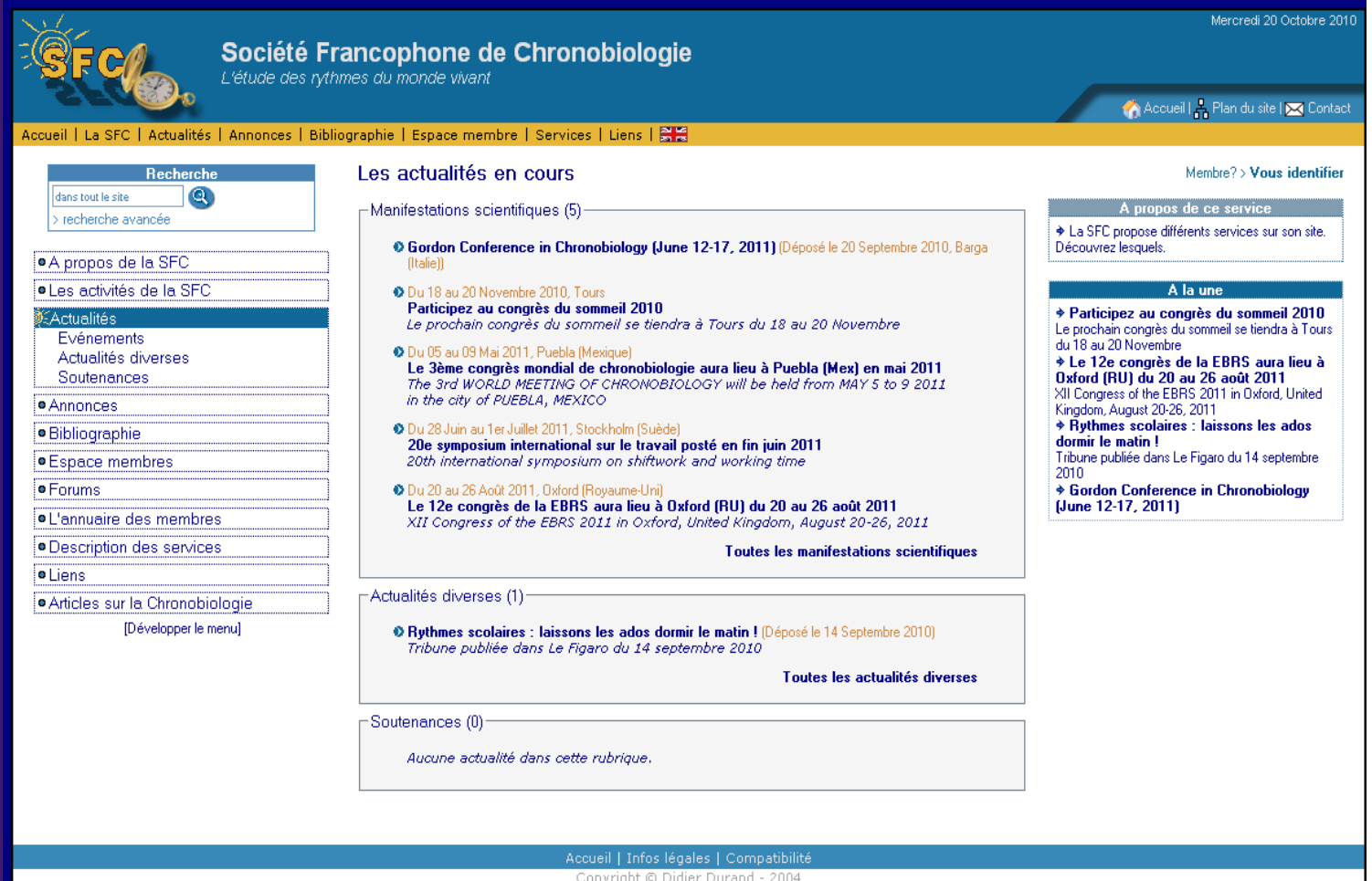
Visitez régulièrement le site Web de la SFC

Le site de la Société Francophone de Chronobiologie est consultable à l'adresse

<http://www.sf-chronobiologie.org>

Tout comme l'ancien site, il comporte une présentation de la société et de ses activités ainsi qu'un annuaire de ses membres. Chaque membre recevra un courrier avec un nom de login et un mot de passe personnel qui lui donnera un accès personnel pour notamment modifier sa fiche. Le site constitue aussi une riche source d'informations sur la recherche et l'enseignement qui portent sur la chronobiologie, ainsi que sur l'actualité de cette discipline. Je vous laisse explorer le site de manière plus approfondie et compte sur vous tous pour l'alimenter régulièrement et le faire vivre longtemps !

Sophie LUMINEAU



The screenshot shows the homepage of the Société Francophone de Chronobiologie (SFC). The header includes the SFC logo, the organization's name, and the tagline "L'étude des rythmes du monde vivant". A navigation menu lists various sections like "Accueil", "La SFC", "Actualités", "Annonces", "Bibliographie", "Espace membre", "Services", and "Liens". A search bar is located at the top left. The main content area is divided into three columns: "Les actualités en cours" (with sub-sections for "Manifestations scientifiques (5)", "Actualités diverses (1)", and "Soutenances (0)"), "A propos de ce service", and "A la une". The footer contains contact information and copyright details.

Comment actualiser ses coordonnées sur le site.

Si vous connaissez votre identifiant et votre mot de passe, aller dans **Espace membres** et entrer l'identifiant et votre mot de passe, puis suivre les instructions.

Si vous n'avez pas encore votre identifiant et votre mot de passe, vérifier d'abord que vous êtes bien enregistré dans l'annuaire **Annuaire des membres** et cliquer sur la lettre initiale du nom. Noter le mail sous lequel vous êtes enregistré.

Aller dans **Espace membres** et cliquer sur **Login/Mot de passe oublié?** ; on vous demande alors le mail sous lequel vous êtes enregistré, et vous recevrez alors votre identifiant et votre mot de passe.

Ivan ASSENMACHER

un pionnier dans les recherches sur les rythmes biologiques

Paul Pévet, Strasbourg, Septembre 2010

(Suite de la page 76)

Ce texte est construit à partir de l'analyse globale des travaux scientifiques d'Ivan Assenmacher faite par le Dr A. Tixier-Vidal en 2010

Remarqué par le Professeur Jacques Benoit, Ivan Assenmacher intègre en 1948, le Laboratoire d'embryologie et de morphologie expérimentale de la faculté de Médecine de l'Université de Strasbourg. Pour une analyse sur les travaux d'Ivan Assenmacher concernant les rythmes biologiques, cette filiation doit être soulignée. Jacques Benoit fut en effet un des pionniers de la photobiologie. Il entreprit dès 1934 une longue série de recherches sur les mécanismes de l'effet activateur de la lumière (photopériode) sur la fonction sexuelle des oiseaux. Il montra chez le canard mâle que l'hypophyse est indispensable au réflexe photosexuel et, ensuite, mit en évidence le rôle de la rétine et des récepteurs extra-rétiniens. En 1938, il découvrit aussi que l'excitation directe de l'hypothalamus par un pinceau lumineux entraîne une stimulation génitale. Il fut ainsi, l'un des tout premiers, à réunir dans un même circuit les deux éléments, hypothalamus et hypophyse, qui allaient devenir la clé de voûte de la Neuroendocrinologie.



C'est dans ce cadre conceptuel unique qu'Ivan Assenmacher commença sa carrière scientifique et qu'il fut d'emblée activement impliqué dans ces travaux. Dans sa thèse de médecine, (1948-1951) intitulée « *La vascularisation du complexe hypophysaire chez le Canard domestique. Etude anatomique, his-*

tologique, embryologique », il a apporté des arguments histophysiologiques et histoembryologiques à la compréhension des relations hypothalamo-hypophysaires. En particulier il étudia et décrit les relations neurovasculaires si particulières du tractus porto-tubéral chez le Canard, analyse qui lui fut particulièrement utile par la suite. D'autres travaux mettant en œuvre des méthodes spécifiques pour l'identification des neurones sécréteurs lui permirent également de localiser les produits de neurosécrétion dans des terminaisons nerveuses de l'éminence médiane du Canard. Le concept de « neurosécrétion » proposé par E. Scharrer en 1929 trouvait dans les travaux d'Ivan Assenmacher et de Jacques Benoit un support physiologique.

En 1952, Jacques Benoit fut nommé à la chaire d'Histophysiologie du Collège de France et Ivan Assenmacher suivit son maître à Paris. En 1953, mettant à profit le dispositif anatomique particulier du tractus porto-tubéral chez les oiseaux (sans oublier une habileté expérimentale remarquable), il réussit à sectionner ce tractus en laissant intacte la tige infundibulaire. Après interposition d'une lame empêchant toute régénération vasculaire, il observa que le réflexe photosexuel était aboli. Outre ses travaux de physiologie expérimentale (greffes, sections, lésions), en progressant dans le marquage et/ou la localisation des produits de neurosécrétion actifs sur la fonction gonadotrope, il posa aussi la question de la nature biochimique des substances d'origine neuronale transportées par le système porte à la préhypophyse. Il montra également que plusieurs régions de l'hypothalamus participaient au contrôle de la fonction gonadotrope. Il faut souligner ici que la mise en évidence chez le canard d'une commande hypothalamique purement humorale confirmait expérimentalement la théorie de la neurosécrétion portée par G. Harris en Grande Bretagne à partir de résultats obtenus chez les mammifères. Un autre aspect novateur des études effectuées à cette époque par Ivan Assenmacher et qui nous intéresse directement, réside dans la mise en évidence, dès 1955, de l'existence d'un rythme endogène circannuel de l'activité sexuelle chez de jeunes canards privés pendant plusieurs années de toute stimulation nyctémérale. Sa thèse de doctorat ès sciences « *Recherches sur le contrôle hypothalamique de la fonction gonadotrope préhypophysaire chez le canard* » fut soutenue en 1958 à Paris.

En 1959 Ivan Assenmacher rejoignit la Faculté des Sciences de Montpellier (nommé professeur titulaire de physiologie en 1962) et créa *de novo* un ensei-

(Suite page 79)

(Suite de la page 78)

nement, un laboratoire de recherche et l'on peut dire une école dont l'originalité résidait dans l'association des approches physiologiques, biochimiques, pharmacologiques, comportementales et morphofonctionnelles (lésions, injections intra-ventriculaires, localisations par immuno-cytochimie, microscopie électronique, autoradiographie). Restant fidèle à la méthodologie fondamentale de la Neuroendocrinologie et bénéficiant des progrès techniques les plus récents, il va avec ses nombreux collaborateurs poursuivre des recherches très fécondes évoluant jusqu'à sa retraite en 1999 selon trois axes qui tous, concernent les rythmes biologiques.

I-Ecophysiologie neuroendocrinienne : Etude des interactions de la fonction gonadotrope avec les autres fonctions pré-hypophysaires, thyroïdienne, prolactinique, corticotrope dans le cadre des cycles annuels neuroendocriniens.

L'étude de l'axe thyroïdienne dans ce cadre s'est faite et poursuivie avec H. Astier et M. Jallageas. L'analyse des interactions complexes entre hormones thyroïdiennes et gonadotropes au cours du cycle sexuel et de la régulation photopériodique de celui-ci met en évidence l'interaction inhibitrice entre le cycle annuel des hormones sexuelles et celui de la thyroxine, suggérant un rôle de celle-ci dans l'arrêt du cycle sexuel chez le Canard (1978) et le déclenchement de la mue du plumage. L'étude des corrélations thyroïdiennes a également été étendue à d'autres espèces d'oiseaux (la Sarcelle, un oiseau migrateur) et à un mammifère hibernant, le Loir. Plusieurs modalités d'interaction gonade-thyroïde ont ainsi été établies. (cf rev. 1986). Avec le développement actuel des travaux sur le rôle des hormones thyroïdiennes dans la traduction du message photopériodique au niveau hypothalamique, on peut conclure que, sur cet aspect, l'équipe d'I. Assenmacher a été une équipe pionnière. L'existence d'un cycle annuel de la fonction cortico-surrénalienne fut également établie chez le canard (avec J. Soulé et J. Bois-

sin, 1966). Il est en opposition de phase avec le cycle sexuel, la testostérone exerçant un rôle inhibiteur sur la sécrétion des corticoïdes. Parallèlement, avec J.D. Baylé et en collaboration avec A. Tixier-Vidal, il a pu montrer que la suppression pharmacologique du système catécholaminergique central par la réserpine bloque la réponse photo-gonadotrope – ce qui implique un contrôle monoaminergique central sur l'hypothalamus (1961).

Pendant la même période, Ivan Assenmacher poursuivit l'étude morphofonctionnelle de l'hypothalamus, en relation avec la fonction sexuelle chez le canard. Il découvre en 1969 (avec N. Bons) l'existence de terminaisons nerveuses dans l'hypothalamus antérieur (noyau suprachiasmatique) issues d'une voie rétino-hypothalamique de nature non visuelle, et impliquée dans le contrôle de la fonction gonadotrope par la lumière. Cette découverte a été ensuite généralisée aux autres oiseaux et aux mammifères. Il faut insister ici pour dire -même si cela n'est pas reconnu dans la littérature internationale- que le «découvreur» du tractus rétino-hypothalamique est bien I. Assenmacher. B Moore, le découvreur «officiel» a, dans son article originel sur le rat, reconnu cette antériorité en citant le travail de Bons et Assenmacher.

II- Etude des rythmes biologiques chez les oiseaux et chez le rat : Chronophysiologie neuroendocrinienne

L'existence de cycles neuroendocriniens annuels posait le problème des mécanismes de régulation et a naturellement débouché sur l'étude des rythmes (chronobiologie neuroendocrinienne, discipline ainsi désignée par Ivan Assenmacher et Maurice Fontaine).

En 1974, il conçoit et installe à Montpellier un « bloc bioclimatique » dans lequel des animaux (rat, caille) sont isolés de toute influence externe (humaine et autres), leur activité étant enregistrée à distance. Grâce à ce système et avec ses collaborateurs, J.Boissin, A. Szafarczyk, J.Y. Daniel, G. Ixart et G. Alonso, il entreprend une analyse comparée des rythmes de l'activité de l'axe corticotrope et de l'activité générale. Ils mettent d'abord en évidence le couplage de rythmes neu-



(Suite page 80)

roendocriniens (corticotrope, thyroïdienne, prolactinémique) circadiens avec les cycles veille-sommeil chez le rat, animal à activité nocturne, et chez la caille, animal à activité diurne (publication princeps en 1977). Ils démontrent ensuite l'existence d'une horloge (pacemaker) endogène du rythme circadien corticotrope et de l'activité générale (1978). Ces deux pacemakers endogènes du système corticotrope et de l'activité générale sont couplés mais distincts car on peut les désynchroniser expérimentalement. L'ensemble de ces résultats originaux plaide en faveur de l'existence de deux pacemakers circadiens distincts entraînés et synchronisés par des facteurs externes.

L'étude corrélatrice des structures nerveuses impliquées dans le fonctionnement de ces divers pacemakers, par des approches neurophysiologiques et morphologiques multiples, montrait également, et ce contrairement à l'hypothèse de Moore (hypothèse dominante jusque dans les années récentes), que le noyau suprachiasmatique n'est pas un pacemaker unique. Au rôle de cet élément majeur d'une intégration circadienne de composants ultradiens, s'ajoute celui de structures limbiques (amygdale, strie terminale) ainsi que d'innervations d'origine bulbaire (sérotoninergique, adrénérgique) (1981-1992). Aujourd'hui, même si ces travaux ne sont pas toujours cités, ces conclusions sont totalement reprises par l'ensemble de notre communauté.

Ivan Assenmacher et ses collaborateurs par des techniques chirurgicales raffinées chez le rat, ont également mis en évidence l'existence dans les variations circadiennes (1989-1992) de l'axe corticotrope, d'une sécrétion « pulsatile » du CRH 41. Cette pulsatilité s'étend à l'ensemble de l'axe corticotrope (1989). Une fois encore, ces résultats sont actuellement « redécouverts ».

III- Neuroendocrinologie de l'axe corticotrope: Réponses au stress aigu et au stress chronique

Ces travaux, qui se sont déroulés dans les décennies 80 et 90, s'inscrivent eux aussi directement dans la problématique des rythmes biologiques. L'axe corticotrope était généralement étudié dans les conditions de l'homéostasie basale, c'est-à-dire d'équilibre fonctionnel. Depuis les travaux de Hans Selye (1948) toutefois, il était connu que toute agression (stress) exerce un effet dérégulateur et que l'axe corticotrope est l'élément majeur de la réponse de l'organisme. La notion de temporalité a ainsi été introduite et c'est dans ce concept qu'I. Assenmacher et ses collaborateurs ont entrepris une étude de la réponse du système corticotrope à diverses situations de stress aigu. Ils ont tout d'abord établi chez le rat une cartographie des réseaux neuronaux impliqués dans la régulation de l'axe corticotrope. Parallèlement ils analysèrent les « patrons » temporels de réponse de l'axe corticotrope au stress aigu et leurs approches expérimentales ont permis de mettre en évidence le rôle majeur

activateur du système catécholaminergique, lui-même modulé par des facteurs inhibiteurs, comme la corticostérone (1991-1995)

La réponse au stress chronique a également été étudiée dans différents modèles expérimentaux : épilepsie expérimentale (1986), altération de la gravité (1994-1995), choc toxémique (1994-1999). Au delà de l'effet aigu de ces interventions, leur effet durable se traduit en particulier par la déstructuration des rythmes circadiens du système corticotrope et la disjonction complète des couplages hormonaux habituels observés dans les réponses au stress aigu.

Conclusion

L'ensemble des travaux ici décrits et effectués par Ivan Assenmacher et ses collaborateurs entre 1948 et 1999, représente, par la richesse et la subtilité des expérimentations et des analyses, une contribution exceptionnelle à la compréhension des rythmes biologiques. Ils justifient pleinement la place de leader international dans le domaine des rythmes qu'a occupé Ivan Assenmacher. L'étude des rythmes biologiques (circadiens et saisonniers) était pour I. Assenmacher un des éléments moteurs dans la compréhension de la Neuroendocrinologie. La création du terme « chronobiologie neuroendocrinienne » par I. Assenmacher et M. Fontaine pour désigner cette interface particulière est fondamentale et elle explique directement pourquoi les études sur les rythmes biologiques ont toujours été en France un axe important de la Neuroendocrinologie expérimentale. C'est maintenant également le cas au plan international. La création de ce terme explique également l'implication forte d'Ivan Assenmacher dans la création du Groupe d'Etudes des Rythmes Biologiques – maintenant Société Francophone de Chronobiologie- (voir encadré).

André Calas (Paris-Bordeaux) et Andrée Tixier-Vidal (Paris) ont beaucoup aidé pour la rédaction de cet article. Je tiens ici à les remercier pour leurs conseils et leurs suggestions. Je les remercie également de m'avoir permis de compléter ma photothèque

- 1) ALONSO G. ET ASSENMACHER I. The smooth endoplasmic

Ecophysiologie, neuroendocrinologie, chronobiologie ont été les mots-clés d'une œuvre scientifique remarquable par sa cohérence et jalonnée par plus de 200 publications originales. Voici une sélection d'articles qui mériteraient d'être relus.

Sélection faite par A Tixier-Vidal

- reticulum in neurohypophysial axons of the rat. Possible involvement in transport, storage and release of neurosecretory material. **Cell Tissue Res.**, 199: 415-429, (1979)
- 2) ALONSO G., SZAFARCZYK A. ET ASSENMACHER I. Immunoreactivity of hypothalamo-neurohypophysial neurons which secrete corticotropin-releasing hormone (CRH) and vasopressin (VP) : immunocytochemical evidence for a correlation with their functional state in colchicine treated rats. **Exper. Brain Research**, 61: 497-505, (1986).
- 3) ASSENMACHER I., La vascularisation du complexe hypophysaire chez le canard domestique, I - La vascularisation du complexe hypophysaire adulte. II -Le développe-

- ment embryologique de l'appareil vasculaire hypophysaire, **Arch. d'Ana. Microsc. et de Morphol. Expér.**, **41** : 69-152. (1952)
- 4) **ASSENMACHER I.**, Recherches sur le contrôle hypothalamique de la fonction gonadotrope préhypophysaire chez le canard. **Arch. d'Ana. Microsc. et de Morphol. Expér.**, **47**, suppl. : 448-572. (1958).
 - 5) **ASSENMACHER I.** CNS structures controlling circadian neuroendocrine and activity rhythms in rat. In "Vertebrate circadian systems. Structure and Physiology" (J. Aschoff, S. Daan, G. Gross, eds) Springer Verlag (Berlin, Heidelberg) pp87-95, (1982).
 - 6) **ASSENMACHER I. ET J. BENOIT**, Répercussions de la section du tractus porto-tubéral hypophysaire sur la gonadostimulation par la lumière chez le Canard domestique, **C. R. Acad. Sci. (Paris)**, **277**, 2765-2768, (1973).
 - 7) **ASSENMACHER I. ET TIXIER-VIDAL A.** Action de la section des veines portes hypophysaires sur le fonctionnement thyroïdien, étudié à l'aide du radio-iode chez le canard
 - 8) **ASSENMACHER I. ET TIXIER-VIDAL A.** Répercussions de la section des veines portes hypophysaires sur la préhypophyse du canard mâle entier ou castré. **Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exper.** **53** ; 83-106. (1964)
 - 9) **ASSENMACHER I., BARBANEL G., GAILLET S., GIVALOIS L., IXART G., MALAVAL F., MEKAOUICHE M., SIAUD P. ET SZAFARCZYK A.**, Central regulation of ACTH release in stress. In « Stress : Basic Mechanisms and Clinical Implications » (G.P. Chrousos et al. eds) **Ann. New York Acad. Sci.**, **771**: 41-54, (1995)
 - 10) **ASSENMACHER I., SZAFARCZYK A., BARBANEL O. ET IXART G.** Pulsatile and circadian rhythms of the adrenocorticotrophic axis and their CNS control. In "Endocrine chronobiology" (T. Hiroshige, S. Fujimoto, K. Honma, eds) Hokkaido University Press, Sapporo, pp. 15-24, (1992).
 - 11) **ASSENMACHER I., TIXIER-VIDAL A. ET J.D. BAYLÉ**, Inhibition du réflexe photo-sexuel par la Réserpine chez le Canard mâle, **C.R. Société de biologie**, **155** 2235-2240. (1961).
 - 12) **ASSENMACHER I., TIXIER-VIDAL A. ET BOISSIN J.**, Contenu en hormones gonadotropes et en prolactine de l'hypophyse du Canard soumis à un traitement lutéinique ou réserpinique. **C. R. Soc. Biol. (Paris)**, **156** :1555-1559, (1962)
 - 13) **ASTIER H., HALBERG F. ET ASSENMACHER I.** Rythmes de l'activité thyroïdienne chez le canard pékin mâle. **J. Physiol. (Paris)**, **62**, 219-230, (1970)
 - 14) **BAYLÉ J.D. ET ASSENMACHER I.**, Absence de stimulation du jabot du pigeon après autogreffe hypophysaire, **C. R. Acad. Sci. (Paris)** **261** 5667-5670. (1965),
 - 15) **BENOIT J. ET ASSENMACHER I.**, Le contrôle hypothalamique de l'activité préhypophysaire gonadotrope, **Journal de Physiologie**, **47** : 427-567. (1955),
 - 16) **BENOIT J., ASSENMACHER I., BRARD E.** Evolution testiculaire du canard domestique maintenu à l'obscurité totale pendant une longue durée. **C.R.Acad.Sci.(Paris)**, **241**, 251-253, (1955)
 - 17) **BOISSIN J., BAYLÉ J.D. ET ASSENMACHER I.**, Le fonctionnement corticosurrénalien du canard mâle après préhypophysectomie ou autogreffe hypophysaire ectopique. **C.R.Acad.Sci.(Paris)**, **263**, 1127-1129. (1966)
 - 18) **BOISSIN J., NOUGUIER-SOULÉ J. ET ASSENMACHER I.**, Free-running entrained and resynchronized circadian rhythms of plasma corticosterone and locomotor activity in the quail. **Internat. J. of Chronobiology**, **3** : 89-125, (1975).
 - 19) **BONS N. ET ASSENMACHER I.**, Présence de fibres rétinien-nes dégénérées dans la région hypothalamique supraoptique du Canard après section d'un nerf optique, **C. R. Acad. Sci.(Paris)**, **269** 1535-1538 (1969),
 - 20) **BONS N., KERDELHUE B. ET ASSENMACHER I.** Présence de neurones élaborateurs de LH-RH dans l'hypothalamus antérieur du Canard (*Anas platyrhynchos*), **C. R. Acad. Sci.(Paris)**, **285** : 1327-2330. (1977),
 - 21) **CALAS A. ET ASSENMACHER I.** Ultrastructure de l'éminence médiane du canard. **Z. Zellforsch.**, **109**: 64-82, (1970)
 - 22) **CALAS A., KERDELHUE B., ASSENMACHER I. ET JUTISZ M.** Les axones à LH-RH de l'éminence médiane. Mise en évidence chez le canard par une technique immunocytochimique. **C.R.Acad. Sci. (Paris)**, **277**, 2765-2768, (1973).
 - 23) **DANIEL, J.Y ET ASSENMACHER I.** : Interrelations testiculo-surréaliennes chez le Canard. **Gen and Comp Endocrinology**, **13** 499-500. (1969)
 - 24) **GIVALOIS L., BECQ H., SIAUD P., IXART G., ASSENMACHER I. ET BARBANEL G.** : Serotonergic and suprachiasmatic nucleus involvement in the corticotropin response to systemic endotoxin challenge in the rat. **J. of Neuroendocrinol.**, **11**: 629-636., (1999)
 - 25) **IXART G., BARBANEL G., NOUGUIER J. ET ASSENMACHER I.**: First evidence of pulsatility of irCRH41 release in free-moving rats. **Abstr. 9th Eur. Winter Conference on Brain Res. Les Arcs(France)** p. 81, (1989).
 - 26) **IXART G., SZAFARCZYK A., BELUGOU J.L. ET ASSENMACHER I.**: Temporal relationships between the diurnal rhythm of hypothalamic corticotropin-releasing factor, pituitary corticotropin and plasma corticosterone in the rat. **J. Endocrinol.(London)**, **72**: 113-120. (1977).
 - 27) **JALLAGEAS M., ASTIER H., ET ASSENMACHER I.**: Thyroid-gonadal interactions during the postnuptial phase of the sexual cycle in the male ducks, **Gen and Comp Endocrinology**, **34**: 68-69. (1978)
 - 28) **MEKAOUICHE M., GIVALOIS L., BARBANEL G., SIAUD P., MAUREL D., MALAVAL F., BRISTOW A.F., BOISSIN J., ASSENMACHER I. ET IXART G.**: Chronic restraint enhances interleukin-1beta release in the basal state and after an endotoxin challenge, independently of adrenocorticotropin and corticosterone release. **Neuroimmunomodulation**, **1** : 292-299. (1994).
 - 29) **SOULÉ J. ET ASSENMACHER I.** Mise en évidence d'un cycle annuel de la fonction corticosurrénale chez le canard mâle. **C.R. Acad.Sci. (Paris)**, **263**, 983-985. (1966).
 - 30) **SZAFARCZYK A., BOISSIN J. ET ASSENMACHER I.** : Effets du niveau d'éclairement sur le rythme circadien de la corticostéronémie chez la Ratte, **C. R. Acad.Sci. (Paris)**, **273** : 2583-2586 (1971).
 - 31) **SZAFARCZYK A., IXART G., ALONSO G., MALAVAL F., NOUGUIER-SOULÉ J. ET ASSENMACHER I.** : Neural control of circadian rhythms in plasma ACTH, plasma corticosterone and motor activity. **J. Physiol; (Paris)**, **77**, 969-976. (1981)
 - 32) **SZAFARCZYK A., IXART G., MALAVAL F., NOUGUIER-SOULÉ J. ET ASSENMACHER I.** Short-term effects of stereotaxic destruction of the suprachiasmatic nucleus on the diurnal rhythms of plasma ACTH and corticosterone, and locomotor activity in rats. **Proc. Internat. Union Physiol. Sci.**, **13** 733. (1977),
 - 33) **SZAFARCZYK A., NOUGUIER-SOULÉ J. ET ASSENMACHER I.** Effects of ahemeral environmental periodicity on the rhythms of adrenocortical and locomotor functions in rats and japanese quails. In "Environmental Endocrinology" (I. Assenmacher et D.S. Farner eds) (Springer Verlag (Berlin, Heidelberg) pp. 182-184 (1978)
 - 34) **TIXIER-VIDAL A. ET ASSENMACHER I.** Some aspects of the pituitary-thyroid relationships in birds. **Excerpta Medica International Congress series**, **83**, 172-182, (1964)

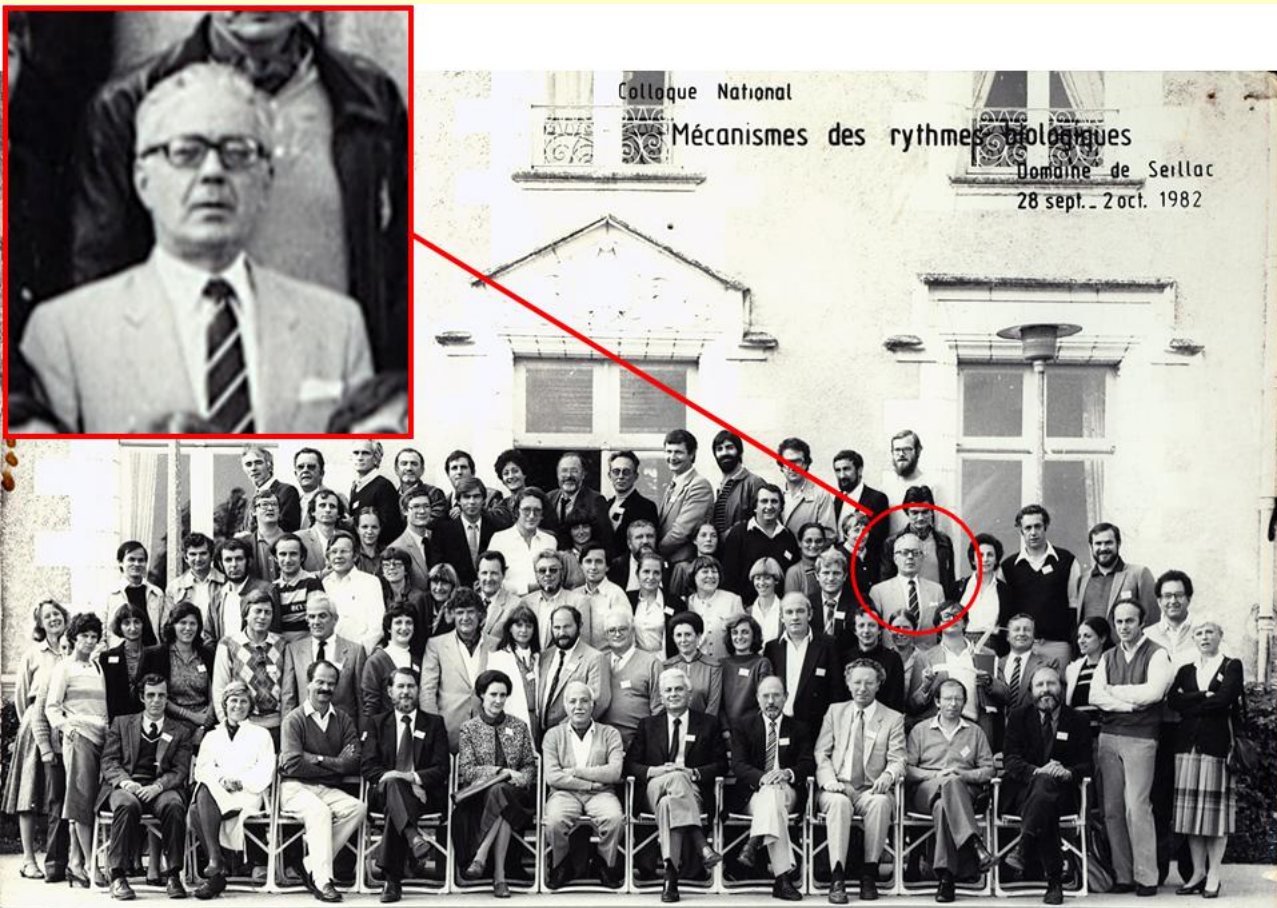
Ivan Assenmacher et la création du Groupe d'Études des Rythmes Biologiques

aujourd'hui la Société Francophone de Chronobiologie

Paul Pévet, Strasbourg, Septembre 2010

Historiquement, deux grands courants ont caractérisé les recherches sur les rythmes. L'un de ces courants, représenté surtout par des médecins – F. Halberg, L. Scheving, et en France A. Reinberg – cherche, sur la base d'études systématiques précises des rythmes biologiques, à bien connaître les structures temporelles des fonctions pour développer 1) une plus grande efficacité de stratégie médicale 2) une prévention des maladies et 3) une optimisation de la posologie médicamenteuse. Pour les tenants de ce courant, l'étude des rythmes constitue une discipline scientifique individualisée ayant un but précis et une méthodologie propre. Ils lui donnèrent le nom de Chronobiologie. Le second courant, porté par des personnalités comme C.S. Pittendrigh et J. Aschoff, s'est intéressé essentiellement à la nature des rythmes biologiques. Comprendre le fonctionnement des horloges, décrire le support anatomique des automatismes sont les questions clés de ce courant de pensée. Pour eux, les problèmes fondamentaux que pose l'étude des rythmes doivent donc être abordés par les chercheurs au sein de leurs disciplines respectives (endocrinologie, neurobiologie, études du comportement, etc.). De par ses travaux, Ivan Assenmacher se rattache directement à ce dernier courant et a été un grand acteur de son développement

L'organisation sociale du monde scientifique se fait autour de sociétés savantes. Les projets disciplinaires se jouent en même temps et indissolublement sur un plan conceptuel et sur un plan institutionnel. Pour les



rythmes biologiques, même si la séparation entre ces deux courants de pensée ne fut pas très étanche et même s'ils se sont mutuellement enrichis, le désaccord conceptuel a eu des conséquences en termes institutionnels. Ces dernières années, avec la découverte des mécanismes moléculaires de l'horloge, les études mécanistiques des rythmes se sont nettement développées. Beaucoup de sociétés n'ont pas su intégrer les changements profonds de la discipline et, de ce fait, de nouvelles sociétés scientifiques ont été fondées, ne serait-ce que pour asseoir la modernité actuelle. Je citerais simplement les plus connues : la So-

(Suite de la page 82)

ciety for Research on Biological Rhythms (SRBR), et la *European Biological Rhythms Society* (EBRS) qui sont devenues les références internationales. Il faut aussi noter qu'à l'opposé de sociétés plus anciennes (*International Society for Chronobiology, European Society for Chronobiology*), le vocable utilisé «rythmes biologiques» renvoie au deuxième courant de pensée. Actuellement toutefois, de par la médiatisation systématique de la science, le mot « Chronobiologie » a retrouvé un sens de modernité et les sociétés citées, avec de nombreuses autres, anciennes ou récentes, se sont regroupées dans une *International Federation of Societies for Chronobiology* (IFSC).

La situation en France fut à la fois similaire et différente. La SFC est une société relativement ancienne (née sous le nom de Groupe d'Etudes des Rythmes Biologiques» en 1968) et qui, bien évidemment, a été confrontée aux équilibres entre les deux courants de pensée. C'est au rôle et à l'implication de personnalités comme Ivan Assenmacher que la SFC doit de ne pas être devenue une « Chapelle » et a pu suivre l'évolution de la discipline en restant toujours la seule représentante de la communauté.

Le Cold Spring Harbor Symposium -Biological Clocks, 1960 organisée par C. S. Pittendrigh, J. Aschoff et E. Bunning qui traduisait la victoire d'un courant est maintenant considéré comme date de naissance de la discipline (c'est vrai sur le plan de la mécanistique des rythmes mais peut être abusif en terme d'histoire des sciences). A partir de ce symposium de nombreux colloques ou symposia furent organisés. Parmi ceux-ci, il faut citer en septembre 1964 la « Summer School » organisée à Feldafing (Allemagne). En effet, J Aschoff avait invité à ce symposium les francophones travaillant sur les rythmes. L. Baillaud, A. Heusner, S. Jereb-zoff, M.C. Saint-Giron, T. Vanden Driesche et A. Reinberg étaient présents (Ivan Assenmacher était aussi invité mais n'avait pu s'y rendre). Comme le dit A. Reinberg «Nous ne nous connaissions pas. Chacun ignorait les travaux des autres. C'était une situation étrange» et alors a commencé à germer l'idée de la constitution d'un groupement de langue française sur les rythmes. Ce groupe chargea L. Baillaud de lancer le processus de regroupement institutionnel. La diversité des phénomènes biologiques rythmés étudiés comme celle des approches scientifiques utilisées par les membres de cette communauté francophone, incita Lucien Baillaud à favoriser la formation non d'une Société mais d'un Groupe d'étude

Cette initiative, pour avoir des chances de succès, devait aussi et d'abord être acceptée par les biologistes français. Sur les conseils d'Alain Reinberg, un comité de patronage fut constitué. Ivan Assenmacher accepta immédiatement d'en être membre et avec d'autres collègues spécialistes comme J. Benoit, M. Fontaine et A. Fessard, s'impliqua fortement dans le travail de réflexion préalable à cette création (nota : R. Courrier, A. Lwoff et J. Monod étaient également membres de ce comité). Un appel fut lancé et 400 scientifiques exprimèrent leur intérêt. En Juillet 1968, un conseil provisoire comprenant des représentants de diverses disciplines fut créé. Ivan Assenmacher représentait la physiologie animale et l'endocrinologie, L. Baillaud, J.Y. Gautier, A. Hugelin, G. Oléron, A. Reinberg et Thérèse Vanden Driessche représentaient respectivement la biologie végétale, le comportement animal, la physiologie nerveuse, la psychologie, la physiologie humaine et la biologie moléculaire.

Le GERB fut créé sous forme d'une association en septembre 1968 avec M. Fontaine comme Président et Ivan Assenmacher comme Vice-Président (Lucien Baillaud secrétaire général). Quel fut alors le rôle d'Ivan Assenmacher? d'abord, nous lui devons le nom: «Groupe d'Etude des Rythmes Biologiques». Les termes en sciences, y compris sur le plan sociétal, ne sont pas neutres et à l'époque l'utilisation du terme «Chronobiologie» aurait signifié des objectifs différents. Ivan Assenmacher a aussi pris la responsabilité de l'élaboration des programmes scientifiques des premières réunions et ce dans une discipline qui était encore loin d'être structurée et conceptuellement très divisée. Ce ne fut pas un travail facile! Comme l'a souligné Lucien Baillaud dans l'une de ses correspondances: «Il fallait parfois choisir entre un auteur notoire solide, passionnant, que nous avons déjà entendu, et un débutant moins assuré. La situation était quelquefois délicate».

Si l'on considère ce qu'est devenu le GERB et la qualité des travaux présentés lors des réunions, nous pouvons tous remercier Ivan Assenmacher qui, avec son charisme et son autorité habituelle, a su imposer la «rigueur» dans notre fonctionnement.

Nota : Je remercie les Professeurs **Lucien Baillaud** et **Alain Reinberg** qui ont su faire surgir de leurs mémoires quelques éléments d'histoire.

A l'occasion du vingtième anniversaire de la création du GERB, un historique détaillé a été publié. (Lucien Baillaud, Bulletin du Groupe d'Etude des Rythmes Biologiques, tome 21, n° 1 pp21-35, 1989)

Compte-rendu de l'assemblée générale de la SFC

08 septembre 2010, La Colle sur Loup

Ouria Dkhissi-Benyahya,
Secrétaire générale.

Membres excusés pour la réunion du conseil d'administration du 08/09/10: Fabienne AUJARD (trésorière), Xavier BONNEFOND, Olivier BOSLER, Albert GOLDBETER, André KLARSFELD, Francis LÉVI, Benoît MALPAUX et Sophie LUMINEAU (secrétaire adjointe),.

Membres présents à la réunion du conseil d'administration du 08/09/10: René CLARISSE, Etienne CHALLET (secrétaire général) Bruno CLAUSTRAT (président), Howard COOPER (vice-président), Olivier COSTE, Franck DELAUNAY (trésorier adjoint), Ouria DKHISSI-BENYAHYA

Ouverture de séance à 18h30 par Bruno CLAUSTRAT, président, en présence de 16 membres.

En premier lieu, l'assemblée vote à l'unanimité l'approbation du compte-rendu de l'assemblée générale de la SFC tenue à Strasbourg le 24 août 2009.

1. Compte-rendu moral du président

1) Dans son allocution introductive, Bruno CLAUSTRAT évoque la bonne visibilité nationale et internationale de notre société suite aux efforts menés pour la faire connaître. En particulier, la mise en place de relations avec d'autres sociétés notamment avec la Société Française de Recherche et Médecine du Sommeil (SFRMS) et la mise en place depuis 2 ans d'une session commune, lors des congrès du Sommeil, co-parrainée par la SFC et la SFRMS (19-21 novembre 2009 à Marseille et du 18-20 novembre 2010 à Poitiers-Tours).

2) Par ailleurs, la Société Française de Recherche sur le Sommeil (par l'intermédiaire de Cécile Cornibert) a pour projet de compiler les publications de chronobiologie, que nous pourrions inclure dans la revue « Rythmes », dès septembre. Cette proposition a été votée à l'unanimité pendant l'assemblée générale.

3) Surveillance médicales des travailleurs postés; projet dirigé par le Professeur Damien Léger (médecin des hôpitaux de Paris et responsable du Centre du Sommeil et de la Vigilance de l'Hôtel Dieu de Paris) en partenariat avec la Haute Autorité de Santé. 10 sociétés, comprenant la SFC vont intervenir en tant qu'expert Es-qualité.

2. Bilan financier

Au cours de l'année écoulée, les dépenses se sont élevées à 3255,04 € alors que les crédits ont été de 3922,02 €.

A la date du 8 septembre 2010, le CCP est crédité de la somme de 4 790,12 € et le livret de caisse d'épargne de 12 926,56 €. La société a donc un avoir total de **17 716,68 €**.

L'assemblée générale accorde le quitus à l'unanimité. Les problèmes administratifs récurrents, liés à la domiciliation du siège social de la SFC à l'Université de Saint Etienne ont été discutés. Il a été proposé de

transférer la domiciliation du siège social à l'unité INSERM U846, située à Bron sous réserve que l'INSERM accepte. La secrétaire générale est en charge de ce transfert.

3. Bilan des adhérents et cotisations 2010

La société compte 120 adhérents à jour de leur cotisation comprenant 76 adhérents au tarif normal, 24 retraités, 6 exemptés et 14 étudiants. 46 adhérents sont en retard de leur cotisation d'un an.

Pour l'année 2010-2011, la cotisation annuelle reste inchangée à 25 € par adhérent, à 12,50 € pour les retraités. La cotisation est toujours gratuite pour les étudiants sous réserve qu'ils publient un article dans RYTHMES. Le supplément de 10€ pour l'envoi papier du bulletin RYTHMES reste inchangé. A ce jour, les adresses électroniques fournies représentent 89 % des adhérents

3 nouveaux membres souhaitent adhérer à la SFC

SEIBERT Roland, Médecin pneumologue (Haguenau)

SARAZIN Philippe, Médecin nutritionniste (Nantes)

JARNE Carlos, Médecin esthétique (Barcelone)

Leur adhésion est approuvée à l'unanimité par l'assemblée.

4. Informations sur les prochains congrès SFC

Il a été souligné que plusieurs congrès internationaux traitants de Chronobiologie (EBRS, 20-26 août 2011 ; Gordon Conférence 12-17 juin 2011) sont prévus l'année prochaine, rendant difficile la tenue du congrès de la SFC. Ce dernier est donc repoussé à 2012 et sera organisé par Martine RIGAUD et ses collègues de Nouzilly. La date reste à déterminer.

Il a été également proposé de modifier la tenue annuelle du congrès de la SFC pour une organisation tous les 2 ans. Cette proposition est encore discutée.

5. Bulletin RYTHMES

Le bulletin RYTHMES a maintenu sa fréquence de parution trimestrielle. Le chargement électronique des bulletins par les membres est possible par le site web de la SFC (<http://www.sf-chronobiologie.org/>)

(Suite page 85)



(Suite de la page 84)
[revue.php](#)

Le choix de la version électronique / version papier reste majoritaire (123 envois soit 74 %) contre la version papier (43 envois dont 32 en France, 7 en EU et 4 dans le monde).

Pour les nouveaux adhérents, uniquement l'envoi de la version électronique est dorénavant proposé.

Le problème récurrent de l'approvisionnement en articles pour la revue Rythme a été rappelé. Les docteurs, membres à titre gracieux de la SFC, ainsi que les récipiendaires du prix SFC se sont en effet, engagés à soumettre un article dans RYTHMES.

La version papier de RYTHMES est maintenue et continuera à être agrafée au lieu d'être reliée.

6. Site internet de la SFC (<http://www.sf-chronobiologie.org/>)

Sophie LUMINEAU, secrétaire adjointe, s'occupe de la maintenance du site de la SFC. Le site visible aux membres de la SFC et au grand public assure bien notre visibilité nationale et internationale. Il est rappelé à chacun qu'il peut participer à sa dynamique en y postant des annonces d'évènements, d'offres car il est encore peu exploité. Franck Delaunay a proposé de demander conseil auprès de ses collègues informaticiens afin de trouver une solution pérenne concernant la gestion du site de la SFC et tout particulièrement la mise en place d'une page Web, réutilisable pour tous les congrès organisés par notre société.

Afin de compléter le site, une page recensant les enseignements de la chronobiologie en France sera créée.

Par ailleurs, notre président propose aussi d'alimenter le site avec des articles de vulgarisation des grands thèmes de la chronobiologie qui pourraient être intéressants pour un large public (hibernation, chronothérapie). Cher(e)s collègues membres de la SFC, avis aux amateurs!

Une autre proposition complémentaire viserait à inclure sur le site un glossaire des définitions en chronobiologie et potentiellement les articles publiés dans Rythme.

André Klarsfeld se propose également de préparer une page 'Grand Public' et de faire des liens avec les articles pertinents de wikipédia.

8. Relations internationales

Etienne Challet a rappelé que l'adhésion à la SFC, permettait jusqu'à ce jour d'être également membre de l'EBRS sans cotisation supplémentaire. Cette prérogative risque d'être annulée, rendant obligatoire l'adhésion séparée aux 2 sociétés. A l'heure actuelle, notre président Bruno Claustrat n'a reçu aucune notification du président de l'EBRS.

7. Renouvellement d'une partie du Conseil d'Administration

En ce qui concerne le renouvellement du Conseil d'Administration, voici quelles sont les échéances

pour l'année prochaine (2011):

- Trois membres sont en fin de 2^e mandat (non renouvelable): Fabienne AUJARD (trésorière), René Clarisse et Etienne Challet (ex-secrétaire général).

- Trois membres sont en fin de 1^{er} mandat (renouvelable) : Franck DELAUNAY (trésorier adjoint), Albert GOLDBETER et Francis LEVI.

- Benoît Malpau, accaparé par d'autres fonctions souhaite démissionner du CA (notre président en a été informé après le congrès de la SFC).

Un appel a été lancé durant l'assemblée générale aux personnes souhaitant faire acte de candidature au conseil d'administration de la SFC.

8. Renouvellement du secrétaire

Le poste de secrétaire général était vacant depuis l'année dernière. Etienne CHALLET avait accepté, avec accord du CA de continuer d'assurer sa fonction pour une année supplémentaire.

Lors du conseil d'administration qui s'est tenu cette année à la Colle sur Loup, Ouria DKHISSI-BENYAHYA a été élue secrétaire générale de la SFC.

Merci encore à Etienne pour ton excellent travail durant toutes ses années.

9. Bourse de voyage 2010

Un jury composé de tous les membres du CA a attribué une bourse de voyage à Marc CUESTA (chercheur post-doctorant à l'Université de Cambridge) couvrant les frais de voyage pour venir assister et présenter ses travaux au congrès de la SFC qui s'est tenu à la Colle sur Loup.

10. Prix Jeune chercheur/jeune chercheuse 2010

Pour rappel, le prix Jeune chercheur/jeune chercheuse, d'un montant de 1500 €, récompense un chercheur chronobiologiste de moins de 35 ans.

Un jury composé de 4 personnes du CA, n'ayant pas co-publié avec les candidats (Albert Goldebeter, André Klarsfeld, Ouria Dkhissi-Benyahya, Benoît Malpau), sous la direction de Bruno Claustrat a été attribué cette année à Jérémie TERRIEN, chercheur Post-doctorant à l'Université Southwestern (Dallas, USA)

Comme convenu l'an dernier, le/la lauréat(e) du prix Jeune chercheur/jeune chercheuse a été choisi(e) avant le congrès SFC (juin 2010) afin de prévoir une présentation orale lors du congrès.

11. Recensement de l'enseignement de la Chronobiologie

La proposition de recenser les formations et enseignements en Chronobiologie a été brièvement abordé car une table ronde concernant ce point a été organisé par H. COOPER au cours du congrès 2010 de la SFC.

12. Points divers

Bruno Claustrat a suggéré la modification du Logo de la SFC qui n'apporte aucune information sur la signification des initiales SFC. Avis aux suggestions



Sweet clock(s) o' mine

Jorge MENDOZA

Département de Neurobiologie des Rythmes, Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives, CNRS UPR3212, Université de Strasbourg, Strasbourg.

Les horloges circadiennes régulent les fluctuations journalières de notre physiologie et de notre comportement. Et si nous parlons des horloges, c'est qu'il a été démontré que le système circadien est un élément complexe composé non pas d'un, mais de nombreux oscillateurs centraux et périphériques, qui sont coordonnés entre eux par des processus de couplage ou de synchronisation. Dans le cerveau, au niveau de l'hypothalamus, l'horloge circadienne principale située dans les noyaux suprachiasmatiques (SCN) reste encore l'horloge maîtresse qui coordonne les oscillateurs centraux (hors SCN) et périphériques dans différents tissus comme le foie, le pancréas ou le tissu adipeux (Silver et Schwartz, 2005). Les SCN sont principalement synchronisés par le cycle lumière/obscurité. Cette information est transmise directement aux SCN par les cellules ganglionnaires de la rétine (Meijer et Schwartz, 2003). Ainsi, après intégration de l'information lumineuse par les SCN, ces derniers transmettent cette information à d'autres oscillateurs par des voies neuronales et hormonales (Perreau-Lenz et al, 2004).

Les oscillateurs centraux et périphériques peuvent être cependant entraînés directement et indépendamment de l'horloge des SCN par d'autres signaux temporels; parmi ces signaux, la nourriture est le synchroniseur plus important. Notamment lorsque sa quantité, sa qualité ou son temps d'accès sont modifiés ou contrôlés, la nourriture peut être également un puissant *zeitgeber* même pour les SCN

(Mendoza, 2007). Toutefois, même si l'on sait que la nourriture est un synchroniseur puissant pour les oscillateurs centraux, le rôle circadien et physiologique de ces oscillateurs est encore peu clair, bien qu'il soit possible qu'ils régulent des comportements circadiens spécifiques, ou qu'ils transmettent l'information de différents synchroniseurs à l'horloge du SCN, la nourriture par exemple.

Entraînement à l'heure du repas: «Il était une fois un FEO....»

Les premiers résultats démontrant un entraînement de l'activité locomotrice par la nourriture ont été observés lors d'expériences de restriction alimentaire chez le rongeur. Lors de conditions de restriction alimentaire (consistant à limiter l'accès à la nourriture à quelques heures par jour) les rongeurs ont développé une activité d'anticipation de l'heure des repas (food-anticipatory activity, FAA) avec des propriétés spécifiques et propres aux horloges circadiennes (Fig.1; Stephan, 2002). Puisque cette FAA est encore présente même chez les animaux ayant des lésions des SCN, l'hypothèse de l'existence d'un oscillateur circadien indépendant et synchronisé par la nourriture (food-entrainable oscillator, FEO) a été avancée (Stephan, 1979; Stephan, 2002; Mistlberger, 1994). Cependant, après plus de 30 ans de recherche cette horloge n'est toujours pas identifiée, malgré quelques évidences expérimentales indiquant le rôle de régions spécifiques du cerveau dans

l'expression de la FAA, principalement dans l'hypothalamus, le système limbique et le cervelet (Mendoza, 2007; Davidson, 2009; Mistlberger, 2009; Verwey et Amir, 2009; Mendoza et al, 2010a).

En effet, dans l'hypothalamus on a récemment proposé que les noyaux dorsomédiaux (DMH), un relais important pour l'intégration des signaux métaboliques liés à l'alimentation (Chou et al, 2003), pourraient contenir le FEO (Gooley et al, 2006; Mieda et al, 2006; Fuller et al, 2008). Toutefois, des étu-

(Suite page 87)

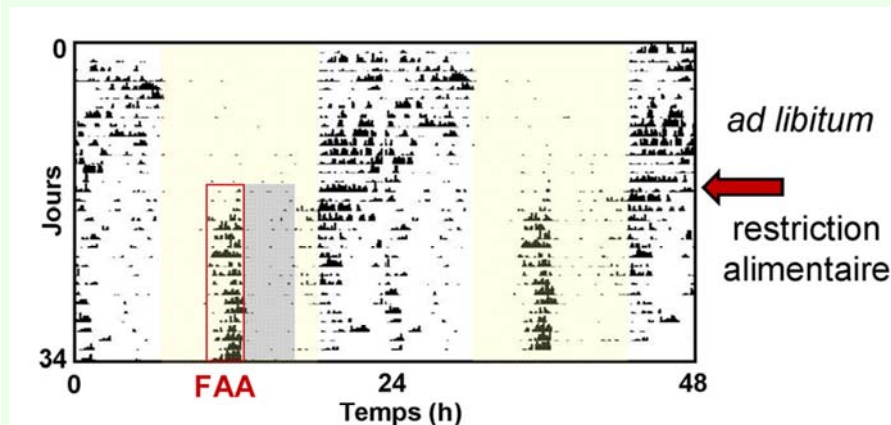


Figure 1: Actogramme en double représentation d'un rat en LD et en condition de nourrissage ad libitum puis soumis à une restriction alimentaire (indiquée par la flèche rouge). La zone grisée correspond à la période durant laquelle la nourriture est disponible. Le rectangle rouge indique l'expression de la FAA. Le nombre de jours d'enregistrement est reporté à gauche de l'actogramme.

(Suite de la page 86)

des ultérieures ont démontré que les DMH n'étaient pas le siège du FEO (Landry et al, 2007; Moriya et al, 2009). En conséquence, il reste encore des expériences à faire pour démontrer le rôle du DMH dans l'expression du FEO.

Le FEO dans le circuit de la récompense

Lorsque des animaux ont un accès à la nourriture restreint à quelques heures par jour, ils se retrouvent dans un état motivationnel qui les pousse à chercher et trouver des sources d'alimentation pour satisfaire cette déficience. Par conséquent, la motivation pour obtenir la nourriture, mais également la récompense ou le plaisir de manger après une condition de jeûne de plus de 20 heures, est très importante.

La prise alimentaire est régulée par deux voies complémentaires : la voie homéostatique et la voie hédonique (Saper et al, 2002). La voie homéostatique module la balance énergétique en augmentant la prise alimentaire après l'épuisement des ressources énergétiques. En revanche, la voie hédonique ou de la récompense peut contrôler la voie homéostatique, au cours des périodes d'abondance relative d'énergie, en augmentant le désir et la motivation pour la consommation des aliments fortement agréables tels que les régimes hyper-lipidiques et/ou riches en carbohydrates (sucrose). Sur le plan central, les circuits régulant la voie homéostatique sont contenus principalement dans l'hypothalamus. En revanche, pour la voie hédonique de la prise alimentaire, le circuit mésolimbique (signalisation dopaminergique provenant de l'aire tegmentale ventrale sur des neurones du noyau accumbens) est considéré comme le principal modulateur (Bassareo et Di Chiara, 1999; Berridge, 1996).

Chez les mammifères, les effets des drogues et de la consommation de substances fortement motivationnelles convergent vers une voie dans le système limbique qui module les comportements motivationnel (Di Chiara, 2005). Par exemple, de façon similaire à l'effet des drogues comme la cocaïne, la présentation de nourritures agréables induit la libération de dopamine dans le noyau *accumbens* (Acc; Baldo et Kelley, 2007). En outre, on peut observer chez l'animal une augmentation des comportements motivationnels pour obtenir de la nourriture, comme l'activation locomotrice, des apprentissages conditionnés ou pourquoi pas, l'activité d'anticipation au repas. Par conséquent, si la FAA est un comportement motivé d'origine circadienne et dont le mécanisme neuronal serait dans le circuit de la récompense, le FEO pourrait se situer dans l'une des régions du système limbique.

Mistlberger et Mumby (1992) ont lancé les premières études sur les effets de lésions électrolytiques de l'Acc, l'hippocampe, l'amygdale et du noyau antérieur du thalamus sur l'expression de la FAA chez

des rats. Cependant, aucune de ces lésions n'a altéré la capacité d'anticipation des repas. Ainsi, la conclusion était que le FEO ne dépend pas du système limbique. Puisque les différences anatomiques et fonctionnelles entre les structures du système limbique pour la modulation de différents comportements motivationnels, y compris la prise alimentaire, avaient été rapportées plusieurs fois, il est difficile de conclure avec cette approche lésionnelle.

L'Acc a été longtemps perçu comme une interface essentielle entre la motivation et l'action (Mogenson et al, 1980). Bien que l'Acc ait été considéré comme une région ventro-striatale similaire au caudéputamen (striatum dorsale), une analyse anatomique plus fine sur la connectivité indique actuellement que l'Acc se compose de deux sous-régions importantes, la région «core» ou dorso-latérale (tissu entourant la commissure antérieure) et la région «shell» ou ventromédiane (une région se prolongeant ventrolatéralement autour du noyau). Sur la base de ces profils anatomiques distincts, une spécialisation fonctionnelle de ces deux sous-régions et leurs circuits associés a été proposé. La notion générale était que l'Acc-Core est lié aux fonctions motrices volontaires, tandis que l'Acc-Shell est relié aux mécanismes viscéraux ou à la motivation (Kelley, 1999).

En accord avec ces différences anatomiques nous avons observé, dans un paradigme de restriction alimentaire, que l'expression maximale de la protéine c-FOS dans les deux régions de l'Acc était en phase avec l'expression de la FAA. En revanche, dans l'Acc-Shell l'expression de c-FOS était significativement augmentée pendant et après la prise alimentaire, suggérant que l'Acc-Core a un rôle principal dans l'expression de la FAA et l'Acc-Shell a un rôle plus important dans le comportement de consommation et probablement avec une réponse récompensante pendant l'alimentation (**Fig. 2A**; Mendoza et al, 2005a). De plus, après un période d'entraînement par la nourriture, suivie de 3 jours de jeûne, une persistance de l'expression de c-FOS dans l'Acc-Core a été observée à l'heure subjective d'anticipation.

Finalement, nous avons observé que des lésions spécifiques (excitotoxiques) de l'Acc-Shell ont eu pour conséquence d'augmenter la FAA; les lésions du l'Acc-Core, à l'opposé, ont diminué de manière significative la FAA (**Fig. 2B**; Mendoza et al, 2005a). La réduction de l'amplitude et de l'intensité de la FAA observée chez des rats avec la lésion de l'Acc-Core suggère que cette région puisse être impliquée dans l'expression du FEO. Donc, l'ensemble de ces études apporte une information sur le rôle différentiel des deux régions de l'Acc en tant que deux composants d'un système distribué formant un réseau circadien (dans le cerveau) qu'on appelle le FEO (Mendoza et al, 2005a).

(Suite page 88)

(Suite de la page 87)

Entraînement du FEO par un repas palatable journalier

A présent, il semble évident qu'une activation de la voie hédonique de la prise alimentaire a un rôle important dans l'expression circadienne de la FAA. Mais, si nous manipulons cette modulation hédonique en changeant les propriétés récompensantes de la nourriture en dehors d'un changement de l'état métabolique (par de longues périodes de jeûne comme dans la restriction alimentaire), un repas palatable, sans privation de nourriture, peut-il induire la FAA? La réponse est oui : chez les rats l'entraînement avec une nourriture appétissante peut induire la FAA, et d'une manière significative cette FAA persiste en l'absence de ce repas pendant au moins quatre cycles, indiquant qu'un mécanisme circadien (sans doute le FEO) est impliqué (Fig. 2C; Mendoza et al, 2005b).

En plus de ces résultats comportementaux, les régions du système limbique ont montré une augmentation de la protéine c-FOS en phase avec la FAA (Fig. 2D; Mendoza et al, 2005b). Cette étude suggère donc que la présence d'une longue période de

jeûne suivie d'une période courte d'accès à la nourriture n'est pas nécessaire pour entraîner le FEO, et que les propriétés récompensantes de la nourriture sont suffisantes pour l'entraînement.

Des études antérieures (chez le hamster) ont montré également qu'un repas appétissant est suffisant pour entraîner le FEO chez des animaux avec ou sans privation de nourriture standard (Abe et Rusak 1992; Mistlberger et Rusak 1987). Du fait qu'un repas palatable est très calorique, il est possible que le contenu calorique du repas journalier joue un rôle important dans l'expression de la FAA. Puisque l'intensité de la FAA chez des animaux entraînés avec un repas agréable est inférieure à celle observée chez des animaux synchronisés à une restriction alimentaire temporelle, il a été suggéré que, tandis que la synchronisation alimentaire avec une restriction de nourriture implique une motivation modulée par toutes les fluctuations métaboliques dues aux alternances de jeûne-alimentation, l'entraînement avec un repas palatable exclut cette alternance métabolique et implique essentiellement la voie motivationnelle de la prise alimentaire.

(Suite page 89)

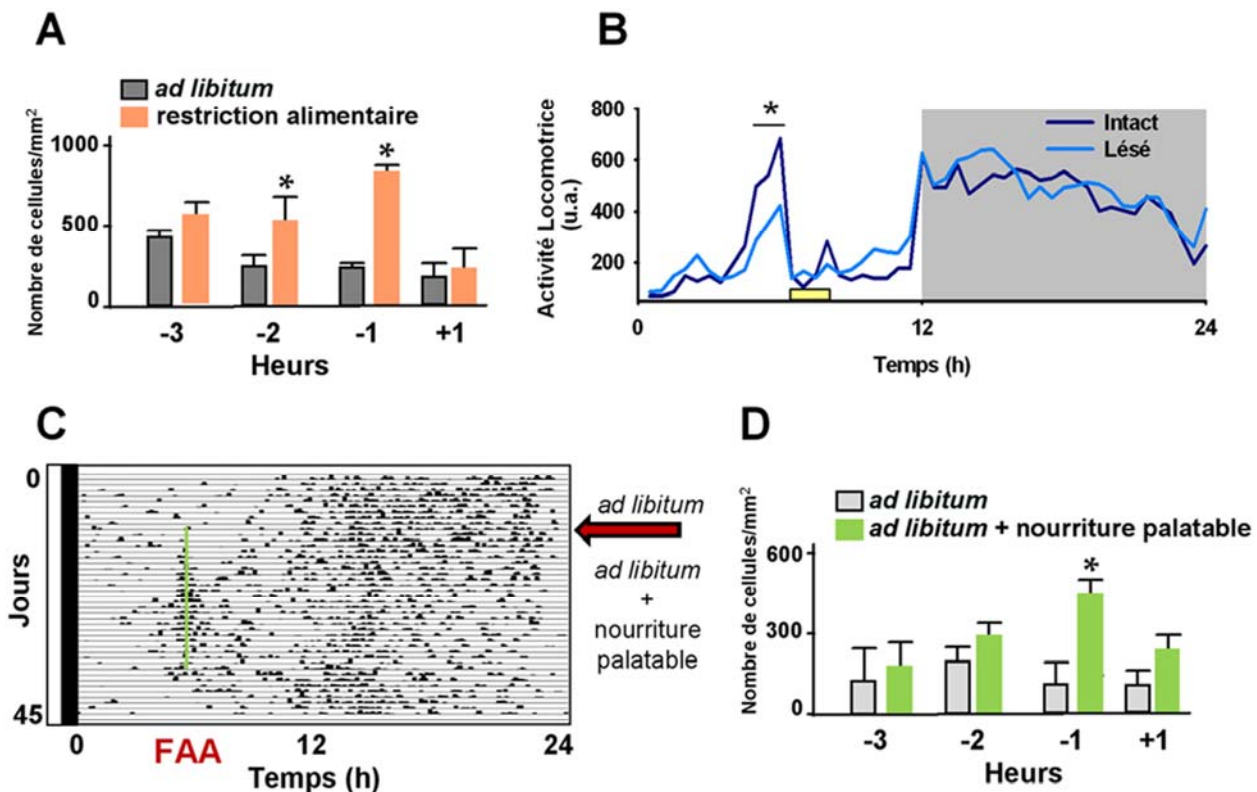


Figure 2: (A) Nombre de cellules immunoréactives pour la protéine c-FOS dans le noyau accumbens des animaux en conditions de nourrissage ad libitum et en restriction alimentaire. L'activité de c-FOS est montrée 3, 2 et 1 heure avant le nourrissage et 1 heure après l'accès au repas. (B) Profil journalier de l'activité locomotrice des animaux en restriction alimentaire (rectangle jaune) avec et sans lésion du noyau accumbens. Les animaux lésés ont une FAA significativement réduite. (C) Actogramme représentant l'activité locomotrice et la FAA d'un rat synchronisé à un repas palatable journalier (ligne verte). (D) L'expression de la protéine c-FOS dans le noyau accumbens montre une augmentation significative chez des animaux synchronisés au repas palatable (sans privation de nourriture) une heure avant l'accès à la nourriture.

(Suite de la page 88)

Ainsi la différence dans l'intensité de la FAA dans les deux paradigmes d'entraînement peut refléter les différents systèmes impliqués dans l'expression du FEO (Challet et Mendoza, 2010). D'ailleurs, tandis que l'expression de c-FOS dans l'hypothalamus est augmentée chez les animaux entraînés avec une restriction alimentaire, aucune expression significative de c-FOS ni de la protéine horloge PER2 dans l'hypothalamus n'a été observée chez des animaux synchronisés par un repas palatable (Mendoza et al, 2005b; Verwey et al, 2007).

Cependant chez les animaux anticipant un repas appétissant, plusieurs régions du système limbique (Acc, amygdale, cortex préfrontal) ont montré une expression maximale de c-FOS pendant l'expression de la FAA. Cette activation cellulaire peut être associée à un état d'éveil important et de comportement orienté vers la recherche de la nourriture que l'on observe chez les animaux avant l'arrivée du repas; elle peut également être due à l'attente de la récompense apportée par la consommation de nourriture.

Pour récapituler, nous ne savons pas encore où est localisé le FEO. Pourtant, maintenant nous connaissons au moins certaines de ses propriétés physiologiques, moléculaires et anatomiques. Par exemple, nous savons que les mutations de certains gènes d'horloge responsables du « timekeeping » des SCN, comme *Per2*, altèrent l'expression de la FAA (Feillet et al, 2006; Mendoza et al, 2010b); nous savons que des signaux métaboliques et physiologiques liés à la prise alimentaire sont importants pour induire la FAA (Escobar et al, 2009; LeSauter et al, 2009); nous savons que les propriétés motivationnelles et récompensantes de la nourriture sont suffisantes pour induire la FAA; au niveau anatomique, nous sommes amenés à penser que le FEO se compose non pas d'une structure mais de plusieurs dans le cerveau, modulant les deux voies de la prise alimentaire (homéostatique et hédonique), et couplées dans un réseau circadien contrôlant l'expression de la FAA; le FEO serait alors un système multi-oscillateur.

Un repas palatable journalier entraîne l'horloge des SCN

Depuis les premières études de l'entraînement du système circadien à la nourriture, il a été établi que si la nourriture est un synchroniseur puissant pour tous les oscillateurs circadiens, y compris le FEO encore non identifié, elle ne l'est pas pour les SCN (Damiola et al, 2000). Cependant, dans des études précédentes on a observé quelques cas de synchronisation des SCN par la nourriture chez les souris (Marchant et Mistlberger, 1997; Castillo et al, 2004), les marsupiaux (Kennedy et al, 1991, 1995) et les rats (Stephan, 1986). D'ailleurs, quand la nourriture est couplée à une restriction calorique l'effet synchroniseur sur les SCN est encore plus puissant

(Challet et al, 1996; Mendoza et al 2005d). Il faut noter dans toutes ces études que l'entraînement total est possible seulement en condition d'obscurité (Challet et al, 1996; Marchant et Mistlberger, 1997; Castillo et al, 2004), ou de lumière constantes (Mistlberger, 1993; Lamont et al, 2005), confirmant la hiérarchie de *zeitgebers* pour le SCN : le cycle lumière/obscurité reste encore son synchroniseur plus fort.

Cependant, si le FEO peut être entraîné par un repas palatable journalier, alors l'horloge circadienne principale dans les SCN est elle sensible aussi à ce type de repas? Abe et Rusak (1992) ont rapporté quelques cas chez le hamster entraîné par un repas palatable sans privation de nourriture, chez les animaux évidemment placés dans des conditions d'obscurité constante. Et nous avons rapporté que, chez les rats et chez la souris, l'accès au repas journalier palatable (chocolat) entraîne non seulement des rythmes comportementaux commandés par les SCN, mais aussi l'activité neuronale (c-FOS et gènes horloge; Mendoza et al, 2005c et 2010c; **Fig. 3A et 3B**).

Mais la question qui se pose maintenant est : comment l'information de plaisir, liée à la nourriture, arrive aux SCN pour les affecter? Les SCN reçoivent des afférences de différentes structures cérébrales, certaines d'entre elles ne sont pas totalement caractérisées à l'heure actuelle. Deux entrées non-photiques importantes vers SCN sont les afférences sérotonergiques du raphé (Meyer-Bernstein et Morin, 1996) et les afférences du neuropeptide Y de l'IGL du thalamus (Janik et al, 1995; Mrosovsky, 1996).

Le noyau paraventriculaire du thalamus (PVT) est considéré comme une entrée des SCN et il serait une structure qui module l'entraînement photique et non-photique (Moga et al, 1995; Amir et Steward, 1996). Le PVT a des connections réciproques avec plusieurs structures du système limbique, qui jouent un rôle important dans l'éveil et dans la motivation et la récompense (Moga et al, 1995). Chez les rats entraînés avec un repas palatable, les expressions de c-FOS et PER1 dans le PVT augmentent au moment de l'accès à la nourriture (**Fig. 3C**). En outre, le PVT peut constituer la voie neuronale pour transmettre l'information hédonique du repas palatable aux SCN (Mendoza et al, 2005c).

Cependant, nos études récentes chez la souris indiquent que d'autres systèmes neuronaux pourraient être impliqués en tant que médiateurs de l'entraînement des SCN par la nourriture appétissante (Mendoza et al, 2010c).

Chez les mammifères le système orexinergique est constitué par des neurones au niveau de l'hypothalamus dorso-médian, et ils sont impliqués dans plu-

(Suite page 90)

(Suite de la page 89)
 sieurs fonctions comme la physiologie du sommeil, la prise alimentaire et la modulation des réponses comportementales aux stimuli récompensants et addictifs (Date et al, 1999; Harris et al, 2005). Des fibres orexinergiques ont été décrites autour des SCN chez le hamster (McGranaghan et Piggins, 2001) et la souris (Marston et al, 2008). De plus, les orexines A et B changent la fréquence de décharge des neurones des SCN *in vitro* (Klisch et al, 2009). D'ailleurs, les souris mutantes pour l'orexine ont montré une réduction de la FAA (Akiyama et al, 2004). Chez les animaux synchronisés avec un repas palatable, nous avons observé plus de neurones orexinergiques exprimant c-FOS comparés aux animaux témoins (Mendoza et al, 2010c; **Fig. 3D**). Par conséquent, il est possible que ce système orexinergique communique aussi aux SCN une information sur l'état motivationnel de l'animal.

Ainsi, maintenant le mécanisme se révèle beaucoup plus complexe. Pour récapituler; **(1)** nous avons deux horloges (les SCN très bien définis, et le FEO toujours dans un processus d'identification) qui peuvent être affectées (entraînées ou modulées) par la nourriture; **(2)** l'impact hédonique d'un aliment palatable entraîne les deux horloges (les SCN et le FEO), et **(3)** nous avons supposé que parmi les mécanismes neuronaux très complexes responsables de ces effets, le système orexinergique pourrait être une clef pour l'entraînement des deux horloges par la nourriture palatable. Cependant, puisqu'un régime riche en calories mène à des changements physiologiques et métaboliques (glucose, insuline, leptine; Woods et al, 2004), il est possible que ces modifications métaboliques dues à un accès journalier au chocolat puissent être un facteur additionnel pour

favoriser l'entraînement.

À la différence des aspects hédoniques de l'alimentation (qui se concentrent sur la récompense associée à l'ingestion de nourriture), la voie homéostatique de la prise alimentaire est concernée principalement par la régulation de la balance énergétique. Ce mécanisme implique des hormones circulantes qui retransmettent des informations sur les aspects énergétiques périphériques au cerveau. En fait, les deux hormones périphériques les plus importantes sont la leptine et la ghréline, les deux pouvant agir au niveau de l'horloge des SCN (Prosser et Bergeron, 2003; Yanielli et al, 2007; Yi et al, 2008; Inyushkin et al, 2009).

La leptine est synthétisée par le tissu adipeux blanc (ses niveaux augmentent proportionnellement à la masse adipeuse), supprime la prise alimentaire et stimule les processus métaboliques d'absorption des sources d'énergie en excès (Williams et al, 2009). En revanche, la ghréline est un peptide synthétisé par l'estomac et dont les niveaux augmen-

(Suite page 91)

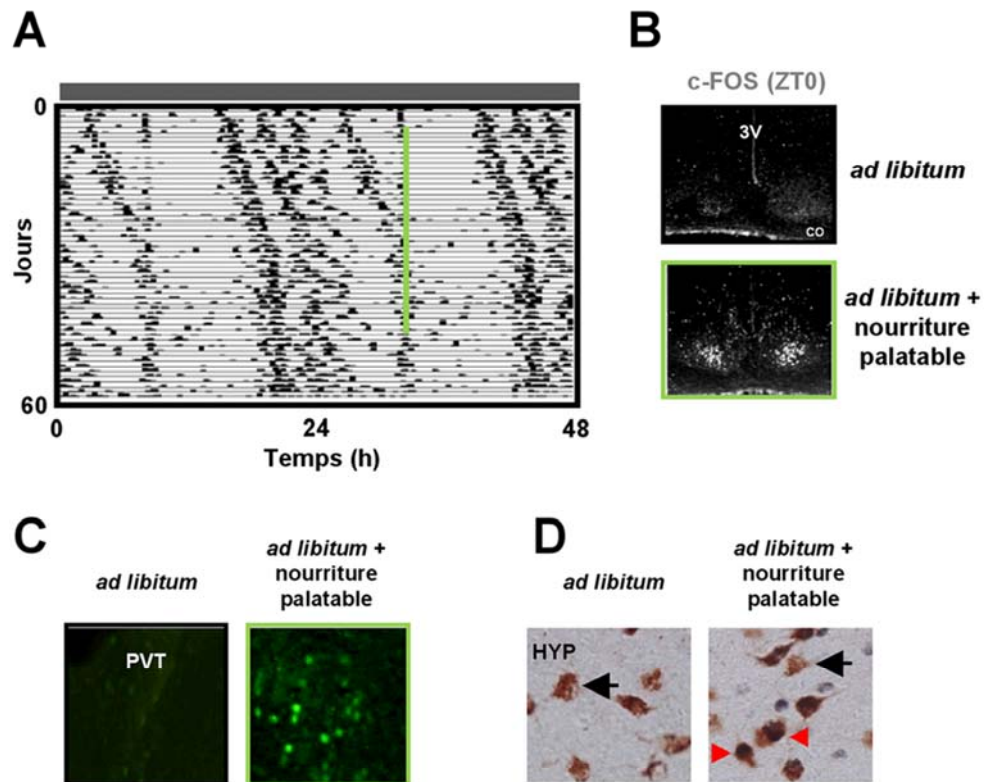


Figure 3: (A) Actogramme en double représentation d'un rat placé en obscurité constante et avec libre accès à la nourriture. Il présente une activité locomotrice en libre cours avec une période supérieure à 24h. Quand le rat est soumis à une synchronisation avec un repas palatable (ligne verte) son activité locomotrice se synchronise à l'heure d'accès au repas. (B) Egalement, l'activité de la protéine c-FOS dans les SCN est synchronisée au repas palatable. (C) L'expression de la protéine c-FOS dans le noyau paraventriculaire du thalamus (PVT) et aussi dans les neurones orexinergiques de l'hypothalamus latéral (D) montre une augmentation significative chez des animaux synchronisés au repas palatable (sans privation de nourriture).

(Suite de la page 90)

tent en réponse à une balance énergétique négative stimulant ainsi la prise alimentaire et le stockage énergétique (Murakami et al, 2002). Les récepteurs à la leptine et à la ghréline dans le système nerveux central sont exprimés dans l'hypothalamus et principalement dans le noyau arqué, structure d'importance particulière étant donné son rôle bien connu dans la prise alimentaire et le métabolisme énergétique (Zigman et al, 2006; Scott et al, 2009).

Récemment, des récepteurs à leptine et ghréline ont été identifiés dans des structures du système limbique afin d'exercer des effets sur la motivation pour obtenir la nourriture par la modulation de la signalisation mésolimbique dopaminergique (Narayanan et al, 2010). Ainsi, la leptine peut diminuer la libération de dopamine dans le striatum chez les rats, aussi bien que les décharges électriques des neurones dopaminergiques dans la VTA (Hommel et al, 2006). En revanche, plus récemment, on a montré que la ghréline peut aussi moduler l'activité dopaminergique du système mésolimbique. Contrairement à la leptine, l'administration de ghréline stimule la libération de dopamine dans le striatum par une activation de ses récepteurs dans les neurones de la VTA (Zigman et al, 2006; Abizaid, 2009).

Par conséquent, il est possible que tous ces changements hormonaux (leptine et ghréline) soient des signaux appropriés pour l'entraînement par la nourriture (palatable ou non) de l'horloge des SCN ou même du FEO. Par exemple, nous savons que chez les souris mutantes pour le récepteur à la ghréline la FAA est réduite, indiquant que ce signal périphérique est nécessaire pour l'expression comportementale du FEO (Blum et al, 2009; LeSauter et al, 2009). En revanche, chez les rats obèses Zucker (par une mutation ponctuelle dans le gène codant pour la leptine), la FAA est augmentée par rapport aux rats maigres (Mistlberger et Marchant, 1999). Ainsi la leptine et la ghréline ont des rôles, opposés, dans l'expression du FEO. Cependant, on ne sait pas si ces hormones sont également nécessaires pour l'entraînement du FEO par un repas palatable sans privation de nourriture, ou pour la synchronisation de l'horloge des SCN par la nourriture avec ou sans un contenu récompensant. Des expériences complémentaires sont à réaliser pour comprendre le rôle des signaux périphériques dans la synchronisation du système circadien par la nourriture (récompensante) ou d'autres stimuli motivationnels.

Un «doux» et «palatable» rythme de prise de sucrose chez les souris : dépend-elle des SCN ou d'un oscillateur limbique?

Nous savons que les oscillations circadiennes des gènes horloge dans le cerveau sont présentes non seulement dans les SCN mais aussi dans plusieurs structures centrales; mais, pour quelle raison ?

Il est possible que, les oscillateurs circadiens dans le cerveau qui sont couplés et synchronisés par l'horloge des SCN soient responsables de la transmission d'une information, relative à l'état comportemental et physiologique de l'organisme, lié aux propriétés métaboliques et hédoniques de la nourriture aux SCN (Amir et Stewart 2009). Par exemple, les rythmes circadiens de l'expression de gènes horloge dans le noyau arqué (ARC) et les noyaux dorsomédians hypothalamiques (DMH) sont sensibles à la synchronisation par une restriction alimentaire (Verwey et al, 2007; Feillet et al, 2008; Guilding et al, 2009). Ainsi, il se peut que ces oscillateurs circadiens putatifs puissent transmettre l'information métabolique et homéostatique induite par la prise alimentaire pour synchroniser les SCN. Les aspects récompensants et de plaisir générés par une synchronisation des SCN au repas palatable, peuvent dépendre de l'information temporelle et circadienne que des oscillateurs au niveau du circuit de la récompense (cortex préfrontal, noyau accumbens, amygdale) transmettent à l'horloge des SCN (Wakamatsu et al, 2001; Amir et Stewart 2009; Mendoza et al, 2010c).

Par contre les fonctions des oscillateurs circadiens cérébraux ne concernent pas uniquement la modulation de la synchronisation non-photique de l'horloge SCN. Il a été proposé que ces oscillateurs sont aussi impliquées dans la modulation et l'expression de plusieurs comportements spécifiques comme l'apprentissage, la mémoire, l'olfaction et la motivation (Abe et al, 2002; Herzog, 2007; Mendoza et Challet, 2009).

Différents comportements motivés peuvent être observés chez les mammifères. De façon intéressante, ces comportements peuvent être dirigés soit pour l'obtention d'un stimulus récompensant, soit pour éviter un stimulus aversif (Mistlberger et Skene, 2004). Donc, parmi ces types de comportements, très fondamentaux et positifs (recherche d'un stimulus récompensant), on trouve la prise alimentaire, la prise de boisson, l'interaction sociale, le comportement sexuel (Weeb et al, 2009). Sur le plan négatif (évitement d'un stimulus aversif) dans la nature, des comportements de fuite pour échapper à une situation dangereuse (présence de prédateurs; Blackburn et al, 1989).

Dans la nature, et peut-être aussi dans la vie sociale de l'espèce humaine, des stimuli positifs et négatifs sont accessibles d'une façon temporelle ou plutôt circadienne pendant la journée. Ainsi, il est possible que des oscillateurs centraux soient impliqués dans la fonctionnalité rythmique de tous ces types de comportements pour optimiser la recherche ou l'évitement de différents stimuli.

Récemment nous avons observé chez les souris un comportement rythmique de consommation d'une

(Suite page 92)

(Suite de la page 91)

solution de sucrose quand elles sont exposées à un protocole de libre choix avec deux biberons. Les souris préfèrent et consomment la solution sucrée pendant la nuit (la période d'activité; Fig. 4). Des structures limbiques comme le cortex préfrontal, montrent un changement dans l'expression rythmique des gènes horloge qui suivent le rythme de la consommation de sucrose, suggérant que peut être ces structures (ou une autre du circuit de la récompense) peuvent contrôler ces rythmes motivationnels indépendamment de l'horloge des SCN. Toutefois, des lésions des SCN sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

Actuellement nous cherchons à savoir si les oscillations circadiennes de gènes horloges dans des structures centrales impliquent la présence d'«horloges auto-entretenues», à l'instar des SCN.

Pour le contrôle circadien des comportements motivés, nous sommes encore dans la compréhension de l'importance de ces oscillateurs, car on ne peut pas dire qu'il y a un oscillateur qui contrôle un rythme circadien de la prise de sucrose, mais plutôt des oscillateurs qui contrôlent un grand nombre de comportements motivés (des comportements très fondamentaux dans la nature pour la survie des organismes). En outre, pour ces propriétés neuronales et physiologiques liées à la récompense et aux réponses hédoniques, elles peuvent aussi contrôler des rythmes comme la prise de sucrose; un rythme motivationnel, pas forcément fondamental pour la survie.

Le rapport fonctionnel entre le système circadien, les circuits de la récompense et la motivation montré ici, peut aider à comprendre comment le cerveau et les différents oscillateurs circadiens sont affectés par des stimuli naturels à propriété récompensante (nourriture) et non-naturels (drogues) et communiquent toutes ces informations à l'horloge des SCN. De plus l'hypothèse que ces oscillateurs sont impliqués dans le contrôle circadien de différents comportements motivés pourrait également nous aider à comprendre les mécanismes circadiens et non-circadiens de certaines pathologies de l'humeur telles que la dépression, des troubles de la prise alimentaire (prise de nourriture compulsive), ainsi que la dépendance aux drogues.

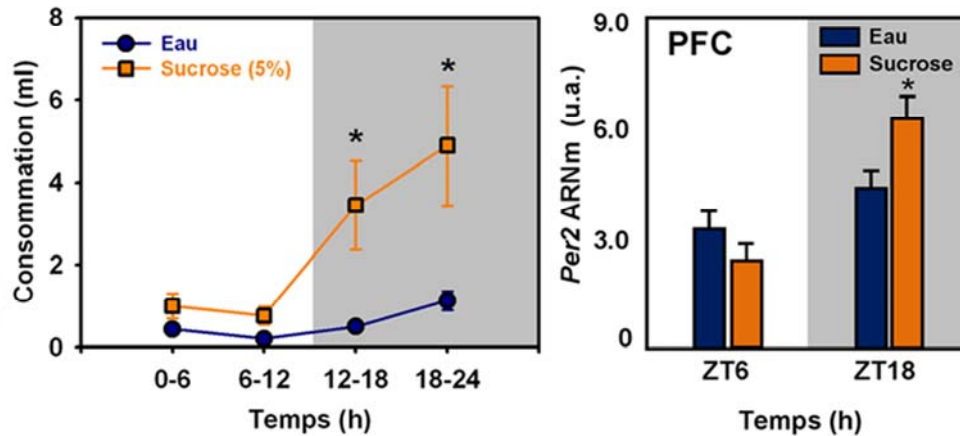


Figure 4: Un rythme de la consommation de sucrose chez la souris. Les animaux montrent une consommation plus importante pendant la nuit (partie grisée). De plus la différence journalière de l'expression du gène horloge *Per2* dans le cortex préfrontal est augmentée chez ces animaux.

References

- Abe H and Rusak B (1992) Anticipatory activity and entrainment of circadian rhythms in Syrian hamsters exposed to restricted palatable diets. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 263: R116-R124.
- Abe M, Herzog ED, Yamazaki S, Straume M, Tei H, Sakaki Y, Menaker M and Block GD (2002) Circadian rhythms in isolated brain regions. *J Neurosci* 22: 350-356.
- Abizaid A (2009) Ghrelin and dopamine: new insights on the peripheral regulation of appetite. *J Neuroendocrinol* 21: 787-793.
- Akiyama M, Yuasa T, Hayasaka N, Horikawa K, Sakurai T and Shibata S (2004) Reduced food anticipatory activity in genetically orexin (hypocretin) neuron-ablated mice. *Eur J Neurosci* 20: 3054-3062.
- Amir S and Stewart J (1996) Resetting of the circadian clock by a conditioned stimulus. *Nature* 379: 542-545.
- Amir S and Stewart J (2009) Motivational modulation of rhythms of the expression of the clock protein PER2 in the limbic forebrain. *Biol Psychiatry* 65: 829-834.
- Baldo BA and Kelley AE (2007) Discrete neurochemical coding of distinguishable motivational processes: insights from nucleus accumbens control of feeding. *Psychopharmacology (Berl)* 191: 439-459.
- Bassareo V and Di Chiara G (1999) Modulation of feeding-induced activation of mesolimbic dopamine transmission by appetitive stimuli and its relation to motivational state. *Eur J Neurosci* 11: 4389-4397.
- Berridge KC (1996) Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neurosci Biobehav Rev* 20: 1-25.
- Blackburn JR, Phillips AG, Jakubovic A and Fibiger HC (1989) Dopamine and preparatory behavior: II. A neurochemical analysis. *Behav Neurosci* 103: 15-23.
- Blum ID, Patterson Z, Khazall R, Lamont EW, Sleeman MW, Horvath TL and Abizaid A (2009) Reduced anticipatory locomotor responses to scheduled meals in ghrelin receptor deficient mice. *Neuroscience* 164: 351-359.
- Castillo MR, Hochstetler KJ, Tavernier RJ Jr, Greene DM and Bult-Itto A (2004) Entrainment of the master circadian clock by scheduled feeding. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R551-R555.

(Suite page 93)

(Suite de la page 92)

- Challet E, Malan A and Pévet P (1996) Daily hypocaloric feeding entrains circadian rhythms of wheel-running and body temperature in rats kept in constant darkness. *Neurosci Lett* 211: 1-4.
- Challet E and Mendoza J (2010) Metabolic and reward feeding synchronizes the rhythmic brain. *Cell Tissue Res* 341: 1-11.
- Chou TC, Scammell TE, Gooley JJ, Gaus SE, Saper CB and Lu J (2003) Critical role of dorsomedial hypothalamic nucleus in a wide range of behavioral circadian rhythms. *J Neurosci* 23: 10691-10702.
- Damiola F, Le Minh N, Preitner N, Kornmann B, Fleury-Olela F and Schibler U (2000) Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Dev* 14: 2950-2961.
- Date Y, Ueta Y, Yamashita H, Yamaguchi H, Matsukura S, Kangawa K, Sakurai T, Yanagisawa M and Nakazato M (1999) Orexins, orexigenic hypothalamic peptides, interact with autonomic, neuroendocrine and neuroregulatory systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 748-753.
- Davidson AJ (2009) Lesion studies targeting food-anticipatory activity. *Eur J Neurosci* 30: 1658-1664.
- Di Chiara G (2005) Dopamine in disturbances of food and drug motivated behavior: a case of homology? *Physiol Behav* 86: 9-10.
- Escobar C, Cailotto C, Angeles-Castellanos M, Salgado-Delgado R and Buijs RM (2009) Peripheral oscillators – The driving force for food anticipatory activity. *Eur J Neurosci* 30: 1665-1675.
- Feillet CA, Mendoza J, Albrecht U, Pévet P and Challet E (2008) Forebrain oscillators ticking with different clock hands. *Mol Cell Neurosci* 37: 209-221.
- Feillet CA, Ripperger JA, Magnone MC, Dulloo A, Albrecht U and Challet E (2006) Lack of food anticipation in *Per2* mutant mice. *Curr Biol* 16: 2016-2022.
- Fuller PM, Lu J and Saper CB (2008) Differential rescue of light- and food-entrainable circadian rhythms. *Science* 320: 1074-1077.
- Gooley JJ, Schomer A and Saper CB (2006) The dorsomedial hypothalamic nucleus is critical for the expression of food-entrainable circadian rhythms. *Nat Neurosci* 9: 398-407.
- Guilding C, Hughes AT, Brown TM, Namvar S and Piggins HD (2009) A riot of rhythms: neuronal and glial circadian oscillators in the mediobasal hypothalamus. *Mol Brain* 2, 28.
- Harris GC, Wimmer M and Aston-Jones G (2005) A role for lateral hypothalamic orexin neurons in reward seeking. *Nature* 437: 556-559.
- Herzog ED (2007) Neurons and networks in daily rhythms. *Nat Rev Neurosci* 8: 790-802.
- Hommel JD, Trinko R, Sears RM, Georgescu D, Liu ZW, Gao XB, Thurmon JJ, Marinelli M and DiLeone RJ (2006) Leptin receptor signaling in midbrain dopamine neurons regulates feeding. *Neuron* 51: 801-810.
- Inyushkin AN, Bhumbra GS and Dyball RE (2009) Leptin modulates spike coding in the rat suprachiasmatic nucleus. *J Neuroendocrinol* 21: 705-714.
- Janik D, Mikkelsen JD and Mrosovsky N (1995) Cellular colocalization of Fos and neuropeptide Y in the intergeniculate leaflet after non photic phase-shifting events. *Brain Res* 698: 137-145.
- Kelley AE (1999) Functional specificity of ventral striatal compartments in appetitive behaviors. *Ann N Y Acad Sci* 877: 71-90.
- Kennedy GA, Coleman GJ and Armstrong SM (1991) Restricted feeding entrains circadian wheel-running activity rhythms of the kowari. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 261: R819-R827.
- Kennedy GA, Coleman GJ and Armstrong SM (1995) Entrainment of circadian wheel-running rhythms of the northern brown bandicoot, *Isodon macrourus*, by daily restricted feeding schedules. *Chronobiol Int* 12: 176-187.
- Klisch C, Inyushkin A, Mordel J, Karnas D, Pévet P and Meissl H (2009) Orexin A modulates neuronal activity of the rodent suprachiasmatic nucleus in vitro. *Eur J Neurosci* 30: 65-75.
- Lamont EW, Renteria Diaz L, Barry-Shaw J, Stewart J and Amir S (2005) Daily restricted feeding rescues a rhythm of period2 expression in the arrhythmic suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience* 132: 245-248.
- Landry GJ, Yamakawa GR, Webb IC, Mear RJ and Mistlberger RE (2007) The dorsomedial hypothalamic nucleus is not necessary for the expression of circadian food-anticipatory activity in rats. *J Biol Rhythms* 22: 467-478.
- LeSauter J, Hoque N, Weintraub M, Pfaff DW and Silver R (2009) Stomach ghrelin-secreting cells as food-entrainable circadian clocks. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 13582-13587.
- Marchant EG and Mistlberger RE (1997) Anticipation and entrainment to feeding time in intact and SCN-ablated C57BL/6j mice. *Brain Res* 765: 273-282.
- Marston OJ, Williams RH, Canal MM, Samuels RE, Upton N and Piggins HD (2008) Circadian and dark-pulse activation of orexin/hypocretin neurons. *Mol Brain* 1: 19.
- McGranaghan PA and Piggins HD (2001) Orexin A-like immunoreactivity in the hypothalamus and thalamus of the Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) and Siberian hamster (*Phodopus sungorus*), with special reference to circadian structures. *Brain Res* 904: 234-244.
- Meijer JH and Schwartz WJ (2003) In search of the pathways for light-induced pacemaker resetting in the suprachiasmatic nucleus. *J Biol Rhythms* 18: 235-249.
- Mendoza J (2007) Circadian clocks: setting time by food. *J Neuroendocrinol* 19: 127-137.
- Mendoza J, Albrecht U and Challet E (2010b) Behavioural food anticipation in clock genes deficient mice: confirming old phenotypes, describing new phenotypes. *Genes Brain Behav* 9: 467-477.
- Mendoza J, Angeles-Castellanos M and Escobar C (2005a) Differential role of the accumbens shell and core subterritories in food-entrained rhythms of rats. *Behav Brain Res* 158: 133-142.
- Mendoza J, Angeles-Castellanos M and Escobar C (2005b) Entrainment by a palatable meal induces food-anticipatory activity and c-Fos expression in reward-related areas of the brain. *Neuroscience* 133: 293-303.
- Mendoza J, Angeles-Castellanos M and Escobar C (2005c) A daily palatable meal without food deprivation entrains the suprachiasmatic nucleus of rats. *Eur J Neurosci* 22: 2855-2862.
- Mendoza J and Challet E (2009). Brain clocks: from the suprachiasmatic nuclei to a cerebral network. *Neuroscientist* 15: 477-488.
- Mendoza J, Clesse D, Pévet P and Challet E (2010c) Food-reward signalling in the suprachiasmatic clock. *J Neurosci* 112: 1489-1499.
- Mendoza J, Graff C, Dardente H, Pévet P and Challet E (2005d) Feeding cues alter clock gene oscillations and photic responses in the suprachiasmatic nuclei of mice exposed to a light/dark cycle. *J Neurosci* 25: 1514-1522.

(Suite page 94)

(Suite de la page 93)

- Mendoza J, Pévet P, Felder-Schmittbuhl MP, Bailly Y, and Challet E (2010a) The cerebellum harbors a circadian oscillator involved in food anticipation. *J Neurosci* 30: 1864-1904.
- Meyer-Bernstein EL and Morin LP (1996) Differential serotonergic innervation of the suprachiasmatic nucleus and the intergeniculate leaflet and its role in circadian rhythm modulation. *J Neurosci* 16: 2097-2111.
- Mieda M, Williams SC, Richardson JA, Tanaka K and Yanagisawa M (2006) The dorsomedial hypothalamic nucleus as a putative food-entrainable circadian pacemaker. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 12150-12155.
- Mistlberger RE (1993) Effects of scheduled food and water access on circadian rhythms of hamsters in constant light, dark, and light:dark. *Physiol Behav* 53: 509-516.
- Mistlberger RE (1994) Circadian food-anticipatory activity: formal models and physiological mechanisms. *Neurosci Biobehav Rev* 18: 171-195.
- Mistlberger RE (2009) Food-anticipatory circadian rhythms: concepts and methods. *Eur J Neurosci* 30: 1718-1729.
- Mistlberger RE and Marchant EG (1999) Enhanced food-anticipatory circadian rhythms in the genetically obese Zucker rat. *Physiol Behav* 66: 329-335.
- Mistlberger RE and Mumby DG (1992) The limbic system and food-anticipatory circadian rhythms in the rat: ablation and dopamine blocking studies. *Behav Brain Res* 47: 159-168.
- Mistlberger RE and Rusak B (1987) Palatable daily meals entrain anticipatory activity rhythms in free feeding rats: dependence on meal size and nutrient content. *Physiol Behav* 41: 219-226.
- Mistlberger RE and Skene DJ (2004) Social influences on mammalian circadian rhythms: animal and human studies. *Biol Rev Cam Philos Soc*, 79: 533-556.
- Moga MM, Weis RP and Moore RY (1995) Efferent projections of the paraventricular thalamic nucleus in the rat. *J Comp Neurol* 359: 221-238.
- Mogenson GJ, Jones DL and Yim CY (1980) From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol* 14: 69-97.
- Moriya T, Aida R, Kudo T, Akiyama M, Doi M, Hayasaka N, Nakahata N, Mistlberger R, Okamura H and Shibata S (2009) The dorsomedial hypothalamic nucleus is not necessary for food-anticipatory circadian rhythms of behavior, temperature or clock gene expression in mice. *Eur J Neurosci* 29: 1447-1460.
- Mrosovsky N (1996) Locomotor activity and non-photic influences on circadian clocks. *Biol Rev* 71: 343-372.
- Murakami N, Hayashida T, Kuroiwa T, Nakahara K, Ida T, Mondal MS, Nakazato M, Kojima M, Kangawa K (2002) Role for central ghrelin in food intake and secretion profile of stomach ghrelin in rats. *J Endocrinol* 174: 283-288.
- Narayanan NS, Guarnieri DJ, DiLeone RJ (2010) Metabolic hormones, dopamine circuits, and feeding. *Front Neuroendocrinol* 31: 104-112.
- Perreau-Lenz S, Pévet P, Buijs RM and Kalsbeek A (2004) The biological clock: the bodyguard of temporal homeostasis. *Chronobiol Int* 21: 1-25.
- Prosser RA and Bergeron HE (2003) Leptin phase advances the rat suprachiasmatic circadian clock in vitro. *Neurosci Lett* 336: 139-142.
- Saper CB, Chou TC and Elmquist JK (2002) The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron* 36: 199-211.
- Scott MM, Lachey JL, Sternson SM, Lee CE, Elias CF, Friedman JM, Elmquist JK (2009) Leptin targets in the mouse brain. *J Comp Neurol* 514: 518-532.
- Silver R and Schwartz WJ (2005) The suprachiasmatic nucleus is a functionally heterogeneous timekeeping organ. *Methods Enzymol* 393: 451-465.
- Stephan FK (1986) Coupling between feeding- and light-entrainable circadian pacemakers in the rat. *Physiol Behav* 38: 537-544.
- Stephan FK (2002) The "other" circadian system: food as a Zeitgeber. *J Biol Rhythms* 17: 284-292.
- Stephan FK, Swann JM and Sisk CL (1979) Anticipation of 24-hr feeding schedules in rats with lesions of the suprachiasmatic nucleus. *Behav Neural Biol* 25: 346-363.
- Verwey M and Amir S (2009) Food-entrainable circadian oscillators in the brain. *Eur J Neurosci* 30: 1650-1657.
- Verwey M, Khoja Z, Stewart J and Amir S (2007) Differential regulation of the expression of Period2 protein in the limbic forebrain and dorsomedial hypothalamus by daily limited access to highly palatable food in food-deprived and free-fed rats. *Neuroscience* 147: 277-285.
- Wakamatsu H, Yoishinobu Y, Aida R, Moriya T, Akiyama M and Shibata S (2001) Restricted-feeding-induced anticipatory activity rhythm is associated with a phase-shift of the expression in mPer1 and mPer2 mRNA in the cerebral cortex and hippocampus but not in the suprachiasmatic nucleus of mice. *Eur J Neurosci* 13: 1190-1196.
- Webb IC, Baltazar RM, Lehman MN and Coolen LM (2009) Bidirectional interactions between the circadian and reward systems: is restricted food access a unique zeitgeber? *Eur J Neurosci* 30: 1739-1748.
- Williams KW, Scott MM and Elmquist JK (2009) From observation to experimentation: leptin action in the mediobasal hypothalamus. *Am J Clin Nutr* 89: 985S-990S.
- Woods SC, D'Alessio DA, Tso P, Rushing PA, Clegg DJ, Benoit SC, Gotoh K, Liu M and Seeley RJ (2004) Consumption of a high-fat diet alters the homeostatic regulation of energy balance. *Physiol Behav* 83: 573-578.
- Yannielli PC, Molyneux PC, Harrington ME and Golombek DA (2007) Ghrelin effects on the circadian system of mice. *J Neurosci* 27: 2890-2895.
- Yi CX, Challet E, Pévet P, Kalsbeek A, Escobar C and Buijs RM (2008) A circulating ghrelin mimetic attenuates light-induced phase delay of mice and light-induced Fos expression in the suprachiasmatic nucleus of rats. *Eur J Neurosci* 27: 1965-1972.
- Zigman JM, Jones JE, Lee CE, Saper CB and Elmquist JK (2006) Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. *J Comp Neurol* 494: 528-548.



Résumés du congrès de la Colle sur Loup

SYMPOSIUM 1 : PHOTORÉCEPTION ET SYNCHRONISATION

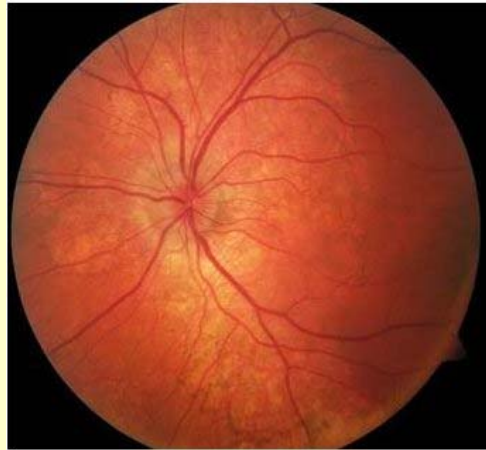
Modérateur : Howard Cooper

Melanopsin contributions to the primary visual projection

Timothy Brown, Annette Allen, Robert Lucas

Faculty of Life Sciences, University of Manchester, Manchester M13 9PT, UK.

Melanopsin containing directly photosensitive retinal ganglion cells (mRGCs) encode the level of ambient illumination (irradiance). Their accepted function is to support photosensitivity in the circadian, pupillomotor, sleep/wake and neuroendocrine systems, and there has been little investigation of their potential importance for the conventional pathways of pattern vision. Here we use *in vivo* electrophysiological recordings to reveal widespread mRGC input to the visual thalamus. This extends beyond components of the sub-cortical visual system (the intergeniculate leaflet and ventral lateral geniculate nucleus (vLGN)), to include around 40% of neurones in the dorsal LGN, location of thalamo-cortical projection neurones. The mRGC input sets the basal firing rate of these cells according to the background level of illumination. As these dLGN neurones also receive input from more conventional ganglion cell classes this allows them to multiplex this code of ambient illumination with information about other aspects of the visual scene such as spatial contrast/movement. This arrangement provides a new potential explanation for aspects of brightness perception. The sensory characteristics of the mRGC input to the LGN also provide a new insight on the unique contribution made by melanopsin to circadian and other sub-cortical light responses.



A fly's eye technology in the human retina

Ludovic S. Mure^{1,2}, Pierre-Loïc Cornut^{1,2,3}, Camille Rieux^{1,2}, Elise Drouyer^{1,2}, Claude Gronfier^{1,2}, Philippe Denis^{1,2,3}, Howard M. Cooper^{1,2}

¹ INSERM, U846, Stem Cell and Brain Research Institute, Department of Chronobiology, F-69500, Bron, France

² University of Lyon, Lyon I, UMR-S 846, 69003, Lyon, France

³ Department of Ophthalmology, CHU de Lyon Hopital Edouard Herriot, Lyon, France

All mammals including humans were previously

thought to only possess outer retina rod and cone photoreceptors that have evolved from an ancestral "ciliary" photoreceptor cell. In addition to rods and cones, a third class of photoreceptive cells expressing the photopigment melanopsin was described 10 years ago by Provencio in the inner retinal mammalian ganglion cells. Melanopsin shows amino acid sequence homology and signal transduction mechanisms similar to the "rhabdomeric" photoreceptors found in invertebrates such as the fly. In line with this hypothesis, melanopsin has recently been shown to display *in vitro* bistable properties in which light drives both the photosensory response and photopigment regeneration, enabling a sustained response to light and resistance to bleaching.

Using a strategy of spectral stimulations originally designed to demonstrate bistability in invertebrate photopigments, we show that previous light exposure can alter subsequent responses to light and that the obtained response functions are typical of invertebrate rather than vertebrate photopigments. These bistable properties, first demonstrated in different physiological and behavioral assays in the mouse, also translate to human melanopsin de-

pendant pupillary responses to light. Modelling these responses to invertebrate photopigment templates suggests that the human retina utilises fly-like mechanisms in the regulation of melanopsin dependent non-visual responses to light and highlights the ubiquitous nature of photoswitchable photosensors across living organisms. Furthermore, this bistable mechanism may confer a novel form of "photic memory" since information of prior light conditions is retained and shapes subsequent responses to light.

Non-visual sensitivity to light in the elderly: Aging of the ocular lens?

Raymond P. Najjar 1, 2, Pierre-Loïc Cornut 1, 3, Bruno Claustat 1, 4, Philippe Denis 1,3 Howard M. Cooper 1, 2, Claude Gronfier 1, 2

(1) Department of Chronobiology, INSERM, U846, Stem Cell and Brain Research Institute, Bron, France,

(2) University of Lyon, Lyon I, UMR S 846, Lyon, France,

(3) Department of Ophthalmology, CHU de Lyon Hopital Edouard Herriot, Lyon, France,

(4) Nuclear Medicine Centre, Hormone Laboratory, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Sleep and circadian rhythm disturbances are preva-

(Suite page 96)

Felix Naef

(Suite de la page 95)

lent in the elderly. A possible cause may be an inappropriate entrainment of the circadian clock due to impaired photic input. In fact, a decreased sensitivity of the circadian system to white light (Duffy et al. 2007) and to a short-wavelength light (456 nm) has been shown in the elderly (Herljevic et al. 2005; Sletten et al. 2009). These data, however, remain insufficient to precisely characterize the origin of this altered non-visual response. The aim of this study is to investigate age-related changes in non-visual sensitivity to light over the entire visible spectrum, and to determine whether these alterations are related to an increase in ocular lens density.

Eight participants (55 to 63 years old) were exposed to 60-min monochromatic light sessions at nine different wavelengths (420–620 nm) of equal photon density (3.16×10^{13} photons/cm²/sec). Plasma melatonin suppression, as an index of circadian sensitivity to light, was compared across light treatments. Photic sensitivity spectra were then established for each subject. Assessment of lens density was done using a validated psychophysical technique that eliminates the effects of inaccurate refractive correction and misalignment, and avoids the effects of pupil size on measurements (Norren and Vos 1974).

Compared to young subjects, our results in the aged show an altered spectral sensitivity of melatonin suppression. Sensitivity to light is similar in the short wavelength region of the spectrum (<500 nm), but higher for 530-560 nm, resulting in a shift of peak sensitivity to 494 nm (484 nm in the young, n=5). Preliminary measurements of lens density (5 young, 2 old) show a relative decrease in transmittance of the ocular crystalline lens in the aged for short wavelengths (<500 nm).

Based on the hypothesis that the opacification of the aging crystalline lens would change circadian sensitivity to light, we predicted to find a shift in peak sensitivity to longer wavelengths (484 to 494 nm). The lack of difference in the short wavelength range and the higher sensitivity in the mid-long wavelength range (530-560 nm) is, however, unexpected. The hypothetical link between increased lens filtering and decreased sensitivity to short wavelength light in the elderly is therefore not supported by our results. Change in sensitivity to light in the aged may involve compensatory mechanisms.

Work supported by GIS-Longevity, IP-FP6-EUCLOCK (018741), Rhone-Alpes Cible.

RN is supported by Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Français.

SYMPOSIUM 2 : MODÉLISATION DES RYTHMES BIOLOGIQUES

Modérateur : Jean-Christophe Leloup

Rhythmic protein-DNA interactomes and precision in circadian transcription regulatory networks

Computational systems biology, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, The Institute of Bioengineering, Swiss Institute of Bioinformatics, Lausanne, Switzerland

Circadian oscillators control our daily rhythms in physiology and behavior. These clocks use transcriptional feedback loops that use several key transcription regulators among which the master clock regulator BMAL1. To start dissecting the hierarchical network of transcription regulators behind circadian physiology in mouse liver, we have undertaken a time series ChIP-seq analysis of BMAL1. These experiments also allow us to refine mechanisms for BMAL1/CLOCK dependent transcription, and reveal the dynamic nature of mammalian circadian protein-DNA interactomes on a genome-wide scale will also present our recent data on the precision of the circadian oscillator that use a novel short lived luciferase reporter. This approach allows us to measure the fine kinetics of transcription from random and circadian promoters in mammalian cells. Analysis in terms of a stochastic model of gene expression gives novel insights into the properties of transcriptional bursting at mammalian promoters.

Oscillations et bistabilité dans le réseau p53-Mdm2

Wassim Abou-Jaoudé¹, Djomagan Adama Ouattara², Marcelle Kaufman³

INRIA Sophia-Antipolis, 2004 route des Lucioles, BP 93, 06902 Sophia-Antipolis, France

Unité de Biomécanique et Bioingénierie, UMR-CNRS 6600, Université Technologique de Compiègne, BP 20529 Cédex, France

Unité de Biologie théorique et computationnelle, CP231, Université Libre de Bruxelles, Bvd du Triomphe, 1050 Bruxelles, Belgium

La p53 est un facteur transcriptionnel clef impliqué dans la réparation de l'ADN, le cycle cellulaire et l'apoptose chez les mammifères. Lorsque les cellules sont au repos, la p53 est inactive. Lorsqu'elles sont soumises à un stress, la p53 est activée et empêche la prolifération de cellules anormales. Son niveau est étroitement régulé par une autre protéine, Mdm2, à travers une boucle de rétroaction négative, empêchant la p53 d'être exprimée à un niveau très élevé qui serait mortel pour la cellule. L'importance de la p53 dans la régulation de la prolifération des cellules malignes a conduit à de très nombreux travaux expérimentaux, principalement au niveau moléculaire. Toutefois, ce n'est que récemment que la cinétique de la réponse de la p53 a été explorée. Ces expériences menées sur des cellules irradiées montrent une réponse oscillante de la p53 et de Mdm2 [1, 2, 3]. Dans le cadre d'un modèle théorique simple, notre travail a eu pour principal objectif de reproduire et d'interpréter les données expérimentales concernant notamment la variabilité de la réponse oscillante du

(Suite page 97)

(Suite de la page 96)

réseau p53-Mdm2 lorsque l'ADN des cellules est endommagé. Pour analyser les propriétés dynamiques de ce réseau, plusieurs méthodes de modélisation complémentaires, se situant à différents niveaux de description, ont été utilisées: l'approche logique, l'approche différentielle et l'approche stochastique. Les résultats de cette analyse montrent que les principales propriétés dynamiques peuvent être résumées par un petit nombre de diagrammes de bifurcation logiques qui dépendent de l'équilibre entre le circuit positif et le circuit négatif composant le réseau. Cette étude théorique permet d'interpréter les oscillations de fréquences faibles et élevées de la p53 observées expérimentalement, en fonction de la dose d'irradiation, en terme de deux régimes oscillants séparés par une zone de bi-cyclicité [4]. Cette zone de bi-cyclicité permet également d'expliquer les changements de fréquence observés en cours de réponse dans une fraction des cellules irradiées. Enfin, l'analyse stochastique permet de reproduire les oscillations de périodicité régulière et d'amplitude très variable de la p53 ainsi que l'augmentation de la fraction des cellules oscillant à des fréquences élevées lorsque la dose d'irradiation augmente [5].

- [1] R. Lev Bar-Or, et al. Proc Natl Acad Sci U S A., 97(21), 11250-5, 2000
- [2] G. Lahav, et al., Nat. Genet., 36(2), 147-50, 2004
- [3] N. Geva-Zatorsky, et al., Mol Syst Biol.2:2006.0033., 2006
- [4] W. Abou-Jaoudé, et al., J.Theor. Biol., 258(4), 561-77, 2009
- [5] D.A. Ouattara, et al., J.Theor.Biol., 264(4):1177-89, 2010

Modélisation de la dynamique du réseau de kinases dépendantes de cyclines contrôlant le cycle cellulaire chez les mammifères

Claude Gérard et Albert Goldbeter

Unité de Chronobiologie théorique, Faculté des Sciences, Université Libre de Bruxelles (ULB), Campus Plaine, C.P. 231, B-1050 Brussels, Belgique

Nous proposons un modèle détaillé pour le réseau de kinases dépendantes de cyclines (Cdks) contrôlant la dynamique du cycle cellulaire chez les mammifères. Le modèle comprend quatre modules cycline/Cdk régulé par phosphorylation/déphosphorylation, association avec des inhibiteurs de Cdk, et régulation de la synthèse/dégradation de protéine. La présence d'un facteur de croissance suscite la transition d'un état stationnaire stable (quiescence) à des oscillations entretenues (prolifération active) du réseau de Cdk. Ces oscillations correspondent à une activation séquentielle et ordonnée du complexe cycline D/Cdk4-6 en G1, de la cycline E/Cdk2 à la transition G1/S, de la cycline A/Cdk2 en S et à la transition S/G2, et de la cycline B/Cdk1 à la transition G2/M. Le modèle rend compte des propriétés suivantes du cycle cellulaire: (1) progression répétitive dans le cycle cellulaire en présence d'une quantité suffisante de facteur de croissance ; (2) contrôle de la progression dans le cycle cellulaire par la balance entre le suppresseur de

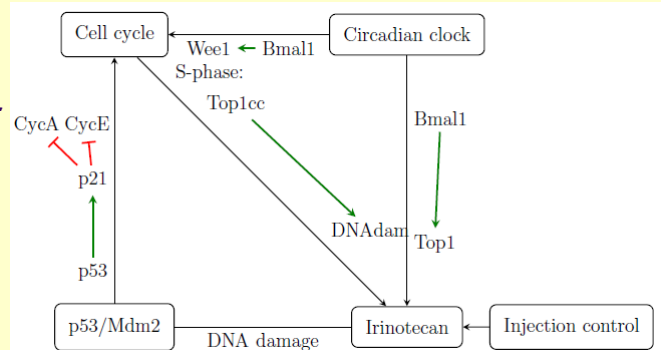
tumeur pRB et le facteur de transcription E2F ; (3) existence d'un point de restriction en G1, au-delà duquel la cellule n'a plus besoin de facteur de croissance pour compléter son cycle de division cellulaire ; (4) entraînement par l'horloge circadienne. L'incorporation du point de contrôle de réplication de l'ADN régulé par les kinases ATR et Chk1 montre que les mécanismes de contrôle « checkpoints » ralentissent la dynamique du cycle cellulaire sans altérer sa nature oscillante. Le modèle pour le cycle cellulaire montre comment la régulation du réseau de cyclines/Cdk conduit à son auto-organisation temporelle assurant l'activation séquentielle des kinases Cdk et la progression ordonnée dans les différentes phases du cycle cellulaire.

A Coupled Model of Cell Cycle, Circadian Clock, DNA Repair System, Irinotecan Metabolism, and Exposure Control

Elisabetta De Maria, François Fages, Aurélien Rizk, and Sylvain Soliman

EPI Contraintes, INRIA Paris-Rocquencourt, France

In systems biology, the number of available models of cellular processes increases rapidly, but re-using models in different contexts or for different questions remains a challenging issue. In this work, we study the coupling of models of the mammalian cell cycle (Tyson and Novak, 2004), the circadian clock (Leloup and Goldbeter, 2003), the p53/Mdm2 DNA-damage repair system (Ciliberto et al., 2005), the metabolism of irinotecan (Dimitrio, 2007) and the control of cell exposure to it.



After encoding the models in the rule-based language of Biocham, we add suitable linking rules (see Figure below) and we use an original method based on temporal logic constraint solving and optimization techniques to find parameter values for the new rules so that some expected properties are verified by the coupled model. Then we look for irinotecan exposure times and maximum amount that maintain toxicity low for healthy cells. Finally, we test the predictive power of the coupled model with respect to a limited set of mutants of the circadian clock genes. In the case of genes knock outs, we succeeded in considering temporal logic constraints over different traces corresponding to the mutations of different genes.

(Suite page 98)

(Suite de la page 97)

Although preliminary, the results obtained are very encouraging for our coupling method. They pointed out that mass-entrained models of the cell-cycle have a limited possibility of entrainment by the circadian molecular clock and that non mass-entrained models of the mammalian cell cycle should be preferred in future studies. They also showed that the p53/Mdm2 DNA-damage repair model of Ciliberto et al. should be improved in order to introduce a threshold above which the DNA is no longer repaired and the cell enters apoptosis. Finally, a (patient-tailored) PK/PD model of irinotecan in the body should be added to link the irinotecan injection law to the cell exposure model and optimize the drug injection law directly.

Un modèle dynamique du contrôle du système sécréteur de GnRH

Alexandre Vidal

Université d'Evry-Val-d'Essonne,
Département de Mathématiques,
Laboratoire Analyse et Probabilités.

L'alternance entre régimes de sécrétion pulsatiles et décharges pré-ovulatoires est la marque du cycle de sécrétion de GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) chez les mammifères femelles. Les connaissances expérimentales montrent que le système neuroendocrinien régulant la libération de GnRH par l'hypothalamus dans le sang porte-hypophysaire implique deux réseaux neuronaux : un réseau d'interneurones qui relaie l'influence des stéroïdes gonadiques (oestradiol et progestérone) sur un réseau de neurones dédiés à la sécrétion de GnRH. Cependant, nombre de mécanismes et leur importance dans le comportement global du système physiologique demeurent méconnus et les expériences pour les analyser sont ardues. L'utilisation d'un modèle dynamique compact, analysable et contrôlable représente un atout d'envergure pour l'investigation de ce système à la base de la fonction de reproduction.

Je présenterai un tel modèle, fondée sur une approche champs moyens, permettant de reproduire les profils de sécrétion physiologiques de GnRH. Je montrerai la capacité du modèle à inclure différents contrôles stéroïdiens utilisés expérimentalement. Je discuterai enfin l'utilisation de ce modèle pour l'étude des mécanismes neuroendocriniens qui sous-tendent la chronologie du cycle ovarien.

SYMPOSIUM 3 : SYSTÈME CIRCADIEN ET MÉTABOLISME

Modérateur : Michèle Teboul

Nuclear receptors linking circadian rhythms and cardiometabolic control

Hélène Duez

U1011INSERM - Institut Pasteur de Lille - Université Lille Nord de France

Many behavioral and physiological processes, includ-

ing metabolic regulation, display diurnal rhythms. The biological clock ensures proper metabolic alignment of energy substrate availability and processing. Studies in animals and humans highlight a strong link between circadian disorders and altered metabolic responses and cardiovascular events. Nuclear receptors have long been known as metabolic regulators. Several of them (ie. Rev-erba, RORa, ..) are subjected to circadian variations and are integral components of the molecular clock machinery. In turn, these nuclear receptors regulate downstream target genes in a circadian manner, acting to properly gate metabolic events to the appropriate circadian time window.

Rôle de l'horloge biologique dans le contrôle des fonctions métaboliques: cas de la Nocturnin.

Jeremy Terrien¹, Carla B. Green

Department of Neuroscience, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX 75390

Le fonctionnement optimal de l'organisme est régi par des interactions fortes entre le système nerveux central et les fonctions périphériques de l'organisme. Parmi ces interactions, le rôle de l'horloge biologique dans le contrôle du métabolisme énergétique a été identifié comme jouant un rôle prépondérant dans le maintien de l'organisme. La récente mise en évidence du rôle de la Nocturnin dans le contrôle du métabolisme lipidique symbolise parfaitement l'importance d'une synchronisation entre les organes périphériques et l'horloge biologique centrale. En tant que deadenylase, la Nocturnin régule l'expression des gènes en contrôlant la longueur des terminaisons poly-A des ARN messagers. La Nocturnin est la seule deadenylase connue ayant un pattern d'expression rythmique, son pic d'expression étant observé en début de nuit, lorsque la prise alimentaire est la plus forte. Il a récemment été mis en évidence que cette protéine serait impliquée dans la régulation du métabolisme lipidique, les souris KO pour le gène concerné étant résistantes à l'obésité et à la stéatose hépatique. Par ailleurs, lors d'une exposition à un régime cétogène, les souris KO perdent plus de poids que les souris WT. De même, quelques minutes après l'administration d'huile d'olive, les enterocytes de souris KO montrent que les lipides ne sont pas acheminés de la lumière de l'intestin vers la circulation sanguine. Nous proposons donc que la Nocturnin jouerait un rôle dans le processus d'acheminement des lipides dans les enterocytes, probablement en régulant l'expression post-transcriptionnelle de gènes rythmiques nécessaires pour la formation ou la sécrétion de lipoprotéines.

Support: NIMH, NIGMS, NIH.

KLF10, un relais entre l'oscillateur circadien et le métabolisme hépatique

Fabienne Guillaumond¹, Aline Gréchez-Cassiau¹, Malayannan Subramaniam², Sophie Brangolo¹, Brigitta Peteri-Brünback¹, Bart Staels³,

(Suite page 99)

(Suite de la page 98)

Catherine Fiévet³, Thomas C Spelsberg², Franck Delaunay¹ et Michèle Teboul¹
¹Université de Nice-Sophia-Antipolis, CNRS, Institut de Biologie du Développement et du Cancer, Nice ;

²Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Mayo Clinic College of Medicine, Rochester, USA;

³INSERM, U545, Institut Pasteur de Lille, Université Lille Nord de France, Lille

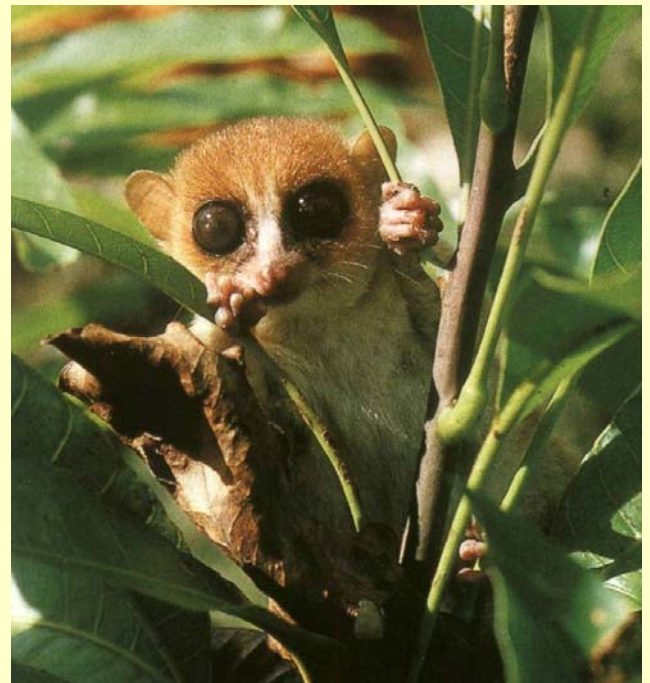
Chez les mammifères, le système circadien coordonne les différentes fonctions et les comportements rythmiques de l'organisme sur l'alternance jour/nuit. Ces rythmes sont générés par des oscillateurs moléculaires endogènes présents dans la plupart des cellules de l'organisme. Des travaux antérieurs de l'équipe ont permis de conforter l'hypothèse d'un contrôle indirect des fonctions rythmiques du foie par l'oscillateur moléculaire. Dans cette étude, nous avons montré que le facteur de transcription KLF10 présente une expression circadienne robuste dans le foie qui est abolie chez les souris *Bmal1*^{-/-} dépourvues d'horloge fonctionnelle. Nous avons montré que la protéine BMAL1 se lie sur un élément de réponse de type E-box présent dans le promoteur de *Klf10* et active la transcription de *Klf10* par son association avec CLOCK. L'analyse du transcriptome hépatique des souris *Klf10*^{-/-} nous a permis d'identifier 158 gènes régulés par KLF10. Leur répartition fonctionnelle révèle un enrichissement significatif des transcrits impliqués dans le métabolisme des lipides et des carbohydrates. De plus, environ 56% de ces transcrits sont sous le contrôle de l'horloge. L'analyse phénotypique des souris *Klf10*^{-/-} montre que les mâles *Klf10*^{-/-} présentent une hyperglycémie post-prandiale qui se maintient après un jeûne et une élévation de l'expression du gène gluconéogénique *Pepck* qui s'accompagne d'une augmentation de la production de glucose par le foie. Des données fonctionnelles nous ont permis de montrer que le contrôle de la néoglucogénèse par KLF10 est direct et s'exerce via un élément de réponse de type E-box présent dans le promoteur proximal de *Pepck*. Les femelles *Klf10*^{-/-} sont normoglycémiques mais présentent des taux plasmatiques de triglycérides élevés. Cette hypertriglycéridémie est corrélée à une altération de l'expression rythmique des gènes lipogéniques *Srebp1*, *Fas* et *Elovl6*. En conclusion, l'ensemble de ces résultats montre que KLF10 est un régulateur transcriptionnel circadien qui sert de relais entre l'oscillateur moléculaire et le métabolisme énergétique dans le foie. Son rôle serait d'assurer la coordination temporelle du métabolisme hépatique en permettant la synchronisation de la lipogénèse sur la période prandiale et en modulant, au travers de *Pepck*, la production de glucose en fin de période d'inactivité.

Une supplémentation alimentaire en Resvératrol raccourcit la période endogène et diminue la température corporelle chez un primate prosimien

Pifferi F, Dal-Pan A, Aujard F

UMR CNRS-MNHN 7179, Brunoy, France

En l'absence de références temporelles, l'horloge biologique exprime sa période endogène (*tau*). Cette période peut être modifiée par certains paramètres tels que le sexe, l'âge ou la prise de médicaments. Bien que l'horloge biologique centrale soit principalement entraînée par l'alternance des cycles jour/nuit, les horloges périphériques peuvent être entraînées par des synchroniseurs secondaires tels que l'alimentation. Toutefois, très peu de données sont disponibles quand à la relation entre la composition des nutriments et l'horloge circadienne. Le Resvératrol (RSV) est un composé polyphénolique ayant des effets positifs sur la physiologie et la longévité chez des mammifères obèses. Des travaux récents suggèrent que ces effets soient dus à des changements impliquant les rythmes circadiens et le métabolisme énergétique. Le RSV augmente l'activité des sirtuines, une famille de gènes impliquée dans la régulation du métabolisme énergétique, qui pourraient être une cible thérapeutique pour le traitement des maladies liées à l'âge. Le RSV est aussi décrit comme améliorant les fonctions mitochondriales et l'expression de PGC-1 α (peroxisome proliferators-activated receptor gamma-coactivator-1 α). PGC-1 α participe à la régulation de l'horloge circadienne (stimule l'expression de certains gènes de l'horloge tels que *Bmal1* et *Rev-erb α*) et du métabolisme énergétique (en agissant sur le développement mitochondrial et la néoglucogénèse).



Le présent travail s'intéresse à l'impact d'une supplémentation alimentaire en RSV sur les rythmes d'activité locomotrice et de température corporelle en condition d'obscurité constante (libre cours) chez le

(Suite page 100)

(Suite de la page 99)

Microcèbe (*Microcebus murinus*), un primate prosimien nocturne exprimant des rythmes circadiens très marqués. Deux groupes d'animaux (jeunes, n=7 et âgés, n=6) ont été nourris pendant 2 semaines avec un régime contrôle puis pendant deux semaines avec le même régime supplémenté en RSV (200mg/j/kg). Il a été observé un raccourcissement de la période endogène chez les animaux ayant reçu le RSV (-32 mn chez les jeunes et -53 mn chez les âgés, $p < 0.001$) ainsi qu'une diminution de la température corporelle moyenne dans les deux groupes d'âges ($p < 0.05$) et de l'activité locomotrice chez les jeunes uniquement ($p < 0.05$). Cette étude est la première intervention nutritionnelle démontrant qu'un composant alimentaire tel que le RSV est capable de modifier la période endogène chez des mammifères, avec un effet plus marqué chez les individus âgés.

Orchestration rythmique de la traduction dans le foie de souris

Frédéric Gachon

Département de Pharmacologie et Toxicologie, Université de Lausanne, CH-1005 Lausanne, Suisse

L'horloge circadienne joue un rôle fondamental dans le foie de souris en régulant simultanément les métabolismes des lipides, du glucose et des xénobiotiques. Jusqu'à présent, il était considéré que l'horloge circadienne régulait ces métabolismes en contrôlant l'expression rythmique des enzymes impliquées au niveau transcriptionnel. Nos travaux récents ont montré que des régulations post-traductionnelles pouvant jouer également un rôle important dans la régulation du métabolisme hépatique par l'horloge circadienne. Parmi celles-ci, il semble que l'horloge circadienne puisse synchroniser la traduction des ARNm par l'intermédiaire de l'activation rythmique du complexe « Target of Rapamycin » (TORC1). A partir de cette observation, nous avons identifiés les ARNm traduits de manière rythmique dans le foie de souris par l'analyse par puce à ADN des ARN présents dans les polysomes. Cette étude a permis l'identification de centaines de gènes traduits de manière rythmique malgré l'expression constante de leurs ARNm. Parmi ces ARNm, nous trouvons une proportion importante de gènes codants pour les protéines ribosomiques dont la traduction commence en fin de jour, avant la période d'alimentation des souris. Il semble donc que l'horloge circadienne organise la synthèse de ces protéines (qui représente environ 50 % de la synthèse totale des protéines) de manière à ce qu'elle ait lieu lorsque les nutriments sont le plus abondants. Il semble donc que l'horloge circadienne prépare la synthèse massive de protéines qui aura lieu durant la période d'activité en augmentant la synthèse de la machinerie traductionnelle avant cette période.

The nuclear receptor *Rev-erba* participates in lipid and glucose homeostasis

Delezie Julien¹, Dumont Stéphanie¹, Mendoza

Jorge¹, Pévet Paul¹, Delaunay Franck², Teboul Michèle², Challet Etienne¹

¹Département de Neurobiologie des Rythmes, Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives, CNRS UPR3212, Université de Strasbourg, Strasbourg, France.

²Institut de Biologie du Développement et Cancer, CNRS UMR6543, Université de Nice, Nice, France.

Mutations of clock genes lead to metabolic alterations such as diabetes and obesity. Conversely, metabolic diseases are associated with circadian disturbances at both central and peripheral levels. *Rev-erba*, a nuclear receptor involved in the mechanism underlying circadian oscillations, has been shown to play a role in lipid and glucose metabolism *in vitro*. In order to explore further the role of *Rev-erba* in metabolic regulations *in vivo*, *Rev-erba* mutant mice (-/-: homozygous) and their control littermates (+/+ : wild-type) were fed either with chow (CD) or high-fat diet (HFD). By studying different daily parameters, we observed that the blood glucose rhythm in -/- mice showed higher values than those in the +/+ group across the whole 24h cycle, and after a fasting period as well. Furthermore, regardless of the feeding conditions (CD or HFD), Insulin Tolerance Test (ITT) and Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) indicated that -/- mice were more sensitive to insulin compared to +/+ animals, but showed a normal clearance of glucose during OGTT. In addition, both genotypes fed with HFD showed an attenuated diurnal feeding rhythm and developed hyperlipidemia, hyperleptinemia and hyperglycemia, in accordance with their elevated body mass compared to the CD groups. Interestingly, -/- mice on HFD gained significantly more body mass than control animals and became obese more rapidly. To determine whether the defective energy homeostasis was a consequence of abnormal liver clockwork, we analysed the day-night expression of clock and metabolic genes in both genotypes. The hepatic expression of major metabolic actors of lipolysis and lipogenesis was deeply altered, indicating that the obese phenotype in *Rev-erba* -/- mice implies a primary alteration in the liver. Moreover, the expression of key regulators of glucose production was also modified in the liver of -/- mice, and their levels of plasma insulin were increased in fed and fasted states. These results demonstrate that the absence of *Rev-erba in vivo* triggers risk factors for diabetes and obesity. Therefore, considering the role of *Rev-erba* in the molecular clockwork, our findings show that it is a key actor of the crosstalk between the circadian system and metabolism.

SYMPOSIUM 4 : NEUROENDOCRINOLOGIE ET RYTHMES SAISONNIERS

Modérateurs : Valérie Simonneaux et Xavier Bonnefont

Neuroendocrine aging: Interactions between GH/IGF-1 axis, energy balance regulation and

(Suite page 101)

(Suite de la page 100)
cognition.

J. Epelbaum

Centre de Psychiatrie et Neurosciences, UMR 894 Inserm
 Faculté de Médecine, Université Paris Descartes

The activity of the Growth-Hormone (GH)/IGF-1 axis is strikingly dependent on age and it appears to play a key role in the control of aging and longevity in many animal models from *C. elegans* to mammals. Since early adulthood, it decreases by 10% every decade and morbidity is increased in adult GH-deficient human subjects. Aging is associated with imbalance in the secretion of GH-releasing and inhibiting hypothalamic neurohormones. Age-associated changes in hypothalamic and pituitary gene expression in the rat as assessed by cDNA membrane array, also indicate that GH alone represents 85% of total gene expression in the gland of young Sprague-Dawley rats, while MCH, the most expressed hypothalamic transcript accounts for only 0.8% of total transcripts. The proportion of genes modified in the hypothalamus and pituitary of aged rats is modest (1.5% and 5.2%, respectively, for ageing per se, and 1.1% and 5.2% for age-associated macroprolactinomas). Among pituitary specific RNAs, GH expression is markedly decreased with age. At the hypothalamic level, expression of genes directly involved in GH regulation, such as somatostatin and GHRH, is not modified, while neuropeptide transcripts involved in feeding behaviour (orexin, MCH, POMC, CART) are significantly altered. The GH/IGF1 axis was further evaluated in the Lou C strain, a model of « successful aging ». As compared to its parent strain, the Wistar rat, aging in Lou C/Jall rats is associated with a delayed decrease in pulsatile GH secretion in the presence of a lower IGF-1 tone and an increase in the expression of hypothalamic orexigenic neuropeptides. Aged Lou C rats also display preserved memory capacities. Increased longevity and decreased GHRH in the hypothalamus are also observed in brain-invalidated IGF-1 receptor heterozygous mice. Finally, caloric restriction or drug affecting mTOR (rapamycin) and sirtuins (resveratrol) pathways seem able to counteract the aging process and its consequences in rodents and primates. Altogether, it is tempting to speculate that a delayed decrease in GH pulsatility with lower IGF-1 levels is a marker of healthy aging, not only in terms of preserved metabolism but also for cognition and synaptic plasticity.

Mécanismes moléculaires à la base du rythme d'expression de la prolactine dans une lignée hypophysaire somatolactotrope

François-Bellan AM¹, Guillaumond F², Boyer B¹, Guillen S¹, Kuhn L³, Garin J³, Belghazi M⁴, Bosler O¹, Becquet D¹, Franc JL¹

¹CRN2M, UMR 6231 CNRS-Université Aix-Marseille II, III, Marseille ;

²CNRS FRE 3094, Université de Nice-Sophia Antipolis,

Nice ;
³Plateforme EDyP-Service, Grenoble ;

⁴Centre d'Analyse Protéomique, IFR Jean-Roche Marseille

En dépit de son rôle essentiel dans la rythmicité des fonctions hormonales, l'adénohypophyse a été jusqu'ici peu étudiée en tant qu'oscillateur endocrinien. Non seulement les principaux gènes de l'horloge s'y expriment de manière rythmique, mais il est aussi possible de mettre en évidence un rythme d'expression de ces gènes dans une lignée hypophysaire somatolactotrope, la lignée GH4C1, ce qui démontre que la rythmicité circadienne peut résulter d'un mécanisme intra-hypophysaire autonome. Dans cette lignée GH4C1 exprimant de façon stable le gène *luciférase* sous contrôle du promoteur humain de la prolactine PRL (hPRL), nous avons mis en évidence un rythme circadien d'activation du promoteur hPRL. Ce rythme est dépendant non seulement d'un élément de réponse de type E-Box non-consensus, mais également d'un des sites de fixation (P2) d'un facteur de transcription spécifique de l'hypophyse, le facteur PIT-1. En effet, il disparaît après mutation de l'un ou l'autre de ces sites. Il existe par ailleurs une interaction fonctionnelle entre les éléments de régulation se fixant sur ces deux sites pour contrôler le niveau d'expression de hPRL.

Par une étude *in silico* nous avons identifié le facteur HLTF (Helicase Like Transcription Factor) comme le ligand endogène le plus probable de la E-Box non-consensus. Cette protéine appartient à la famille des protéines SWI/SNF de remodelage de la chromatine. Par différentes approches (retardement sur gel, isolement sur colonne d'affinité suivi de Western Blot), nous avons effectivement montré que ce facteur est le ligand endogène de la séquence E-Box. Par ailleurs, une immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) par un anticorps anti-HLTF a permis de montrer qu'HLTF est bien lié au promoteur endogène de la PRL dans les cellules GH4C1. Nous avons de plus montré par la technique de ChIP, que le rythme circadien d'activation de ce promoteur s'accompagne d'un rythme circadien des formes actives et inactives de la chromatine (histone H3 acétylé ou diméthylé sur la lysine 9) ainsi que de la densité totale en histone H3.

Bien que PIT-1 et HLTF soient tous deux impliqués dans l'activation rythmique de hPRL, ni PIT-1 ni HLTF ne présente une expression rythmique dans les cellules GH4C1. Nous avons identifié par spectrométrie de masse les protéines associées à HLTF au sein des complexes liés à la E-Box. Parmi les protéines majoritaires identifiées, deux d'entre elles, NONO et SFPQ, par l'expression rythmique de leurs transcrits, pourraient rendre compte de la rythmicité d'expression de la PRL. Le mécanisme moléculaire qui permet la rythmicité de PRL implique donc la rythmicité de cofacteurs associés à un facteur de transcription, HLTF, qui interagit avec PIT-1 via un site de fixation (P2) proche du site de liaison de HLTF.

(Suite page 102)

(Suite de la page 101)

Hypothalamic and thalamic neural progenitor cells and seasonal rhythm of reproduction in sheep

Migaud M., Batailler M., Pillon D., Segura S., Franceschni I., Malpoux M.

Physiologie de la Reproduction et des Comportements, INRA, CNRS, UMR6175, Université de Tours, Haras Nationaux, IFR135, F-37380 Nouzilly, France

Seasonal plasticity of structure and function of the vertebrate central nervous system enables animals to adapt their physiology to seasonal variations of their environment. As part of plasticity mechanisms, seasonal variations in proliferation rates and neuron production have been extensively studied in songbirds. We therefore addressed the question whether this type of brain plasticity also occurs in seasonal mammals by assessing variation of cell proliferation in the sheep midbrain at different time of the year. We administered the cell birth marker, 5'-Bromodeoxyuridine (BrdU) in female sheep at two times of the year: during the sexual rest period (July) and during the sexual activity period (December). The BrdU incorporation was analysed and quantified in the hypothalamus, a key centre for neuroendocrine



regulations as well as in other structures involved in relaying neuroendocrine information including the median eminence, the thalamus and the pars tuberalis of the pituitary gland. In the hypothalamus and the thalamus, the number of BrdU+ nuclei significantly increased in December, independently of the influence of peripheral gonadal steroid variations. An inverse seasonal regulation of cell proliferation was observed in the pars tuberalis. In contrast, no seasonal variation in cell proliferation was observed in the subventricular zone (SVZ). Many of the newborn cells in the adult ovine hypothalamus differentiate into neurons and glial cells as assessed by the expression of neuronal (DCX, NeuN) and glial (GFAP, S100B) cell fate markers respectively. In conclusion, these results raise the interesting possibility that the variation of cell proliferation observed in the sheep hypo-

thalamus might reflect the expression of seasonal neurogenesis and gliogenesis.

Melatonin controls photoperiodic changes in tanycyte vimentin and NCAM expression in the Djungarian hamster

Klosen Paul⁽¹⁾, Bolborea Matei^(1;2), Laran-Chich Marie-Pierre⁽¹⁾, Rasri Kamontip⁽³⁾, Hildebrandt Herbert⁽⁴⁾, Pévet Paul⁽¹⁾, Steinlechner Stephan⁽²⁾ and Simonneaux Valérie⁽¹⁾

Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives, Département Neurobiologie des Rythmes, CNRS UPR 3212, Strasbourg, France

Tierärztliche Hochschule, Institut für Zoologie, Hannover, Germany

Dept of Pre-Clinical Science, Faculty of Medicine, Thammasart University, Rangsit, Thailand

Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Zelluläre Chemie, Hannover, Germany

The Djungarian hamster displays photoperiodic variations in gonadal size synchronised to the seasons by the nightly secretion of the pineal hormone melatonin. In short photoperiod (SP), the gonads regress in size and circulating sex steroids levels decline. Thus, the brain is subject to seasonal variations of both melatonin and sex steroids.

Tanycytes are specialised glial cells located in the ependymal lining of the third ventricle that send their processes either to the meninges or to the blood vessels of the medio-basal hypothalamus. They are known to locally modulate GnRH release in the median eminence and to display seasonal structural changes. Seasonal changes in tanycyte morphology might be mediated either through melatonin or sex steroid. Consequently, we analysed the effects of photoperiod, melatonin and sex steroids (1) on the tanycyte structure by immunohistochemistry for vimentin and (2) on the expression of the neural cell adhesion molecule NCAM and polysialic acid (PSA) as markers of brain plasticity.

We observed a reduction of vimentin immunostaining in tanycyte cell bodies and processes in SP which could not be reversed by testosterone supplementation. Similarly, tanycytes and their processes contain lower amounts of NCAM in SP and testosterone supplementation could not restore long photoperiod LP-like levels. Likewise, castration in LP did not affect tanycyte vimentin or NCAM expression. By contrast, late afternoon melatonin injections mimicking a SP-like melatonin peak in LP hamsters reduced vimentin and NCAM expression. Thus the seasonal changes in vimentin and NCAM expression in tanycytes are directly regulated by melatonin.

Supported by the EU and the Marie Curie PhD-Program (BM, MEST-CT-2005-021014), the French-German University, the Network of European Neuroscience Schools and the "Zentrum für Systemische Neurowissenschaften Hannover" (ZSN).

(Suite page 103)

(Suite de la page 102)

Ontogeny of the seasonally varying activity pattern in European Hamsters

Monecke, S.¹, Amann, B., and Wollnik, F.

Department of Animal Physiology, Biological Institute, University of Stuttgart, Germany

Present address: Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives (INCI), Neurobiologie des Rythmes, CNRS UPR-3212, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

stefanie.monecke@inci-cnrs.unistr.fr

One of the adaptations of European hamsters (*Cricetus cricetus*) to the seasonal changes of the photoperiod in its habitat is the strong seasonal variation of the activity pattern. Between mid-May and mid-July when the animals are sensitive to a shortening of photoperiod a clear precise activity rhythm is observed, whereas the activity pattern is nearly arrhythmic during all other parts of the year. Young European hamsters are born between early April and late August, i.e. in times when the adults show both, the arrhythmic and the rhythmic activity pattern.

Therefore, we investigated when young European hamsters develop the diurnal and the seasonal rhythmicity of the activity pattern in dependence of the date of birth. After weaning at postnatal day 20-22, running wheel activity was monitored in 36 animals from five litters, born in April, May, June and July, (LD ca. 13:11/15.5:8.5/16:08/summer solstice/15.5:8.5).

The development of the activity rhythm started homogeneously in all litters. After a short phase of consolidation all animals showed the rhythmic activity pattern of adult hamsters sensitive to short photoperiods, unaffected by the date of birth. However, minor photoperiodic variations between litters were evident in the activity duration and activity onset. The ontogeny of the activity pattern seems to be terminated at postnatal day 70-85. At that age, the young hamsters showed an abrupt change in their activity pattern when switching into the appropriate seasonal activity pattern of the adults.

This study was supported by the German Research foundation (DFG) Wo 354/12-3, and the Région Alsace.

SYMPOSIUM 5 : ASPECTS CHRONOBIOLOGIQUES EN MÉDECINE DU TRAVAIL

Modérateur : Olivier Coste

Social Jetlag, a modern syndrome with wide-ranging consequences : epidemiological and genetic studies

Till Roennenberg

Institute of Medical Psychology, Centre for Chronobiology, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

The circadian clock is a fundamental biological programme that controls, organises and modulates every aspect of our life (as it does in all other organisms). Circadian clocks can be found from the level of the

single cell up to specialised centres in the brain. Although significantly influenced by social time, circadian clocks are predominantly synchronised (entrained) to the 24-hour rotation of the Earth by light ("zeitgeber"). The dominance of the dawn/dusk cycle for the circadian clock has been demonstrated at multiple levels. For example, the circadian clocks of individuals within a given time zone entrain progressively later from east to west, paralleling the delay of dawn and dusk. This means people are falling asleep and waking up later towards the west within a given time zone despite having to go to work/school at the same times (notably, the prevalence of depression shares similar clines within time zones).

Furthermore, inter-individual differences ("chronotype") exist in circadian timing, manifested as the time (phase) at which the clock settles itself into the daily light-dark cycle. Chronotypes show a normal distribution in the population, and the differences between the extreme "owls" and "larks" (documented by their habitual sleep times on work-free days) can be up to twelve hours. These genetically-encoded differences in chronotype are exacerbated and exaggerated due to exposure to weak zeitgebers as part of modern life: for example, industrialisation means being exposed to decreased natural daylight (by working indoors) and to increased nocturnal light in urban environments due to artificial lighting. Circadian clocks of individuals in industrialised societies are therefore exposed to zeitgeber strengths that are up to a 1000 fold weaker than in rural populations. As a consequence, the entrainment of the circadian clock is drastically changed in relationship to local, social time.

Not only long-term shift-workers suffer from circadian rhythm and sleep disruption, a condition referred to as "social jetlag". Approximately 60% of the Central European population have traditional work times that impose a more or less permanent early shift, and the work force of much of Europe is working to the 24-hour needs of the global economy which demands both extended and nightshift schedules. These economic drivers, in combination with exposure to weak or mixed zeitgeber signals and an individual chronotype, have all conspired to make *social jetlag* a major health concern. *Social jetlag* compromises sleep (both duration and quality), resulting in learning and memory deficits, challenges to the immune system, higher risk for the metabolic syndrome, diabetes and obesity, increases in nicotine and alcohol consumption, and decreases in performance.

Rythmes travail/repos, état et efficience du marin : approches de terrain et en laboratoire.

Rabat A.¹, Chaumet G.¹, Schmid B.¹, Lagarde D.², Matéo-Champion M.F.³, Coste O.¹

¹ IRBA - Antenne Toulon - IMNSSA.

² IRBA - Antenne Brétigny sur Orge - IMASSA.

(Suite page 104)

(Suite de la page 103)

³ Unité d'explorations fonctionnelles du système nerveux-sommeil, Hôpital Font Pré

La diminution des effectifs embarqués et l'augmentation des interfaces homme-machine impose à la Marine Nationale la maîtrise du facteur humain. Aucune investigation n'a encore quantifié l'incidence réelle des modes d'organisation travail/repos à bord des bâtiments de la Marine sur l'état du marin et son efficacité au travail. Nos recherches sont centrées sur une double approche, des expériences embarquées à bord des bâtiments de la Marine lors de mission prolongée (plus de 3 mois) et des expérimentations en unité de sommeil. Nos études de terrain visent à objectiver, en situation réelle, l'existence d'états dégradés (sommolence et/ou fatigue) et des dégradations cognitives des marins. Parallèlement des premières recherches en unité de sommeil complètent cette double approche en évaluant, en condition plus contrôlée, la qualité du sommeil, l'importance d'états dégradés et l'altération des capacités cognitives de marins avant et au retour de mission en mer.



Les résultats de terrain montrent que tous les marins dorment moins à terre que la population générale du même âge. De plus deux profils se distinguent nettement. Les marins de « quart » dorment en moyenne 1 heure de moins par nuit à la mer qu'à terre, leurs performances et l'amplitude de leur température corporelle s'effondrent à la mer sans aucune perception d'un état de somnolence ou de fatigue. Parallèlement les marins "hors-quart" se plaignent de fatigue et de somnolence au retour de mer. Ils gardent des performances stables à la mer qui s'effondrent partiellement au retour de mission. Le rythme biologique de la température corporelle ne subit aucune modification significative. Le profil de "quart" ressemble à une situation de restriction chronique de sommeil et le se-

cond "hors-quart" à du "burn-out". Les résultats des expérimentations à l'hôpital montrent une altération de la qualité du sommeil nocturne accompagnée d'une somnolence et de performances altérées pour les marins de "quart" au retour de mer, qui ne se retrouvent pas pour les marins "hors-quart". Nous poursuivons les études de terrain sur un plus grand échantillon (> 200 individus) et finissons les études en laboratoire.

Cognitive performance in shift-workers and internal time

Céline Vetter, Myriam Juda & Till Roenneberg

Institute of Medical Psychology, Centre for Chronobiology, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

Purpose: The circadian clock generates a biological, internal time that is the basis for all daily rhythms in physiology, behaviour and performance. To date, field research investigating the consequences of shift-work on human performance has predominantly focussed on external, local time (e.g., regarding shift schedules) but has rarely considered internal time. Here, we investigate cognitive performance of shift-workers based on internal rather than on external time.

Methods: We assessed cognitive performance, *i.e.* psychomotor vigilance, in two field studies with a total sample of 44 young, rotating shift-workers (every two hours for each shift over a course of four weeks). Daily sleep-logs were filled out across the 4-week study period as well as an initial assessment of chronotype by the MCTQ (Munich Chrono-Type Questionnaire). The sleep-deficit-corrected mid-sleep on free days after evening shifts (MSF_{scn}^E) was used as a marker for internal time (chronotype), validated by sleep logs and actimetry.

Results: A significant shift-specific modulation of psychomotor vigilance speed was observed, whereby both external and internal time both contributed additively. Homeostatic sleep pressure and chronotype-modulated sleep duration also influenced performance. These results were confirmed by a second field study. **Conclusions:** Cognitive performance is strongly influenced by individual phase of entrainment (chronotype). This is apparent both in the laboratory and in real-life settings. The effects of shift-work on cognitive performance can only be understood in the light of internal time.

Etude des fonctions cognitives chez des travailleurs postés : importance du temps biologique

(Suite page 105)

(Suite de la page 104)

interne

But : L'horloge circadienne produit un temps biologique interne à la base de tous les rythmes diurnes au plan physiologique, comportemental et de la performance. Jusqu'à présent, les études de terrain au sujet de la performance chez les travailleurs postés se sont intéressées principalement au temps « externe » – comme par exemple aux types de rotation et aux horaires de travail – mais rarement au temps biologique interne. L'objet de ce travail a été d'analyser la performance cognitive parmi les travailleurs postés par rapport au temps interne et externe.

Méthodes: Lors de deux études de terrain, nous avons étudié la performance cognitive (Psychomotor Vigilance Task) auprès de 44 jeunes travailleurs postés en 3x8, toutes les deux heures pour chaque poste pendant une durée d'étude totale de quatre semaines. Tous les sujets remplissaient un agenda de sommeil quotidiennement pendant ces quatre semaines ainsi que le questionnaire MCTQ (Munich ChronoType Questionnaire) afin d'obtenir un indicateur de chronotype ou temps interne individuel. Pour ceci, nous utilisons le MSF_{scn}^{E} validé par les agendas de sommeil et l'actimétrie. **Résultats:** Le temps de réaction est influencé significativement par l'équipe de travail (du matin, du soir ou de la nuit). De plus, les facteurs temps interne et temps externe ont contribué à la modulation du temps de réaction de manière additive. La pression homéostatique du sommeil ainsi que la durée de sommeil – les deux dépendent du chronotype individuel - ont également agi sur le niveau de performance. Une deuxième étude en terrain a pu confirmer ces résultats. **Conclusions:** La performance cognitive est fortement influencée par la phase individuelle d'entraînement ou chronotype. Ces données de terrain viennent confirmer les résultats d'études antérieures menées en laboratoire. Les effets du travail posté sur performance cognitive doivent donc être appréhendés non seulement en fonction du temps externe, mais également en fonction du temps biologique interne.

SYMPOSIUM 6: RYTHMES BIOLOGIQUES, SANTÉ ET PATHOLOGIE (EN PARTENARIAT AVEC L'ART-BC ET LA SFRMS) (PARTIE 1)

Modérateurs : Elisabeth Filipiski et Claude Gronfier

Evaluation des niveaux et des variations de performances en mémoire de travail chez des sujets âgés présentant ou non une démence de type Alzheimer

R. Clarisse¹, N. Le Floc'h¹, M. Ferchaud, & M. Brachet²

¹ EA 2114 « Psychologie des âges de la vie » Université François Rabelais-Tours (France)

² Groupe de Recherches des centres hospitaliers de San-

cerre et de Luynes

Belleville, Peretz et Malenfant (1996) ont mis en évidence des déficits précoces de la mémoire de travail chez des personnes âgées présentant une pathologie démentielle de type Alzheimer (DTA). Par ailleurs, il est reconnu que le moment de la journée peut influencer l'efficacité du traitement cognitif produisant une amélioration ou une réduction des performances (West *et al.*, 2002). Le but poursuivi ici était d'évaluer les niveaux et les variations de performances de la boucle phonologique, sous système de la mémoire de travail, chez des sujets âgés présentant ou non une pathologie DTA.

L'expérience a été réalisée auprès de 30 sujets âgés :

- Groupe contrôle (12 femmes et 3 hommes). Age moyen : 84,07 ans \pm 6,04 - Score moyen au Mini Mental State Examination (MMSE) : 27/30.
- Groupe DTA modérée (12 femmes et 3 hommes). Age moyen : 83,53 ans \pm 5,18 - Score moyen au MMSE : 18.53/30.



La boucle phonologique est mesurée à partir de trois tâches auditives d'empans verbaux (mots/logatomes/chiffres). Celles-ci sont proposées en situation individuelle à deux moments de la journée (09:30 et 17:00). Les niveaux moyens et leurs variations journalières ont été soumis à des analyses de variance à mesures répétées (ANOVA) au seuil .05.

Les principaux résultats mettent en évidence un effet du type de vieillissement (normal versus pathologie) au détriment des sujets « Alzheimer ». Les analyses selon le type de tâche précisent que cette différence n'est significative que pour l'empan de chiffres. Toutes tâches confondues et tous participants réunis, aucun effet du moment de la journée n'a été trouvé. L'analyse des interactions indique cependant que les performances à l'empan de chiffres pour les sujets « contrôle » varient au cours de la journée au bénéfice du matin. Chez les sujets « Alzheimer », quelle que soit la nature de la tâche, il n'est pas relevé de variation de performances entre le matin et le soir. Enfin, un effet de la nature de la tâche a été observé pour tous les participants : les chiffres sont mieux rappelés que les mots et les mots mieux rappelés

(Suite page 106)

(Suite de la page 105)

que les logatomes. Les résultats fournis par cette recherche soulignent que seuls les sujets non DTA présentent des variations journalières des capacités mnésiques pour l'empan de chiffres. Ces résultats sont conformes à la littérature (Gates, 1916 ; Bouati, 1999; Lancry, 1986) et suggèrent chez les sujets DTA, une perte de repères temporeux avec stagnation des processus mnésiques. Le rôle du support utilisé pour l'évaluation de la mémoire de travail sera discuté. L'intervention de la boucle phonologique faisant intervenir le maintien d'informations verbales à court terme présentées auditivement comme relevé par Belleville et al. (1996) viendrait entraver le fonctionnement des performances chez les sujets « Alzheimer ».

Key words : Démence de type Alzheimer – mémoire de travail – variations journalières

Alteration of activity and rest profiles in a non human primate model of Parkinson's disease.

Karim Fifel^{1,2}, Julien Vezoli^{1,2}, Claude Gronfier^{1,2}, Vincent Leviel^{1,2}, Henry Kennedy^{1,2}, Emmanuel Procyk^{1,2}, Howard M. Cooper^{1,2}

1 Inserm, U846, Stem Cell and Brain Research Institute, 69500 Bron, France;

2 Université de Lyon, Lyon 1, UMR-S 846, 69003 Lyon, France

The non-human primate chronically treated with low-doses of the neurotoxin MPTP provides an appropriate model to study the behavioral and biological development of idiopathic Parkinson's disease (PD) symptoms. In addition to diagnostic disturbances of the motor system in PD, disorders of the circadian timing system and sleep have also been reported. Numerous studies have shown that MPTP intoxication leads to motor and cognitive deficits strikingly similar to those observed in PD patients, whereas chronobiological alterations have been less investigated. We designed a long-term protocol to determine the timetable of circadian alterations and cognitive decline in relation to the evolution of clinical PD scores in early parkinsonian monkeys. Behavioral activity recordings, motor and cognitive assessments were done in parallel before, during and several months following the MPTP-treatment. Rest-activity cycles were monitored continuously using infrared movement detectors of locomotor activity. Cognitive abilities were assessed using a task dependent on the functional integrity of the fronto-striatal axis. Motor impairment was evaluated using standardized scales for primates.

Results show that MPTP treatment led to alteration of rest-activity cycles and cognitive deficits prior to symptomatic parkinsonian motor troubles. Following cessation of MPTP administration, clinical scores rapidly returned to control levels. In contrast, chronobiological and cognitive alterations persisted for several weeks. Levodopa treatment led to an improvement of cognitive performance but did not affect rest-activity

rhythms that never fully returned to control levels. This study shows that i) cognitive deficits and chronobiological alterations are observed at the presymptomatic stage and that motor-recovered animals show a persistence of non-motor symptoms that could reflect underlying compensatory mechanisms.

Support: Fondation de France, Fondation CERA Lyon, EUCLOCK (EU FP6 project 018741), Rhône-Alpes Cible, UNADEV, ANR-09-MNPS-040.

SYMPOSIUM 6: (PARTIE 2)

Vers l'optimisation de l'administration d'un agent anticancéreux: étude expérimentale et mathématique de la pharmacocinétique-pharmacodynamie de l'Irinotécan et de son contrôle par l'horloge circadienne

A. Ballesta¹, S. Dulong², J. Clairambault¹, C. Abbara³, B. Cohen², A. Okyar², F. Levi^{2,3}

1 INRIA Rocquencourt, BANG project, Domaine de Voluceau BP105, 78153 Le Chesnay Cedex, France

2 INSERM U776 "Rythmes biologiques et Cancer", Villejuif, France

3 Hpital Paul Brousse, Villejuif, France

De nombreux médicaments anticancéreux présentent des rythmes de chronoefficacité/ chronotoxicité, c'est-à-dire que leur action anti-tumorale et leurs effets secondaires dépendent fortement de l'heure à laquelle ils sont administrés. Jusqu'à présent les tentatives d'optimisation d'administration de ces médicaments ont été faites en mesurant leur efficacité et leur toxicité chez la souris par des variables phénoménologiques (i.e. survie, perte de poids...) et en adaptant ces résultats chez l'homme. Nous proposons ici d'étudier expérimentalement les voies moléculaires responsables de ces rythmes de chronoefficacité/ chronotoxicité, puis de les modéliser mathématiquement dans le but de définir des schémas d'administration chronomodulés théoriquement optimaux.

La présente étude porte sur le médicament Irinotécan (CPT11) actuellement utilisé en clinique pour traiter le cancer colorectal. La pharmacocinétique (PK) (i.e. ce que le corps fait au médicament, par exemple, métabolisation, transport) et la

pharmacodynamie (PD) (i.e. ce que le médicament fait au corps par exemple, dommages à l'ADN) de l'Irinotécan sont ici étudiées in vitro dans des cultures de cellules Caco-2 (cellules cancéreuses d'intestin



Camptotheca acuminata

(Suite page 107)

(Suite de la page 106)

humain) dans lesquelles nous avons mis en évidence des rythmes circadiens pour plusieurs gènes de l'horloge (Reverb- α , Per2, Bmal1) et pour les principaux gènes de la pharmacologie de l'Irinotécan (Topoisomérase 1, UGT1A1, transporteurs de la famille ABC). Un modèle mathématique de la PK PD moléculaire du CPT11 a été construit et ses paramètres estimés à partir des données expérimentales obtenues, et de la littérature. L'application d'algorithme d'optimisation au modèle permet la définition de schémas optimaux d'exposition des cellules Caco-2 au CPT11.

Ce projet de modélisation de données in vitro a permis la construction d'un modèle mathématique "de la PK-PD « corps entier » de l'Irinotécan permettant d'étudier les rythmes de chronotoxicité du médicament chez la souris. Dans le cadre du projet européen TEMPO, trois classes de chronotoxicité ont été identifiées. Elles présentent des rythmes circadiens de toxicité à l'Irinotécan très différents. Pour chacune de ces trois classes, nous avons estimé les paramètres du modèle mathématique à partir des données de PK tissulaire et des mesures circadiennes des protéines d'intérêt. Le modèle ainsi calibré est utilisé pour étudier les déterminants moléculaires responsables des rythmes de chronotoxicité pour les trois classes. Par exemple, les rythmes de toxicité dans le colon pour la classe 1 (souris B6D2F1 femelle) semblent être dus au rythme circadien des transporteurs ABC dans le foie, les variations circadiennes des protéines dans le colon ne jouant aucun rôle. L'étape suivante consiste à définir des schémas d'administration chronomodulés théoriquement optimaux, qui pourront ensuite être validés ou non par de nouvelles expériences in vivo.

Circadian changes in abcc2 expression in mouse ileum

Alper Okyar^{1,2,4}, Enza Piccolo⁵, Virginie Hossard^{1,2}, Elisabeth Filipksi^{1,2} and Francis Lévi^{1,2,3}

¹INSERM, U776 Rythmes Biologiques et Cancers, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, F-94807, France

²Univ Paris-Sud, UMR-S0776, Orsay, F-91405, France

³Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Unité de Chronothérapie, Département de Cancérologie, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, F-94807, France

⁴Istanbul University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology, Beyazit TR-34116, Istanbul, Turkey

⁵Consorzio Interuniversitario Nazionale per la Bioncologia (CINBO) CE.S.I. - Università "G. d'Annunzio" Via Colle dell'Ara, 66100 Chieti, Italy

Background: The detoxification of anticancer drugs is carried out by ATP-binding cassette (ABC) transporters including abcc2 also known as mrp2. Abcc2 is expressed in the enterocytes and plays a pivotal role in the excretion of anticancer drugs and their conjugates. Methods: Twenty-four hour rhythms were investigated for the abcc2 mRNA gene expression in

ileum mucosa of male and female B6D2F₁ mice, synchronized to standard lighting conditions (LD12:12). Gene expression was determined with quantitative PCR at 8 circadian times, with ZT0 and ZT12 corresponding to light and dark onsets, respectively. Additionally protein expression of abcc2 was determined with immunohistochemistry and confocal microscopy at four circadian times i.e. ZT0, 3, 12, 15, associated with high or low mRNA expressions in mouse ileum. Results: Abcc2 transcription was largely rhythmic in ileum mucosa in male and female mice with a ~2.5-fold variation (Cosinor: $p=0.0021$ and $p=0.0023$, respectively). Peak mRNA expression of abcc2 in males was determined at the beginning of the dark span (ZT12) and lowest expression was at the beginning of the light span (ZT0). However, in female mice peak level of the expression was observed at ZT9. Confocal microscopy studies revealed that abcc2 protein is localized at the plasma membrane and in some cases at the nuclear membranes in the mucosal part of ileum in both genders. The highest mean abcc2 protein expression in males was observed at ZT12 and lowest value was at ZT15. Mean abcc2 protein expression varied by ~2-fold in females between highest values at ZT12 and lowest ones at ZT3. Statistically significant differences as a function of ZT were validated with ANOVA ($p<0.001$). Conclusions: The results provide the first correlations between circadian expression at mRNA and protein levels of abcc2. Since abcc2 contributes to anticancer drugs detoxifications this rhythm should be considered for individualizing and timing of dose regimen.

Supported by the E.U. through TEMPO (LSHG-ct-2006-037543) and by the Research Fund of Istanbul University (A.O.).

L'Irinotécan entraîne une disruption circadienne en fonction du sexe et du temps d'administration.

Constance Ahowesso^{1,2}, Xiao-Mei Li^{1,2}, Sinisa Zampera⁴, Brigitta Peteri-Brunbäck⁵, Sandrine Du-long^{1,2}, Jacques Beau^{1,2}, Virginie Hossard^{1,2}, Elisabeth Filipksi^{1,2}, Franck Delaunay⁵, and Francis Lévi^{1,2,3}.

1) INSERM, UMR_S776 « Rythmes biologiques et cancers », Hôpital Paul Brousse, 14 avenue PV Couturier, 94800 Villejuif, France

2) Univ Paris-Sud, SO776, 11, Rue Georges Clemenceau, 91405 Orsay, France

3) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Unité de Chronothérapie, Département d'Oncologie Médicale, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

4) Helios Biosciences, Créteil, France

5) Institute of Development Biology and Cancer, University of Nice-Sophia-Antipolis, CNRS, UMR 6543, Nice, France

Plusieurs études indiquent que l'horloge biologique de l'hôte pourrait jouer un rôle important dans le contrôle endogène de la progression tumorale. Environ un tiers des patients atteints de cancer métastatique présentent une perturbation du rythme circadien.

(Suite page 108)

(Suite de la page 107)

Celle-ci est associée à un mauvais pronostic pour la survie (1, 2). Par ailleurs, plusieurs médicaments anticancéreux peuvent perturber la physiologie circadienne et / ou les horloges moléculaires, en fonction de la dose et de l'heure d'administration, (3). Par conséquent, la restauration et / ou la persistance des rythmes circadiens pourrait représenter de nouveaux objectifs dans les traitements des cancers. Nous avons étudié les effets de l'irinotécan sur la physiologie circadienne en fonction du temps d'administration chez les souris ♂ et ♀ de la lignée B6D2F1. L'irinotécan est un inhibiteur de la topoisomérase I efficace contre les cancers colorectaux avancés. Mais son utilisation reste limitée par sa trop grande toxicité. Une dose unique d'irinotécan (50 mg / kg iv) a été administrée aux ZT correspondant au pire ou au meilleur horaire de tolérabilité pour les souris de chaque sexe. Les perturbations de la physiologie circadienne sont évaluées par des enregistrements télémétriques des rythmes d'activité-repos, de température corporelle, par les rythmes de sécrétion de la corticostérone et par les rythmes d'expressions des ARNm des gènes de l'horloge *Per2*, *Bmal1* et *Rev-erba* et des gènes du métabolisme de l'irinotécan *Ugt1a1*, *Ce2*, et *Top1* dans le foie.

L'irinotécan entraîne une disruption des rythmes d'activité repos et de température corporelle avec des perturbations très marquées au pire horaire et minimales au meilleur horaire de tolérabilité. L'irinotécan induit également une hypothermie très marquée (2 fois plus élevée) chez les femelles traitées au pire horaire ($p = 0,002$). L'irinotécan entraîne également une réponse aiguë de la corticostéronémie avec un pic survenant 2h après son administration avec un profil variable selon le sexe. Par ailleurs, les trois gènes de l'horloge sont réprimés de deux à dix fois à l'heure de pire tolérance, alors que leur expression est peu ou pas modifiée à l'heure de meilleure tolérance. Ces modifications sont plus sévères chez les souris femelles. Les expressions des ARNm des gènes impliqués dans le métabolisme de l'irinotécan (*CE2*, *UGT1A1* et *Top1*) demeurent inchangés ou sont réprimés de 1,7 à 3,5 fois selon le sexe et l'heure d'administration de l'irinotécan. Si ces résultats s'appliquent à l'Homme, les perturbations du système circadien induites par l'irinotécan pourraient être minimisées par son administration dans la seconde moitié de la nuit chez les hommes et le matin chez les femmes. Les biomarqueurs circadiens pourraient aider à mieux ajuster l'administration de l'irinotécan.

- 1) Innominato PF, Focan C, Gorlia T, et al. Circadian rhythm in rest and activity: a biological correlate of quality of life and a predictor of survival in patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Res* 2009;69:4700-7.
- 2) Mormont C, Chedouba-Messali L, Chevalier V, et al. Chronomodulated vs standard infusion of irinotecan maintains or alters circadian rest/activity rhythm in patients with metastatic colorectal cancer. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol* 2001 ; abstr. 2200.
- 3) Lévi F, Okyar A, Dulong S, Innominato PF, Clairambault J.

Circadian timing in cancer treatments. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2010;50:377-421.

SYMPOSIUM 9: HOT TOPICS

Modérateur : Jorge Mendoza

Hypothalamic gene expression changes in response to photoperiod and refractoriness in the Siberian hamster (Phodopus sungorus)

Annika Herwig

Université d'Edimbourg UK

Changes in day length control body weight and reproduction in many seasonal mammals. Siberian hamsters lose 30% body weight and cease reproduction when exposed to short days (SD). The physiological transformations result from gene expression changes in the hypothalamus, involving melatonin driven TSH signalling in the pars tuberalis. Our group has identified photoperiod regulated gene expression mostly confined to the hypothalamus and include neurons of the dorsomedial posterior arcuate nucleus (dmpARC), the arcuate nucleus proper (ARC) and tanycytes, cells of glial origin, that line the 3rd ventricle. In the dmpARC and ARC SD like photoperiod alters the expression of genes that have been associated with growth (SRIF), food intake (VGF), neuronal inhibition (H3R) and leptin signalling (SOCS3). In tanycytes components of the thyroid hormone system (DIO2, DIO3, MCT8) as well as structural markers (vimentin, nestin) and the melatonin related receptor (GPR50) change upon exposure to SD. After 28 weeks in SD, Siberian hamsters revert back to their long day (LD) phenotype. This photorefractory state is thought of as an insensitivity to the SD signal, but the central molecular mechanisms involved are hitherto unknown. We investigated gene expression of known photoperiod regulated genes in the hypothalamus of photorefractory Siberian hamsters. After 38 weeks in



(Suite page 109)

(Suite de la page 108)

SD, when hamsters had already re-established their LD phenotype, nestin, vimentin and GPR50 in the tanycytes were still in their SD state, whereas enzymes and transporters of the thyroid hormones system as well as the neuronal genes in the dmpARC and ARC had reverted back to their LD expression. Our data point to a possible role of the hypothalamic thyroid hormone system in the photorefractory response, that might, by regulation of thyroid hormone levels induce neuronal gene expression changes leading to an increase in body weight and recrudescence of the reproductive organs. More detailed analysis need to uncover the precise mechanisms of this response.

No activation of the methamphetamine-induced circadian oscillator in the R6/2 mouse model of Huntington's disease

Marc Cuesta, Juliet Aungier and A.Jennifer Morton

Department of Pharmacology, University of Cambridge, Cambridge UK

A progressive disintegration of the rest-activity rhythm has been observed in the R6/2 mouse model of Huntington's disease (HD). Biological rhythms are controlled by the main circadian clock located in the suprachiasmatic nuclei (SCN), but there are also SCN-independent oscillators such as the methamphetamine (MAP)-induced circadian oscillator (MASCO), that are able to control rhythmicity (even in SCN-lesioned animals). We wondered whether or not MAP, through the MASCO, could restore a rest-activity rhythm in R6/2 mice. We administered a chronic low dose of MAP to both wild-type (WT) and R6/2 mice in constant darkness. In the first few weeks, MAP caused an improvement of the day/night activity ratio in R6/2 mice indicating a stabilisation of the rest-activity rhythm. MAP also slightly delayed the onset of the disintegration of the behavioural rhythm, although it did not prevent the progressive disintegration of the rhythm. However, whereas in WT mice, the presence of a MASCO that expressed its own rest-activity rhythm with a 32h period was confirmed, in R6/2 mice, MAP did not reveal a MASCO in most of the mice tested (>90%). MAP also shortened (rather than lengthened) the behavioral rhythm period length in R6/2 mice. Abnormalities of the dopaminergic system have been observed in HD. Since dopamine plays a central role in MAP effects, this could explain why the MASCO is non-functional in R6/2 mice.

POSTERS

Dissociation entre les profils journaliers de mélatonine et de sulfatoxymélatonine plasmatiques et urinaires : absence de mélatonine plasmatique chez une patiente épileptique.

Bruno Claustrat¹, Laure Peter-Derex², Jocelyne Brun¹ et Françoise Borson-Chazot³

¹ Service d'Endocrinologie,

² Service d'Explorations Fonctionnelles Neurologiques,

³ Fédération d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, France

La mélatonine est principalement métabolisée dans le foie en 6 hydroxymélatonine par le CYP1A2 et à un degré moindre en N-acétyl-sérotinine par le CYP2C19. La 6hydroxy mélatonine est ensuite éliminée sous forme de 6sulfatoxymélatonine (aMT6s). Son profil urinaire est corrélé à celui de la mélatonine plasmatique. Chez quelques sujets normaux, le profil plasmatique de mélatonine est plat, suggérant une absence de sécrétion, mais leurs profils urinaires d'aMT6s n'ont pas été étudiés systématiquement. Nous rapportons le cas d'une patiente chez laquelle un rythme de mélatonine plasmatique aboli est associé à une variation nyctémérale d'aMT6s urinaire.

La patiente âgée de 22 ans présente une épilepsie traitée par lamotrigine ; sous contraception orale (combinaison d'éthinyl-E2 et d'acétate de cyproténone), elle est traitée au citalopram pour syndrome dépressif. Une anorexie et un syndrome de retard de phase (DSPS) surajoutés sont suspectés. Le score est de 29 au questionnaire de Horne, typologie nettement du soir. Ces données cliniques ont conduit à une exploration circadienne (profils plasmatiques de mélatonine, cortisol, GH et prolactine sur prélèvements horaires pendant 24h, température rectale et actimétrie, profil urinaire d'aMT6s sur échantillons recueillis à intervalle de 4h). Les contrôles sont des sujets normaux dans la même tranche d'âge (18 à 30 ans).

L'actimétrie montre un endormissement après minuit, des éveils nocturnes fréquents et un réveil après 9h30. Le profil de température ne présente pas de variation nyctémérale mais des variations épisodiques. Le profil de prolactine est compatible avec un DSPS et les profils de cortisol et GH avec une dépression et/ou une anorexie. Le profil de mélatonine plasmatique est constamment <5 pg/mL, suggérant une absence de sécrétion, au contraire du profil d'aMT6s urinaire qui montre une variation nyctémérale significative, bien qu'à un niveau abaissé. Cette dissociation nous a conduit à déterminer les profils de mélatonine urinaire et d'aMT6s plasmatique. L'aMT6s plasmatique montre un rythme nyctéméral très marqué alors que l'excrétion urinaire de mélatonine est faible, sans variation nyctémérale. Ces résultats suggèrent un hypercatabolisme de la mélatonine en aMT6s, conduisant à l'abolition des variations sanguines. L'influence possible des médicaments doit être prise en considération. L'éthinyl-E2 et le citalopram sont des substrats pour CYP1A2 et CYP2C19 respectivement, dont la présence aurait du augmenter la biodisponibilité de la mélatonine. De plus, le lamotrigine subit une glycuronoconjugaison et non une sulfoconjugaison. Le profil de mélatonine aboli n'est donc pas la conséquence de la prise médicamenteuse.

(Suite page 110)

(Suite de la page 109)

Cette situation clinique montre l'intérêt de déterminer les paramètres urinaires et plasmatiques. Un polymorphisme de CYP1A2 pourrait influencer le métabolisme de mélatonine. La question reste posée de l'efficacité de l'administration de mélatonine pour corriger le DSPS devant cet hypercatabolisme supposé.

Profil circadien chez un patient adulte atteint d'un syndrome de Smith - Magenis : persistance de l'avance de phase

Bruno Claustrat¹, Laurence Kocher² et Jocelyne Brun¹

¹ Service d'Endocrinologie,

² Service d'Explorations Fonctionnelles Neurologiques, Centre Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, France

Le syndrome de Smith - Magenis (SSM) est la conséquence d'une délétion sur le chromosome 17p11.2. Ce syndrome dont l'incidence est de 1 pour 25 000 naissances est sous-diagnostiqué. Les patients présentent un retard mental, des troubles comportementaux (colères incoercibles et autoagressivité prédominantes le matin, somnolence en fin d'après-midi), des lésions organiques et un trouble du sommeil de type avance de phase. La sécrétion de mélatonine est en général inversée chez les patients jeunes (≤ 20 ans) bien que 2 cas présentant une sécrétion normale inhibée par la lumière nocturne aient été rapportés. Jusqu'alors, les données de l'exploration complète du système circadien n'étaient pas disponibles dans la littérature.

Nous rapportons le cas d'un patient adulte de 31 ans atteint de SSM diagnostiqué tardivement (2009). L'exploration inclut la détermination des profils plasmatiques de 24h de mélatonine, sulfatoxymélatonine (aMT6s), cortisol, GH et prolactine sur prélèvements horaires, d'aMT6s urinaire, de température rectale et l'actimétrie ainsi que la polysomnographie (PSG).

L'actimétrie et la PSG montrent le plus souvent un endormissement vers 21h, avec un sommeil lent profond apparaissant très rapidement, et un réveil précoce autour de 3h. Le profil de température montre une variation nyctémérale avec une avance de phase de 3h ainsi qu'une remontée rapide entre 2h et 8h. Le profil de mélatonine plasmatique est inversé, caractéristique du SSM, avec des taux nocturnes indétectables de 24h à 4h. Le profil d'aMT6s est parfaitement corrélé à celui de mélatonine plasmatique. Le profil de cortisol confirme l'avance de phase, le profil de prolactine est biphasique, avec un pic contemporain de l'installation du sommeil et la sécrétion de GH est majeure en début de nuit.

Nous confirmons le phénotype d'avance de phase

dans le SSM chez l'adulte au vu de plusieurs paramètres circadiens (rythme veille-sommeil, température, et cortisol). Le profil d'aMT6s parfaitement superposable à celui de la mélatonine exclut une anomalie du catabolisme de celle-ci. Le phénotype d'avance de phase, en présence de concentrations de mélatonine équivalentes dans la journée (21 à 53 pg/ml entre 7h et 18h), suggère une chronosthésie du système circadien à la mélatonine. En accord avec la courbe de réponse de phase à la mélatonine, le système circadien pourrait répondre préférentiellement le soir à la présence diurne persistante de mélatonine.

Altérations circadiennes des marqueurs du métabolisme du fer au cours d'une exposition à une hypoxie modérée prolongée

Olivier Coste^{1,3}, Pascal Van Beers², Guillaume Chaumet¹, and Yvan Toutou³

¹ Institut de recherche biomédicale des armées, antenne de Toulon, institut de médecine navale du service de santé des armées, 83041 Toulon Cedex, France

² Institut de recherche biomédicale des armées, 91223 Brétigny-sur-Orge Cedex, France

³ Chronobiology Unit, Fondation Ophthalmologique A. de Rothschild, 75019 Paris, France

Background : Les vols de longue durée sur avion pressurisé sont susceptibles de causer un certain nombre de problèmes cliniques en relation avec l'hypoxie modérée résultant de la pressurisation de la cabine. Le but de ce travail est ici d'évaluer l'impact d'une exposition diurne à une hypoxie hypobare prolongée sur les marqueurs classiques du métabolisme du fer, en utilisant une approche chronobiologique. En effet, une modification rapide de ces marqueurs pourrait jouer un rôle important dans les mécanismes à court terme d'adaptation à l'hypoxie.

Méthodes: 14 sujets sains de sexe masculin, âgés de 23 à 39 ans ont été exposés de 08h00 à 16h30 dans un caisson hypobare aux altitudes simulées de



(Suite page 111)

(Suite de la page 110)

8000 pieds (2400 m), puis de 12000 pieds (3600 m). Des prélèvements sanguins sur cathéter veineux ont été réalisés toutes les 2 heures pendant 48 heures, soit pendant 2 nycthémes consécutifs (référence et exposition hypoxique) pour doser le fer sérique, la ferritine et la transferrine.

Résultats: Le profil circadien du fer sérique est profondément modifié pour les 2 altitudes étudiées : une augmentation de la concentration plasmatique est ainsi observée pendant les premières heures de l'exposition hypoxique, suivie d'une diminution pendant la récupération. La concentration moyenne sur 24 heures de la ferritine diminue pour les deux altitudes, tandis que le profil circadien de la transferrine ne présente pas de variations significatives. A 12000 pieds, une avance de phase est observée pour la ferritine, d'autant plus importante que les signes d'inconfort clinique ont été importants lors de l'exposition hypoxique.

Conclusion : L'exposition à une hypoxie modérée prolongée perturbe de façon rapide les profils circadiens des marqueurs du métabolisme du fer. La tolérance initiale à l'hypoxie semble être en mesure d'influencer la position de la phase, en particulier pour la ferritine.

Support : DGA-PEA-contrat d'objectif

Mesure de la sensibilité circadienne à la lumière avec la pupillométrie: données préliminaires

V. Daneault¹, M. Hébert², G. Vandewalle^{1,3}, H. Cooper⁴, M. Dumont¹, C. Gronfier⁴, J. Carrier¹

¹Centre de recherches avancées en médecine du sommeil, Hôpital du Sacré-Cœur et Univ. de Montréal, Montréal, Canada.

²Centre de recherche Robert-Giffard, Univ. Laval, Québec, Canada.

³Centre de recherche Cyclotron, Univ. de Liège, Belgique.

⁴Institut Cellule Souche et Cerveau (INSERM-U846), Lyon-Bron, France.

Plusieurs troubles du sommeil sont associés à un problème de régulation circadienne. Une sensibilité anormale à la lumière pourrait être un des facteurs à l'origine d'une mauvaise synchronisation de l'horloge avec le cycle jour-nuit extérieur. Ainsi, il a été proposé que la diminution de la consolidation du cycle éveil-sommeil chez la personne âgée pourrait être la conséquence d'une faible sensibilité au contraste lumière-obscurité, ou que la phase circadienne tardive des jeunes souffrant de syndrome du sommeil en délai de phase soit associée à une sensibilité accrue à la lumière en soirée. La méthode la plus utilisée pour évaluer la sensibilité du système circadien à la lumière est le test de suppression de la mélatonine, ce qui est une technique trop exigeante et onéreuse pour les applications cliniques. Comme l'entraîne-

ment circadien et le réflexe pupillaire dépendent d'un système de photoréception commun, le réflexe pupillaire pourrait être utilisé pour estimer indirectement la sensibilité à la lumière du système circadien. Nos travaux de collaboration visent à développer un protocole d'utilisation du réflexe pupillaire pour estimer la sensibilité circadienne à la lumière. Ce protocole est basé sur l'exposition à des stimuli d'intensité et longueurs d'ondes variables. Nous présenterons quelques résultats préliminaires obtenus à l'aide de cette technique.

Travaux supportés par IRSC, CRSNG, Fonds France-Canada pour la recherche, Fonds échanges FRSQ/INSERM.



CHRONOBIOLOGIC STUDY OF CIRCADIAN VARIABLES OF MUSCULAR FORCE OF GLASS BLOWERS WHO ARE WORKING IN ALTERNATE SHIFTS

Dr.MD Vlăduț Emanoil

Private Medical Practice, Occupational Medicine Dr. Vlăduț Emanoil

OBJECTIVE: The study of chronobiological behaviour of circadian rhythm (the amplitude, mesor, acrophase, period) of the hands muscular force (HMF) of a shift working glass blower batch (4X6, weekly shifts 5/2), compared with clinical syndrome of alternating shift work intolerance. (chronofatigue syndrome, dys-somnias, digestive disorders).

MATERIAL AND METHOD: Based on an original chronobiological methodology (CoSiNor Method), according to individual clinic tolerance of working in shifts, the author comparative analyzes, the circadian rhythms of the HMF of a batch of 75 glass blowers working in shifts, mean age 34.9 years, ranging between 19 and 48 years and 16.2 average age with the circadian rhythms of HMF of a control batch (group) of 28 glass blowers, mean age 33.2 years, ranging between 19 and 50 years, average age 12.9, working in one shift (in the morning). HMF was determined with dynamometer, in standardized conditions, in or-

(Suite page 112)

(Suite de la page 111)

thostatisms, before and after working, through three consecutive measurements, recording, in individual series of temporary variables, the higher values.

Statistical processing of individual temporary series of HMF was focused on: conventional statistical method: correlation coefficient $-r$, Student test $-t$, χ^2 test, statistical comparison and also the original program of chronobiology COSMEDMILUMAT. I considered the circadian rhythms of HMF when the average circadian amplitude is different from 0 (95%, $p < 0,05$).

RESULTS. DISCUSSION: Using χ^2 test I have not found significant differences of the circadian rhythms of HMF in relation with shift work tolerance (right HMF $\chi^2=0,414$, $p < 0,05$, left HMF $\chi^2=0,583$, $P < 0,05$). Average circadian amplitude of HMF of the subjects from alternating shifts are significantly lower compared with average circadian amplitude of HMF of the glass blowers from the control group. The circadian amplitude of right hand muscular force of the shift workers (dominant hand) correlates significantly with the average circadian amplitude of left hand muscular force (non-dominant) ($r=0,3916$, $t=3,6366$, $p < 0,05$), and the last correlates significantly with Pieron qualitative index.

In the polar diagrams of the acrophasis I found a significantly delay from circadian phase ($t=5,28$, $p < 0,05$) 7 hours ($\Delta\Phi=-7$ h) for circadian acrophasis of right dominant HMF, and 5 hours ($\Delta\Phi=-5$ h) for circadian acrophasis of left nondominant HMF compared with the circadian acrophasis of the subjects from control batch (group).

HMF Circadian period (τ) of the shift glass blowers differ significantly ($t=5,360$, $p < 0,05$) from HMF circadian period of glass blower control batch., but this does not show internal desynchronization (RH $\chi^2=1,897$, $p < 0,05$; LH $\chi^2=1,014$, $P < 0,05$). The circadian period of right dominant HMF significantly direct correlates with the circadian period of left nondominant HMF ($r=0,3703$, $t=3,4059$, $p < 0,05$), with the maximum peak expiratory flow ($r=0,2923$, $t=2,6117$, $p < 0,05$), with the critical frequency of optical fusion ($r=0,2712$, $t=2,4073$, $p < 0,05$) and with quantitative prosexice function. ($r=0,3129$, $t=2,8146$, $p < 0,05$).

The circadian mesor of HMF, although it has normal values for shifts glass blowers, it is significantly lower according with the circadian mesor of HMF glass blowers control batch (group); this one directly correlates with the circadian mesor of respiratory variables (Maximum expiratory flow per second, MEFS, Vital Capacity, VC, Maximum expiratory volume per second Vm, Maximum Ventilation MV).

CONCLUSION: The direct correlation of circadian rhythm (CR) of HMF with CR of respiratory variables proves the timing of these rhythms, following professional requests according with the work of glass blowers who work in alternating shifts.

The absence of internal desynchronization of CR of HMF and the timing of circadian period of right dominant HMF with the left non-dominant hand, and also their timing with the circadian periods of specific neuropsychological stimulation indicators (the optical frequency fusion and quantitative prosexice function) highlights the existence of circadian oscillators, with cortical localization on the glass blowers batch, which are synchronous governing, by coupling all these circadian rhythms.

The circadian rhythms of dominant and non-dominant muscular force correlates directly and synchronizes, which shows the existence of a common oscillatory circadian of these rhythms cu cortical integration.

Keywords: Hands muscular force, Circadian variables, Shifts work

Restoring Functional Vision Following Retinal Gene Therapy using Melanopsin

Guy Gingras^{1,2} and Howard M Cooper^{1,2}

1INSERM U846, Stem-Cell and Brain Research Institut, Bron, France,

2 Université de Lyon, Lyon 1, UMR-S 846, 69003 Lyon, France

In retinal pathologies, the loss of rods and cones, the photosensitive cells of the retina, results in irreversible visual impairment and blindness. However, the retina contains a third class of inner retinal photoreceptors comprised of ganglion cells that express melanopsin, a light-sensitive invertebrate-like opsin protein. Melanopsin is mainly involved in non-visual responses to light (photoc synchronization of circadian rhythms, pupil reflex, hormonal secretions). Moreover, it has been shown that when melanopsin is expressed in non-light sensitive ganglion cells, these cells can be converted into photosensitive cells capable of restoring vision in blind mice. The goal of the research project described here is to validate this novel and promising approach to restore functional vision in non-human primates when rod and cones are unable to convey the visual information to the brain. First, the animals will be trained on a battery of visual tasks before photoreceptor invalidation following administration of pharmacological synaptic blockers. Second, these animals will then be tested on these same visual tasks to assay the efficacy of retinal deactivation. Subsequently to bilateral recombinant adeno-associated viral (rAAV) injection containing human melanopsin cDNA into retinal ganglion cells of the animals, recovery of vision will be assessed both behaviorally, using 2 alternative forced-choice discrimination task, and physiologically, using blood oxygen level dependent functional magnetic resonance imaging (BOLD fMRI). Finally, at the end of the experiments, the retinas of the animals will be examined to determine the qualitative and quantitative localization of melanopsin-expressing retinal ganglion cells. These studies conducted in non-human primates should pave the way to future clinical trials

(Suite page 113)

(Suite de la page 112)

in patients suffering from retinal diseases while offering a viable therapeutic solution to restore functional visual abilities in blind patients.

Support: ANR (ANR-09-MNPS-040). Fondation Neurodis, EUCLOCK (EU FP6 project 018741), Rhône-Alpes Cible, UNADEV, Retina France.

Traduction contrôlée par l'horloge circadienne dans le foie chez la souris.

Céline Jouffe

Département de Pharmacologie et Toxicologie, Université de Lausanne, CH-1005 Lausanne, Suisse.

Chez les mammifères, l'horloge circadienne joue un rôle fondamental dans le foie en régulant le métabolisme des acides gras, du glucose et des xénobiotiques. La perte de ce rythme entraîne diverses pathologies notamment le syndrome métabolique. Il est supposé que l'horloge circadienne régule le métabolisme principalement en régulant l'expression d'enzymes hépatiques au niveau transcriptionnel. Nous avons aujourd'hui des preuves que les régulations post-transcriptionnelles jouent également un rôle important dans cette régulation. En particulier, de récents résultats de notre laboratoire montrent que l'horloge circadienne peut synchroniser la traduction des ARNm dans le foie de la souris via une activation rythmique de Target Of Rapamycin Complex 1 (TORC1). A partir de cette observation inattendue, nous avons identifié des ARNm traduits de façon rythmique dans le foie de souris et plus généralement dans le génome en appliquant la technologie des puces à ADN pour une analyse des ARN polysomaux. Cette étude permet d'identifier des centaines de protéines traduites d'une manière rythmique, l'expression de leurs ARNm restant constante. Si ces ARNm codant pour des protéines impliquées dans différentes voies de signalisation sont traduits lors de différentes phases, nous avons trouvé un fort enrichissement de protéines impliquées dans la synthèse protéique et dont la traduction commence à ZT8, avant le début de la période d'alimentation des souris. Il semble ainsi que l'horloge circadienne permet l'anticipation de la synthèse protéique massive qui a lieu quand une grande quantité d'acides aminés disponibles, provenant de la nourriture, en stimulant la traduction des protéines impliquées dans le système de synthèse protéique avant le début de la période d'alimentation.

Modelling the effects of prior light exposure on melanopsin responses to light

Petteri Teikari^{1,2}, Ludovic S. Mure^{1,2}, Howard M. Cooper^{1,2}

¹INSERM, U846, Stem Cell and Brain Research Institute, Department of Chronobiology, F-69500, Bron, France ;

²University of Lyon, Lyon I, UMR-S 846, 69003, Lyon, France

In bistable photopigment systems, light elicits photosensory responses and drives photoregeneration of the chromophore to restore photic responsiveness.

Melanopsin in the human retina has been shown to express bistable properties both *in vitro* and *in vivo* (Melyan et al 2005; Mure et al, submitted). These studies have shown that prior light exposure can modulate the amplitude of subsequent photic responses of melanopsin. In the present study, we attempt to model the capacity of the melanopsin photopigment system to respond to light following adapting pre-exposures to different light sources. We modelled the responses of the melanopsin photopigment system based on data for the equilibrium and difference spectra of melanopsin obtained by Mure et al in our laboratory, from studies of the human pupillary light reflex. Light spectra of broadband natural and artificial light sources were used to generate prior light stimulations to drive the melanopsin system to a defined state of equilibrium. Theoretically, this corresponds to the proportions of melanopsin isoforms in the *11-cis* and *all-trans* retinal bound states. Mono- or polychromatic spectral templates were subsequently applied to examine the modulation of photic responsiveness. The results suggest that prior exposure to light sources dominated by long wavelength light increase the ability of the melanopsin system to respond to subsequent light exposures, while light sources dominated by shorter wavelength light decrease the response. Exploiting the bistable properties of melanopsin could allow for optimization of spectral light distribution in industrial, domestic and clinical phototherapy applications by appropriate use of the potentiating effects of long wavelength light.

Support: ANR (ANR-09-MNPS-040). Fondation Neurodis, EUCLOCK (EU FP6 project 018741), Rhône-Alpes Cible, UNADEV, Retina France.

**42^{ème} Congrès de la
Société
Francophone
de Chronobiologie**

**La Colle sur Loup
8-11 septembre 2010**

Organisateurs: Franck Delaunay et Howard Cooper

Comité scientifique

Xavier Bonnefont, Howard Cooper, Olivier Coste, Franck Delaunay,
Elisabeth Filipksi, Claude Gronfier, Jean-Christophe Leloup,
Valérie Simonneaux, Michèle Teboul



LE CONGRÈS
DU
SOMMEIL®
www.lecongresdusommeil.com

LE CONGRÈS DU SOMMEIL®

Poitiers-Tours 2010

Du 18 au 20 novembre

Centre International de Congrès Vinci-Tours

Programme - Inscription
Appel à communication
Réservation hôtelière - Bourses
Informations générales
Sur le site :
www.lecongresdusommeil.com

Conception : Congrès France Diétète 2010


SFRMS
Société Française de Recherche Métabolique et Nutritionnelle

SPE

La Société
de Pneumologie
de Langue
Française

Chronobiologistes...

encore un effort pour vos contributions à Rythmes.

Vous devez participer à la vie de la Société Francophone de Chronobiologie en envoyant vos contributions à Fabienne Aujard, rédactrice en chef de 

Seules sont acceptées les contributions sous forme informatique, textes et figures, noir et blanc et couleurs. Cela assure la qualité de ce qui est produit, d'autant plus appréciable si vous optez pour la lecture électronique, qui, elle, est en couleurs !

Vous devez envoyer vos contributions en document attaché. Les fichiers seront préférentiellement sauvegardés au format *.doc, *.rtf, ou *.txt après avoir été produits par un traitement de texte standard. Pour tout autre format que ces formats répandus, nous consulter.

Il est impératif de nous faire parvenir un fichier texte sans retours à la ligne multiples, tout en conservant l'accentuation. De même, ne mettez pas de lignes blanches pour marquer les paragraphes ni mises en page complexes, que nous devons de toutes façons changer pour rester dans le style du journal.

Les images pourront être en tiff, bmp, gif, jpeg, jpg ou png. Rythmes est mis en page sur un PC, donc les formats PC sont préférés, car cela évite des manipulations.

Enfin, vous enverrez vos contributions par courrier électronique à fabienne.aujard@wanadoo.fr avec copie à jean-francois.vibert@upmc.fr et jacques.beau@inserm.fr.

Fabienne Aujard
Jacques Beau
Jean-François Vibert

Société Francophone de Chronobiologie

Président	Bruno Claustrat bruno.claustrat@chu-lyon.fr
Vice président	Howard Cooper howard.cooper@inserm.fr
Secrétaire générale	Ouria Dkhissi-Benyahya ouria.benyahya@inserm.fr
Secrétaire adjointe	Sophie Lumineau Sophie.Lumineau@univ-rennes1.fr
Trésorière	Fabienne Aujard fabienne.aujard@wanadoo.fr
Trésorier adjoint	Franck Delaunay franck.delaunay@unice.fr

Les articles publiés dans ce bulletin reflètent l'opinion de leurs auteurs, et en aucun cas celle de la Société Francophone de Chronobiologie.

Ont contribué à ce numéro

F. Aujard
J. Beau
E. Challet
B. Claustrat
O. Dkhissi-Benyahya
S. Lumineau
J. Mandoza
P. Pévet
A. Tixier-Vidal
J.-F. Vibert

Rythmes est édité par la Société Francophone de Chronobiologie, Siège Social : Faculté des Sciences et Techniques. Laboratoire de Biologie Animale et Appliquée, 23 rue du Dr Paul Michelon, 42023 Saint-Étienne Cedex 2. Directeur de la publication : Bruno Claustrat. Rédactrice en chef : Fabienne Aujard. Comité de rédaction : Fabienne Aujard, Jacques Beau, Jean-François Vibert. Réalisation : Jacques Beau et Jean-François Vibert. Impression : Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.

Site Web : <http://www.sf-chronobiologie.org> Numéro ISSN 0154-0238.