

# RYTHMES

## Éditorial

### *Une nouvelle étape ! Tous les membres de la SFC deviennent membres de l'EBRS*

Il y a quelques semaines, à Frankfort en Allemagne, environ 250 chronobiologistes du monde entier étaient réunis pour le 10<sup>e</sup> congrès de la «European Pineal and Biological Rhythms Society». La qualité des participants comme celle des présentations et des posters était remarquable et tous les membres de la SFC présents pourront attester du très haut niveau scientifique de ce meeting. Ce succès est important et nous concerne tous.

Cette société a achevé son évolution, commencée il y a de nombreuses années, et sa transformation en « European Biological Rhythms Society » (EBRS) a été actée lors de l'Assemblée Générale à Frankfort le 5 septembre 2005. La disparition du mot « Pineal » a été douloureuse pour certains et nostalgique pour d'autres, mais qui aujourd'hui pourrait nier que la pinéale, même si elle est au cœur du système (vous comprendrez que je ne puisse être totalement objectif...) n'est qu'un élément parmi d'autres de la machinerie complexe utilisée par les êtres vivants pour intégrer le temps et induire les rythmes biologiques? Ce changement de dénomination indique bien l'ambition de cette société : à savoir, réunir et représenter l'ensemble des européens qui travaillent dans le domaine des rythmes.

Nous, chronobiologistes francophones, avons anticipé cette évolution en décidant en avril 2005 à Strasbourg, lors de notre Assemblée Générale, de proposer une affiliation de la SFC à l'EBRS. Notre proposition avait pour objet, tout en protégeant notre communauté, de permettre à tous les membres de la SFC d'être partie prenante des grandes évolutions qui se dessinent sous nos yeux depuis plusieurs années. J'ai défendu cette proposition de notre société devant le conseil d'administration de l'EBRS. Les discussions ont été longues, non suite à des oppositions de principe, mais plutôt pour garantir le succès de cette première affiliation qui, bien évidemment, sera le modèle pour les affiliations futures d'autres sociétés nationales. Notre conseil d'administration avait, je crois, bien travaillé car, in fine, notre

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

## Sommaire

**Éditorial** 61

### Articles :

Ai-je découvert quoi que ce soit en chronobiologie ?

*A. Reinberg* 65

Les Récepteurs Nucléaires dans le Système Circadien.

*F. Guillaumond* 71

Des horloges du matin et du soir dans le cerveau de la drosophile.

*F. Rouyer* 76

### Annonces de congrès :

Pineal Gordon conference 62

European Sleep Research Society 79

Meeting of the EORTC Chronotherapy Group 75

### Rubriques :

Notre site Web 63

Mise à jour de l'annuaire électronique 64

Chronobiologistes... 80



proposition a été retenue sans aucune modification. Le président de l'EBRS a ensuite présenté cette proposition devant les membres de l'EBRS réunis en assemblée générale. Elle a été votée à l'unanimité et il a été décidé de faire une analyse détaillée des conséquences pour les deux sociétés dans trois ans lors du prochain congrès de l'EBRS.

Concrètement donc, tous les membres de la SFC, tout en ne payant qu'une seule cotisation (à la SFC), deviennent automatiquement membres à part entière de l'EBRS. C'est la SFC qui versera à l'EBRS un pourcentage des cotisations perçues. Pour cette première période de trois ans, le chiffre retenu sera de 10% des cotisations.

Il va sans dire que je suis extrêmement satisfait de cette évolution, et surtout du fait que la SFC en ait été l'initiatrice. Suite à cette initiative, un modèle pour les autres sociétés nationales, l'EBRS devient encore plus représentative de l'ensemble de la communauté européenne. Très vite, l'EBRS aura un poids scientifique similaire à celui de la SRBR, la société de nos collègues Nord-américains, et ensemble nous pouvons espérer multiplier des actions communes.

Comme je l'avais souligné dans mon éditorial précédent, l'évolution importante des bases conceptuelles de la chronobiologie, consécutive aux récents progrès technologiques, font que notre discipline est en pleine métamorphose. Ceci, nous ne devons pas l'oublier, est la conséquence des efforts de nos aînés. Nous pouvons être reconnaissants à tous ceux qui, pendant de longues années, ont mené les travaux de chronobiologie malgré une certaine indifférence générale. En France, la SFC a été un acteur important et joue maintenant un rôle majeur pour représenter les plus actifs de notre discipline. Encore une fois, je souhaite que nous allions plus loin et, en particulier, que nous puissions regrouper dans la SFC toutes les forces vives de notre discipline.

*Nota : en 2008, le 11<sup>ème</sup> congrès de l'EBRS sera organisé à Strasbourg.*

**Paul Pévet**  
**Président**

## *GORDON RESEARCH CONFERENCES: Pineal Cell Biology*

*January 15-20, 2006 Santa Ynez Valley Marriott, Buellton, CA*

The **Gordon Research Conferences** provide an international forum for the presentation and discussion of frontier research in the biological, chemical, and physical sciences, and their related technologies.

<http://www.grc.org/>

Pour la conférence **Pineal Cell Biology**

Chair: **Gregory M Cahill**

Vice Chair: **Jorg H Stehle**



Santa Ynez Valley Marriott  
Buellton, CA USA

<http://www.grc.org/programs/2005/chrono.htm>

# 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 fi-

## 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.

che. 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

## VOS COORDONNEES ACCESSIBLES SUR LE SITE DE LA SOCIETE FRANCOPHONE DE CHRONOBIOLOGIE

M, Mme ou Mlle, Prénom, Nom :

Titres, fonctions :

Adresse :

Tel:

Fax:

Adresse électronique :

Mots clefs :

**Pensez à actualiser vos données !**

**avec ce formulaire pour une première inscription ;  
en ligne sur le site pour une modification.**

**(voir page 63 pour la procédure sur le site)**

### Envoi du Journal RYTHMES

De par votre adhésion à la SFC, vous bénéficiez automatiquement et gratuitement de l'abonnement à RYTHMES. Les numéros des années précédentes sont en accès libre sur le site Internet de la Société, mais les numéros de l'année en cours vous sont envoyés personnellement. Jusqu'à présent, l'envoi sous version papier était majoritaire. Cependant, afin de réduire le coût de l'impression et de l'envoi par courrier postal, nous proposons d'instaurer systématiquement un envoi par courrier électronique (en version couleur). Toute personne souhaitant **conserver** l'envoi sous version papier est priée de cocher la case correspondante ci-dessous. Si vous optez pour la version électronique, il est impératif que vous fournissiez une **adresse de courrier électronique** valide. En cas de non réponse de votre part, l'envoi par courrier électronique sera fait par défaut à partir de début 2005 à toute personne ayant déjà fourni son adresse électronique. Merci d'avance de nous permettre de communiquer au mieux avec l'ensemble des membres de la SFC.

Souhaitez-vous recevoir la version électronique (*préférable* <sup>1</sup>)  <sup>2</sup>

ou la version papier de RYTHMES  <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dans ce cas, n'oubliez pas de fournir une adresse électronique ci-dessus

<sup>2</sup> Cocher la case correspondant à votre choix

**A renvoyer à :**

**Etienne CHALLET**, Secrétaire Général de la SFC  
Laboratoire de Neurobiologie des Rythmes  
CNRS UMR7168/LC2, Université Louis Pasteur  
5 rue Blaise Pascal, F-67084 STRASBOURG Cedex, France  
Tel: (+33) (0)3 88 45 66 93  
Fax: (+33) (0)3 88 45 66 54  
e-mail: [challet@neurochem.u-strasbg.fr](mailto:challet@neurochem.u-strasbg.fr)



## AI-JE DÉCOUVERT QUOI QUE CE SOIT EN CHRONOBIOLOGIE ?

Alain REINBERG

Unité de Chronobiologie. Fondation A. de Rothschild., 29 rue Manin. 75940 Paris Cedex 19.  
areinberg@wanadoo.fr

### INTRODUCTION

Paul Pévet et la SFC ont demandé à Yvan Touitou de raconter ma vie scientifique, à l'occasion de la réunion de Strasbourg, en avril 2005. Ce fut ma fête, tant les paroles d'Yvan furent chaleureuses, simples et pleines d'humour. Celles de Paul aussi. Je pensais qu'ainsi, tout était dit, lorsque Juan Antonio Madrid (Université de Murcie) m'a demandé, pour le livre dont il prépare l'édition, un papier faisant état des mes « découvertes » en chronobiologie, pour le publier avec le chapitre que j'avais écrit à sa demande. Afin de m'inciter à donner mon accord, Juan Antonio me faisait savoir que tous auteurs sollicités avaient accepté de rédiger, le dit papier, à la première personne. Qu'avais-je découvert ? Chaque année, le CNRS m'avait demandé de répondre à cette question sous la forme d'un rapport d'activité. Publier ou périr, c'était une condition de survie pour l'Unité (CNRS N°105) que je dirigeais. S'agissait-il de découvertes ?

L'exercice que m'imposait mon collègue espagnol m'avait mis dans un bel embarras. Il fallait tout reprendre. Qu'est-ce qu'une découverte ? Je n'en sais rien. Qui est un « découvreur » ? Probablement un prestidigitateur qui sort un lapin vivant d'un chapeau claqué inévitablement vide. Dans cette sorte de magie, il y a toujours un truc. L'histoire de nombreuses découvertes en chronobiologie m'apparaissait comme résultat d'un ensemble de travaux plutôt que celui d'une œuvre individuelle. De plus, je savais qu'une partie de cette histoire restait cachée car elle n'a sa place ni dans un rapport d'activité de chercheur, ni dans une publication scientifique, même dans sa partie consacrée à la discussion des résultats. L'auteur est obligé d'adopter un ton sérieux, un langage choisi et, bien entendu, ne doit rien dire du non-dit.

Avis au lecteur : Ce texte n'est ni un rapport, ni un article. Merci aux éditeurs de « Rythmes » de m'avoir donné cette liberté d'écriture.

### SE BATTRE POUR LA CHONOBIOLOGIE

Mon but essentiel, dans les années 60, n'était pas d'être perçu comme un « découvreur » potentiel mais comme un chercheur qui se bat efficacement, à coup de résultats solides, pour la reconnaissance de la chronobiologie comme nou-

veau domaine scientifique. Nous n'étions guère nombreux à explorer exclusivement, les rythmes biologiques. Certains affirmaient que nous faisons dans l'astrologie ou, pire encore, dans le « biorythme », une méchante machine à pomper les sous des gogos.

En France, le « nous » comprenait le noyau dur des chercheurs qui fondèrent le Groupe d'Étude des Rythmes Biologiques, aujourd'hui la SFC. C'était, entre autres, un moyen collectif de défense d'une espèce de chercheurs qui se sentait en danger. J'insistais, en toutes circonstances, sur le caractère de nouveauté des résultats obtenus en chronobiologie humaine. Le temps devait être pris en considération dans toutes les sciences de vie, y compris la médecine. Cela suggérait des découvertes, pour justifier la confiance, peu à peu croissante, que le CNRS me manifestait, mais surtout pour convaincre mes maîtres et mes pairs de l'importance de la dimension temporelle pour une meilleure compréhension de la physiologie, de la pathologie et de la thérapeutique.

En 1957, nous pensions, Jean Ghata et moi, que suffisamment de preuves expérimentales avaient été accumulées pour pouvoir déclarer que « l'activité rythmique est une propriété fondamentale de la matière vivante » (1). Référence était faite aux rythmes ultradiens et circadiens dont les propriétés révélaient de frappantes similitudes : caractère endogène, stabilité de la période, etc. Ce faisant, nous généralisons la proposition de neurophysiologistes comme A. Fessard (2) et mon maître H. Cardot, faite en 1936 : « le processus rythmique est le mode normal d'activité de tous les systèmes excitables ». Ce qui est banal en 2005 ne l'était pas en 1957. Ceux qui revisitent les rythmes font rarement état de la contribution de neurophysiologistes comme Fessard et Cardot.

### QU'EST-CE QUE DÉCOUVRIR ?

Il faudrait remonter à Platon et Aristote et discuter de l'aspect métaphysique de la connaissance scientifique. Ils enseignaient que le puzzle de l'inconnaissable est illimité et que l'homme doit se contenter d'en découvrir laborieusement de petites pièces. Maintenant, certains philosophes comme O. Hamelin, remplacent la notion d'un inconnaissable par celle, plus dynamique, de la construction synthétique du monde qui marche-

rait au pas du renouvellement des théories et des expériences probantes.

Dans un couloir de l'ancienne Fac de Médecine de Paris on peut admirer la statue d'une jolie femme qui débute, par le haut, une sorte de strip-tease. Tout bonnement : « La Nature se dévoilant devant la Science ». N'est-ce pas là suggérer qu'on a beau découvrir, le plus intéressant reste caché ?

Pour Littré, le premier sens de « découvrir » est : ôter ce qui couvrait une chose ou une personne. Le sens scientifique du terme n'occupe que le quatrième rang, avec Newton comme exemple.

Pour Alain Rey, « découvrir » (vers 1120) vient du bas latin, avec le sens abstrait de « révéler, montrer » dans un contexte religieux. Puis il saute à Montaigne (1580) : « faire connaître le premier une chose ignorée ». Voilà qui me plait, car cette définition peut renvoyer à l'illusionniste. Celui qui fait connaître la chose est-il toujours celui qui, le premier, la trouve ?

La spécialisation scientifique du terme semble dater du XIX<sup>e</sup> siècle : « établissement d'une vérité par la science ». En 2005, cette noble définition est devenue contestable (3).

Le mythe du génial chercheur isolé est entretenu par la BD comme par le comité Nobel et avec la même fantaisie. En 1926, J. Fibiger fut couronné, en Suède, pour la découverte de l'origine parasitaire du cancer. Le coupable était un vers rond au nom bizarre. Ah ! la sale bête.

Même pour une découverte majeure, comme celle de la structure en double hélice de l'ADN, le rôle exclusif de J. Watson et F. Crick (Prix Nobel 1962) est aujourd'hui mis en doute (4). Le modèle, proposé par ces auteurs n'a pu être bâti qu'à partir des résultats de Oswald Avery (il montre, en 1944, que l'ADN est le constituant essentiel du chromosome) et de ceux de Rosalind Franklin, « The Dark Lady of DNA » (5), qui obtint les clichés de diffraction aux rayons X. Pourquoi ces deux derniers n'ont-ils pas le même crédit que les lauréats ? « Les historiens [des sciences] préfèrent les révolutions scientifiques et les controverses bruyantes entre acteurs médiatiques » remarque M. Morange (4).

### **LES ÉPIGONES D'EINSTEIN À LA RECHERCHE DU TEMPS PERDU**

C. Pittendrigh (6), J. Aschoff (7) et moi (8,9) faisons partie des rares chronobiologistes à prendre une certaine distance pour mieux situer la nouveauté et l'originalité de notre discipline.

J'ai été invité à une demi-douzaine de conférences sur le Temps qui réunissaient des philosophes, des physiciens, des cosmologues...

Souvent, je fus le seul biologiste. Par rapport à ces spécialistes, brillants et charmants, j'ai parfois eu le sentiment d'être le déshérité. Disciples de Platon, ils naviguaient à l'aise dans le Monde des Idées, conçues *a priori* comme l'est une construction mathématique, alors que je ramais dans le Monde sublunaire d'Aristote, celui de l'intelligibilité de ce qui est sensible. Le temps du vivant, dont je parlais, n'avait plus rien de commun avec le temps de tous mes collègues physiciens pour la simple et bonne raison que ces derniers l'avait écrabouillé au point de le rendre méconnaissable.

Le biologiste explore des phénomènes très complexes et pense de manière multifactorielle, alors que le physicien se débarrasse de quantité de facteurs, l'idéal étant de n'en garder qu'un, en le purifiant au besoin. Le physicien s'exprime en langage mathématique, ce que ne peut faire le biologiste. « Tout phénomène naturel est un langage mal compris » déclare R. Thom. Pour S. Hawking (10) on ne connaît pas encore la modélisation mathématique (le langage) des lois fondamentales de la biologie.

Il y a plus de mille livres sur le temps. Les auteurs de tous ceux que j'ai lu encensent, à juste titre, Newton et Einstein mais se gardent bien de souligner que ces deux hommes de génie ont tué le temps. Avec mes rythmes et mes cycles, avec mon p'tit vélo de chronobiologiste, j'avais l'air de quoi, ma mère ? Ce non-dit me tarabustait, si bien que j'ai écrit, à mon tour, deux essais sur le temps (8, 9) revendiquant pour notre discipline la part du discours qui me semblait lui revenir.

Dans le modèle de gravitation universelle, inventé par Newton, la force d'attraction dépend de la masse et de la distance entre les corps. Le temps disparaît, ce qui embête un peu l'amateur de pommes qui chutent. Alors, il fait intervenir un « temps absolu » pour décrire le mouvement d'un objet dans l'espace. Le temps devient continu si bien, qu'en conséquence, on ne distingue plus « l'avant » de « l'après », qu'on passe du passé au futur et du futur au passé comme sur des roulettes. Du même coup le principe de causalité disparaît, et voilà le biologiste privé d'un « instrument » indispensable à son raisonnement. Einstein, dans le modèle de la relativité générale, élimine radicalement le temps, comme entité indépendante. Le voilà lié à l'espace dont il ne peut plus se distinguer. Un espace énorme et un temps réduit à sa plus simple inexpressivité.

La lecture de S. Hawking m'a convaincu du fait que je ne pouvais rien comprendre à la beauté de cette théorie unificatrice et à sa formulation mathématique. Ceux qui le peuvent ne représentent que 0.1% de l'humanité. Cela fait 99,9% de pauvres ignares, y compris, bien sûr, les biologistes

(Suite de la page 66)

et les philosophes. Le temps, raconte Hawking, est devenu « imaginaire », un concept mathématique bien défini qui fait appel aux nombres du même nom. Un nombre « réel », positif ou négatif, élevé au carré, donne toujours un nombre positif. Un nombre « imaginaire » a un carré négatif. Le temps imaginaire est un petit bidule perdu dans un univers qui passe de quatre à deux dimensions. C'est un peu comme le sourire du chat du Cheshire, un sourire qui persiste, aux yeux d'Alice, quand le chat disparaît au Pays des Merveilles de Lewis Carroll. La pensée de Hawking m'inquiète. Ce super physicien sait tout, car seul un super physicien est capable de comprendre le temps et tout le toutime. Il se croit donc en position d'imposer sa conception du temps aux 99,9% des Cros-Magon microcéphales. « Il semble clair... [ écrit-il ] que la vie, telle que nous la connaissons, ne peut exister que dans les régions de l'espace-temps dans lesquelles une dimension du temps et trois dimensions de l'espace ne soient pas fortement enroulées sur elles-mêmes ». C'est éblouissant de clarté ! Je ne suis pas le seul à s'être affranchi de cette dictature intellectuelle. Des philosophes, comme Claudine Tiercelin, écrivent en 2005 : « Si tout ce qui existe est physique, comment quelque chose peut-il émerger qui soit radicalement nouveau ? » (41).

Heureusement, on peut être physicien et s'intéresser au temps et à la chronobiologie. C'est le cas de Jean De Prins qui aida de nombreux membres du GERB à mieux analyser les séries temporelles qu'ils obtenaient. Jean nous a appris que beaucoup de mathématiciens se sentaient plus à l'aise dans les systèmes linéaires que dans les systèmes qui ne l'étaient pas. Dans le domaine du non linéaire leur préférence s'est portée sur les fonctions circulaires (lignes trigonométriques) qui leur permettent de retomber dans le linéaire. Une des conséquences de cela est un manque d'outils statistiques utilisables par les chronobiologistes qui doivent analyser des phénomènes non linéaires. En 1967, Franz Halberg m'avait convaincu de l'intérêt de la méthode du cosinor qu'il venait d'inventer (11). Les conseils, formulés par De Prins (12) et présentés au GERB, m'apprirent à utiliser cet outil de façon prudente et pertinente.

### **UNE DÉCOUVERTE, DES DÉCOUVEURS**

Il y a eu plus de chercheurs au XX<sup>e</sup> siècle que dans toute l'histoire de l'humanité. C'est aussi vrai en chronobiologie, suivant J. Aschoff (7). Il existe donc, de nos jours, une grande probabilité de rencontrer non pas un mais plusieurs chercheurs (ou groupes de chercheurs) qui revendiquent la même trouvaille. Mais, lorsque plusieurs chercheurs et chercheuses sortent en même temps de leur baignoire en criant « Euréka ! », n'est-ce pas un plus pour la découverte ?

En 1954, F. Halberg (13) propose le concept de synchroniseur et J. Aschoff (14) celui de Zeitgeber. Les donneurs de temps étaient découverts simultanément. Des auteurs, en 1964, avaient rapporté que le mâle humain, adulte et jeune n'avait pas de rythme journalier de la testostérone (T) plasmatique. Cette exception spécifique était surprenante. Avec F. Dray et J. Sébaoun (15) nous avons utilisé la méthode assez sophistiquée de la double dilution isotopique pour valider un rythme de 24h de la T libre chez l'homme adulte sain. De tous mes papiers, c'est le plus cité. Pourquoi ? Bien malin celui qui peut répondre. Certes, il a fallu attendre la simplification des méthodes de dosage pour que ce résultat soit largement confirmé. En fait, il ne suffit pas de rapporter une trouvaille scientifique, il faut qu'elle soit vérifiée par d'autres, pour asseoir sa crédibilité.

Elliot Weizman m'a raconté une histoire qui ne manque pas de sel. En 1970, il met au point une méthode de cathétérisme veineux qui permet la collecte du sang toutes les quelques minutes, pendant 24h, afin d'y doser le cortisol. Il découvre que, chez l'humain, l'hormone n'est pas sécrétée entre minuit et 04.00h. Le papier qu'il envoie au J Clin Endocr & Metab est refusé. Fort mécontent, il se rend au labo de son ami Hellman, un biochimiste réputé, et lui sort : « J'aimerais bien connaître le fils de chienne qui prend mon travail pour de la bouse de vache ! ». « C'est moi », répond Hellman. Et de s'expliquer. Comment le cortisol plasmatique, indispensable à la vie, peut-il tomber à zéro, pendant la moitié de la nuit ? Ils décident de refaire la manip ensemble et, comme la découverte se vérifie, Hellman devient le co-auteur d'une nouvelle version du papier qui, cette fois, est accepté (16).

L'acquisition de méthodes relativement plus simples de dosages hormonaux facilitait l'étude des rythmes saisonniers, à partir de rythmes journaliers échantillonnés sur plus d'un an chez les mêmes sujets. Nous avons alors pu quantifier les variations annuelles de diverses fonctions endocriniennes, entre autres celles du testicule humain (17). Par la même occasion nous avons étudié les rythmes de l'activité sexuelle des mêmes sujets, coïts et masturbations (18).

Les rythmes annuels de la T et de l'activité sexuelle d'oiseaux et de mammifères varient de façon à peu près similaire (19). Il en va de même pour le mâle humain (17,18). Ce sont des recherches difficiles à réaliser si bien que notre « population » se limitait à 5 sujets, ce que nous annonçons dans les titres. Que faire pour vérifier ce cycle comportemental du mâle humain ? Michael Smolensky me proposa d'étudier les rythmes des viols déclarés à Houston et à Paris, en coopérant avec les polices de ces deux villes. Des résultats très cohérents furent obtenus

(Suite page 68)

(Suite de la page 67)  
(20).

Nous étions satisfaits puisque nos deux équipes respectives découvraient la même chose, en même temps. En écumant la bibliographie nous avons aussi découvert l'existence de trois publications, précédant la nôtre, dont celle de A. Leffingwell qui étudia les « offences against chastity » de 1880 à 1884 dans la très prude Angleterre victorienne. Heureusement, la similitude de tous les résultats était très grande (20). Moralité (?) si l'on veut absolument être classé le premier, il n'est pas recommandé de se plonger à corps perdu dans la mer des références.

En 1959, E. Haus et F. Halberg (21) décrivent un rythme journalier de la susceptibilité de la souris à l'éthanol. Ils ouvrent la voie de la chronotoxicologie. En 1968, L. Scheving et al (22) ouvrent celle de la chronopharmacologie en décrivant le rythme journalier des effets d'un barbiturique chez le rat. En 1964, lors d'une réunion de l'OTAN, organisée par J. Aschoff, j'étais le seul à présenter un travail de clinique expérimentale. Il concernait le rythme journalier de la réactivité de la peau humaine à l'histamine (23). Plusieurs années après, je rencontrai K. de Vries en Hollande. Il m'apprit, qu'en 1962, il avait découvert la même chose en prenant la bronche humaine comme système cible (24). J'ignorais que de Vries m'avait grillé. Mon seul avantage sur lui restait d'avoir montré que ce rythme de chronosusceptibilité avait des relations temporelles avec les variations circadiennes de l'activité corticosurrénalienne.

En 1974, lors d'une réunion en Italie, je tentais, dans un rapport, de disséquer les mécanismes de la chronopharmacologie clinique (25). J'ai proposé de considérer, d'un côté, la chronocinétique d'un agent et, de l'autre côté, la chronesthésie (ou chronopharmacodynamie) du système cible à cet agent (25). Pour ce faire, je puisais beaucoup d'exemples dans nos résultats obtenus depuis 1967. À la même réunion, Halberg proposa les mêmes concepts sous des noms divers (26). Sa tactique était de pondre un néologisme à chacune de ses trouvailles, ce qui, ensuite, lui permettait de ne pas citer les autres, dont j'étais. Bof ! Le plus important était de faire accepter ces concepts par la communauté scientifique par l'apport de nouveaux résultats expérimentaux. Des conférences invitées me furent demandées lors de réunions de Sociétés de Pharmacologie en France, en Italie, en Allemagne, en Espagne. J'ai été chargé d'organiser des symposia satellites aux réunions des Sociétés Internationales de Physiologie (IUPS-Paris 1977) et de Pharmacologie (IUPHAR-Paris 1978). Ce fut le début d'une série régulière de réunions qui eurent lieu en Suisse, en France, aux USA et en Allemagne avec la coopération étroite d'autres découvreurs comme M. Smolensky (Houston), G. Labrecque (Quebec), E. Haus (USA), B. Lemmer (Heidelberg-Mannheim).

Il convient de donner crédit à Virey (1814), Jöres (1939), Möllerstöm (1953), Menzel (1955) d'avoir promu l'idée que, chez l'homme, les effets désirés et non désirés des médicaments dépendent de l'heure d'administration. Nous avons forgé le mot « chronothérapie », en 1971, en lui donnant un contenu et un sens précis (27). Chez les patients qui souffrent d'une insuffisance corticosurrénalienne l'absence de sécrétion du cortisol, donc de son rythme circadien, conduit à la disparition d'un ensemble d'autres rythmes. Pour survivre ces malades ont besoin d'hydrocortisone. Nous avons montré qu'en leur donnant la dose majeure de l'hormone à 08.00h on mimait sa biodisponibilité physiologique et on restaurait les rythmes qui sont (au moins partiellement) contrôlés par celui du cortisol. Le but de la chronothérapie est de contribuer à recouvrer un bon état de santé, y compris le retour à la normale de l'organisation temporelle altérée par la maladie. Le terme de chronothérapie fut aussi utilisé par Weitzman et al en 1981 (28) pour le traitement de troubles particuliers du rythme veille-sommeil : les syndromes des retard de phase (delayed sleep phase syndroms). Le but de la thérapeutique est, dans ce cas aussi, de re-synchroniser le sujet. *Restituere ad integrum*, remettre dans son état premier, normaliser, a toujours été un but majeur de la médecine.

### **LA CHRONOBIOLOGIE DE L'HUMAIN DIFFÈRE-T-ELLE DE CELLE DES RONGEURS DE LABORATOIRE ?**

Lors de la réunion de la SFC à Lyon, en mai 1998, Michel Jouvet rappelait que les chronobiologistes et les hypnologues ont mis dix ans à pouvoir se comprendre, car les premiers oeuvraient chez le rat, la souris et le hamster alors que les seconds avaient le chat pour modèle. Les chats sont de drôles de dormeurs. Chez ≈ 70% d'entre eux le rythme veille-sommeil est éloigné de 24h, ce qui n'est pas le cas des rongeurs.

L'humain diffère des autres mammifères par le développement de son cortex cérébral. De ce fait, ne s'écarte-t-il pas, lui aussi, du modèle des rongeurs pour ce qui concerne la chronobiologie ? Les signaux qui nous synchronisent ne sont-ils pas essentiellement non-photiques ? N'y a-t-il pas, pour notre espèce, un dialogue NSC-cortex ? C'est peut être là que se nichent les découvertes (29).

Certains déclarent que l'homme ne produit que des rythmes « vaseux » (sloppy rhythms) (30), un autre (31) que le sujet doit être « heureux » pour en produire de jolis. Et pour rendre heureux un chronobiologiste, il faut quoi ? Certes, la chronobiologie humaine est une course d'obstacle. Les raisons en sont multiples : grande variabilité interindividuelle ; groupes manquant d'homogénéité ; casse-tête de la collecte des données ; chasse aux volontaires, etc,

(Suite page 69)

(Suite de la page 68)

etc.

Comme tous mes collègues, j'ai vite compris que la priorité des priorités d'un chercheur du CNRS est de trouver des crédits. Ouvrant chez l'homme et en chronobiologie, c'était encore plus difficile. À nouveau du non-dit ! La première des manip de chronopharmacologie clinique, nous l'avons faite sur l'aspirine, en 1967 (32) ; les volontaires sains furent des gens du labo et j'en étais. Ce bricolage nous ayant réussi nous avons décidé de récidiver en montant, cette fois, une grosse machine. Où trouver les sous ? Le CNRS, l'INSERM n'avaient rien à lâcher. Les responsables de l'industrie pharmaceutique m'ont expliqué qu'ils examineraient volontiers un projet solide, mais pas celui de cette chrono-machin dont ils n'avaient jamais entendu parler. En cette ère pompidolienne, c'était l'Armée qui monopolisait les moyens de recherches. Son projet était d'avoir des soldats en forme 24h/24.

Connaissant l'étude de Haus (21) j'étais prêt à parier que l'alcool n'était pas le bon moyen. J'ignorais, qu'en 1967, J. Rutenfranz et al (36) avaient montré que la prise vespérale d'alcool, par rapport à celle du matin, abaissait de 30% les performances. Les résultats obtenus, grâce à notre contrat militaire, nous firent découvrir la chronesthésie. En effet, il y avait bien des rythmes circadiens de l'altération des courbes de la température, des catécholamines, de nombreux tests cognitifs (34,35), mais ces rythmes étaient indépendants de l'éthanolémie et de sa chronocinétique. Je tiens d'autant plus à ce concept de chronesthésie que son importance me paraît sous-estimée (36).

La « galère », je l'ai vécue en étudiant, pendant plus de 15 ans, les rythmes d'une centaine de travailleurs postés. On est mal perçu par les syndicalistes (ce type cherche le coup tordu qui nous fera bosser plus !), par les patrons (ce type va trouver que nous contrevions à la législation du travail) et par les physiologistes (les données que ce collègue recueille sur le terrain sont-elles fiables ?). C'est, entre autres, la Shell Française qui m'a aidé et le CNRS qui a garanti mon indépendance matérielle et morale. Les postés travaillent dans un monde réel donc à risque, si bien que pour étudier leurs rythmes il faut œuvrer sur place, avec eux. Les expériences de labo, animales (les mouches et les souris « postées » !) et humaines donnent des résultats impeccables mais sans valeur pratique, en particulier la très stressante « constante routine ». Une des solutions est d'étudier chaque posté individuellement, de manière longitudinale. Ce faisant, on collecte un nombre de données suffisant pour quantifier valablement l'acrophase, l'amplitude et le niveau moyen de ses rythmes. Mais surtout on peut en mesurer, précisément, la période par des analyses spectrales ou des spectres de puissance (suivant la méthode de De Prins, par exp (37). Ce

n'est pas la densité des points de mesure, mais la durée de l'enregistrement qui compte. Plus il est long ( $n \geq 8$  jours) plus la mesure du  $\tau$  circadien est affinée. Si je donne ici ces détails, c'est qu'ils sont mal connus, même des arbitres consultés pour l'acceptation des papiers car, bien souvent, le non-linéaire n'est pas leur truc.

Une de nos trouvailles est que la désynchronisation est un phénomène banal et fréquent, chez le posté comme chez l'adulte sain non posté (29, 38). Plus intéressant encore est que la période de la force musculaire de la main droite diffère assez souvent de celle de la gauche (29,38). Deux de mes anciens collaborateurs, Yutaka Motohashi et Atanu Pati ont confirmé ces résultats au Japon (1990) et en Inde (2000). Cette variabilité de  $\tau$  entre les cotés droit et gauche se comprend si les hémisphères du cortex cérébral humain ont des activités rythmiques différentes, autrement dit, s'ils possèdent chacun des horloges biologiques capables de fonctionner de façon autonome. Pour éprouver cette hypothèse, il était indispensable d'étudier des fonctions cognitives, comme les temps de réaction (TR) à des signaux lumineux car, ce faisant, les rythmes de chaque main peuvent être explorés. Nous avons discuté de cela avec Yosi Shub et Israël Ashkenazi (Tel Aviv University) et Aléna Bicakova-Rocher, Yvan Touitou et d'autres collègues parisiens. L'équipe de Tel Aviv a étudié des pilotes qui vécurent trois jours dans un simulateur de vol hautement sophistiqué. À Paris, les sujets furent entraînés à utiliser, pendant 10 jours, un enregistreur portable et « computerisé ». Quand la tâche est relativement facile, le  $\tau$  des rythmes du TR est égal à 24h. Quand la tâche est difficile (e.g. TR de choix) la main dominante conserve un  $\tau = 24h$ , cependant que la main non dominante a un  $\tau < 24h$ . En outre, chez le même sujet, les  $\tau$  des TR et ceux de la force musculaire peuvent différer entre les mains droite et gauche. Ces résultats, obtenus simultanément, furent publiés dans le même journal (39,40). S'agit-il d'une découverte ? Pas encore, puisque ces travaux ne sont jamais cités par les chronobiologistes qui pensent que le modèle d'une seule horloge maîtresse est valable pour tous les mammifères.

## CONCLUSION

Je ne sais toujours pas ce qu'est une découverte scientifique car les plus solides, en apparence, peuvent avoir des aspects et/ou des attributions discutables. Cependant, il faut bien accepter la notion de découverte car, sans elle, il n'y aurait plus de carrière de chercheur. Pourquoi pas « trouvaille » ? D'aucuns peuvent m'objecter que ça ne fait pas sérieux. D'accord pour « découverte ». Il me semble que, depuis le XX<sup>e</sup> siècle, il est difficile d'en attribuer une à un seul chercheur. Il en va des bonnes idées comme des fruits mûrs, leur cueillette n'est pas né-

(Suite page 70)

(Suite de la page 69)

cessairement un jeu de solitaire.

Si le découvreur est rarement seul, la mauvaise stratégie est de ne pas lire très attentivement la littérature scientifique, comme la mauvaise tactique est de ne pas citer ses compétiteurs. Tôt ou tard viendra celui qui découvrira que le découvreur n'est pas le seul à mériter ce titre. Quant à volontairement omettre de citer les chercheurs dont on ne partage pas les idées...

Finalement, je n'ai pas répondu à la question qui m'était posée.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Reinberg A, Ghata J. Les rythmes biologiques. PUF, Paris. 1<sup>ère</sup> Ed 1957, 7<sup>ème</sup> Ed 1997.
2. Fessard A. Les propriétés rythmiques de la matière vivante. Hermann & Cie. Paris 1936.
3. « 10 brèves histoires de faits scientifiques » Science et Avenir. Hors-série N° 142. Avril/mai 2005
4. Morange M. La double hélice de Crick et Watson. Science et Avenir. Hors-série N° 162 p.16-21. Avril 2005
5. Maddox B. Rosalind Franklin : The Black Lady of DNA. Harper Collins. London. 2002
6. Pittendrigh C. Temporal organization. Reflections of a Darwinian clock watcher. Ann. Rev. Physiol 55 : 17-54, 1993
7. Aschoff J. Sources of thoughts. From temperature regulation to rhythm research. Chronobiol Int. 7 : 199-186, 1990.
8. Reinberg A. Le temps humain et les rythmes biologiques. Éditions du Rocher. Paris. 1998.
9. Reinberg A. L'art et les secrets du temps. Éditions du Rocher. Paris. 2001
10. Hawking S.W. Une brève histoire du temps. Du big bang aux trous noirs. Flammarion, Champs. Paris. 1989
11. Halberg F, Reinberg A. Rythmes circadiens et rythmes de basse fréquence en physiologie humaine. J Physiol (Paris) 59 : 117-200, 1967
12. De Prins J, Waldura J. Sightseeing around the single cosinor. Chronobiol Int. 10 :395-400, 1993
13. Halberg F, Visscher MG, Bittner JJ. Relation of visual factors to eosinophil rhythm in mice. Am J Physiol, 179 : 229-234, 1954
14. Aschoff J. Zeitgeber der tierischen Tagesperiodik. Naturwissenschaften. 41 : 49-56, 1954
15. Dray F, Reinberg A, Sebaoun J. Rythme biologique de la testostérone libre du plasma chez l'homme adulte sain. Variation circadienne. Comptes-Rendus Acad. Sc. Paris 261:573-576, 1965.
16. Weitzman ED, Fukushima D, Nogeire C, Roffwarg H, Gallagher TF, Hellman L. Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. J Clin Endocr Metab, 33 : 14-22, 1971
17. Reinberg A, Logoguy M, Cesselin F, Legrand JC, Delassale A, Antrassian J, Lagogey A. Circadian and circannual rhythms in plasma hormones and other variables of five healthy young human males. Acta Endocrinologica 88 : 417-427, 1978
18. Reinberg A, Lagogey M. Circadian and circannual rhythms in sexual activity and plasma hormones (FSH, LH, testosterone) of five human males. Arch Sex Behavior, 7 :13-30, 1978
19. Assenmacher I, Farner DS (Eds). Environmental endocrinology. Springer. Berlin, New York 1978.
20. Smolensky MH, Reinberg A, Bicakova-Rocher A, Sanford J. Chronoepidemiological search for circannual changes in the sexual activity of human males. Chronobiologia, 8 : 217-230, 1981
21. Haus E, Halberg F. 24h rhythm in susceptibility of C mice to ethanol. J Appl Physiol, 14: 878-880, 1959.
22. Scheving L, Donald F, Vedral DF, Pauly JE. A circadian susceptibility rhythms in rats to pentobarbital sodium. Anat Rec 160:m 741-750, 1968
23. Reinberg A. Hours of changing responsiveness in relation to allergy and the circadian adrenal cycle. In: J. Aschoff (Ed) "Circadian clocks" 214-218, North Holland Publ. Co. Amsterdam, 1965
24. Vries K de, Goei JT, Booij-Noord H, Orie NGM. Changes during 24h in the lung function and histamine hyperreactivity. Int Arch Allergy 20: 93-98, 1962
25. Reinberg A. Chronopharmacology in man. Chronobiologia 1 (Suppl1) 157- 185. 1974
26. Halberg F. Protection by timing treatment according to bodily rhythms an analogy to protection by scrubbing before surgery. Chronobiologia 1 (suppl 1) 27-68, 1974
27. Reinberg A, Ghata J, Halberg F, Abulker C, Dupont J. Distribution temporelle du traitement de l'insuffisance cortico-surrénalienne. Essai de chronothérapeutique. Ann Endocrinol (Paris) 32: 566-573, 1971
28. Weitzman ED, Czeisler CA, Coleman RM. Delayed sleep phase syndrom. A chronobiological disorder with sleep onset insomnia. Arch Geb Psychiatr. 38 : 732-745, 1981
29. Reinberg A, Ashkenazi IE. Concepts in human biological rhythms. Dialogues in Clin Neurosci 5 : 327-342, 2003
30. Murphy PJ, Campbell SS. Physiology of the circadian system in animals and humans. J Clin Neurophysiol, 13 ; 2-16, 1996
31. Wever R. The circadian system of man. Springer New York. 1979
32. Reinberg A, Zagulla-Mally Z, Ghata J, Halberg F. Circadian rhythm in the duration of salicylate excretion referred to phase of excretory rhythm and routine. Proc Soc Exp Biol. 124 :826-832, 1967
33. Rutenfranz J, Singer R. Untersuchungen der Fräguigkeit einer Abhängigkeit de Alcholwirkung von der Tagerzeit. Int Z angew Physiol. 24 : 1-17, 1967
34. Reinberg A, Clench J, Aymard N, Gaillot M, Bourdon A, Gervais P, Abulker C, Dupont J. Variations circadiennes des effets de l'éthanol et de l'éthanolémie de l'homme adulte sain. Étude chronopharmacologique. J Physiol (Paris) 70 : 435-456, 1975
35. Reinberg A. Circadian changes in psychologic effects of ethanol. Neuropsychopharmacology. 7 : 146-149, 1992
36. Reinberg A. Rythmes circadien de la sensibilité des systèmes cibles aux médicaments : un phénomène sous estimé. Bull Acad Natle Med. 180 : 533-547, 1996
37. Reinberg A, Andlauer P, De Prins J, Malbecq W, Vieux N, Bourdeleau P. Desynchronization of the oral temperature circadian rhythm and tolerance to shift work. Nature, 308: 272-274, 1984
38. Reinberg A, Motohashi Y, Boudleau P, Andlauer P, Lévi F, Bicakova-Rocher A. Alteration of period and amplitude of circadian rhythms in shift workers, With special reference to temperature, right- and left-hand grip strength. Eur J Appl Physiol, 57: 15-25, 1988
39. Shub Y, Ashkenazi I, Reinberg A. Difference between left- and right-hand reaction time rhythms: indications of shifts in strategy of human brain activity. Cogn Brain Research. 6: 141-146, 1997
40. Reinberg A, Bicakova-Rocher A, Nougquier J, Gorceix A, Mechkouri M, Toutou Y, Ashkenazi I. Circadian rhythm's period in reaction time to light signals: difference between right-and left-hand side. Cogn Brain Research 6: 135-140, 1997
41. Tiercelin C. Le concept d'émergence est-il métaphysique ? Science et Avenir, Hors série n° 143 p 53, Juillet/Août 2005.



## Les Récepteurs Nucléaires REV-ERB et ROR dans le Système Circadien

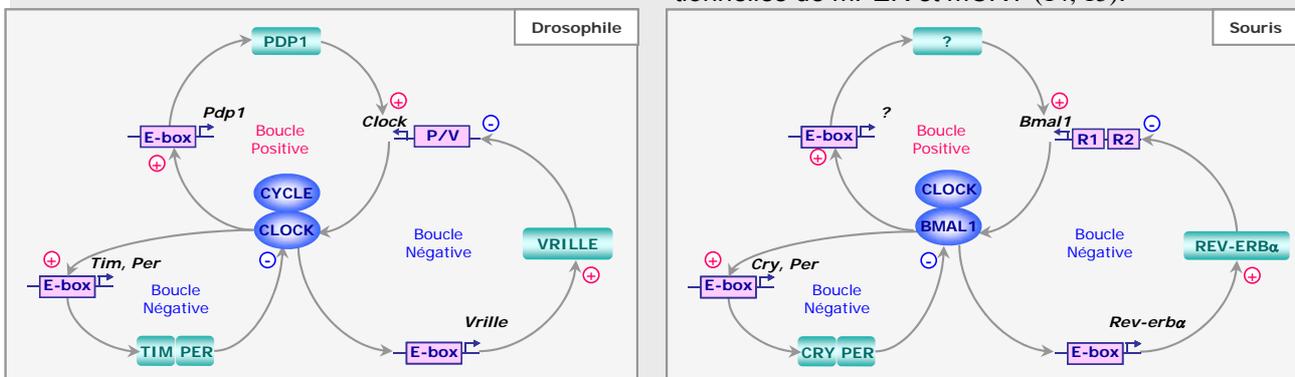
Fabienne Guillaumond

CNRS FRE 2721, Université de Nice-Sophia Antipolis, 06108 Nice Cedex 2

fguillau@unice.fr

Chez les mammifères, le noyau suprachiasmatique (NSC) de l'hypothalamus, siège de l'horloge biologique interne, est à l'origine de la genèse des fonctions rythmiques physiologiques et comportementales et de leur ajustement aux fluctuations journalières et saisonnières de l'environnement lumineux (1). La découverte de mutations génétiques naturelles affectant certaines composantes de la rythmicité circadienne a permis l'identification des mécanismes moléculaires impliqués dans la genèse de la rythmicité. Par ces approches génétiques combinées à des approches biochimiques, il a été établi que ces mécanismes reposent sur l'existence de boucles d'autorégulation transcriptionnelle négative et positive impliquant des gènes spécifiques de l'horloge (2, 3). Ce modèle de fonctionnement moléculaire que l'on pensait au départ spécifique des oscillateurs cellulaires du NSC, s'est avéré applicable à d'autres structures centrales et à de nombreux organes et tissus périphériques. Le système circadien apparaît

des complexes dCLOCK/dCYCLE qui vont induire la transcription des gènes *dPeriod* (*dPer*) et *dTimeless* (*dTim*) par leur liaison sur des éléments de réponse de type E-box (CACGTG) présents dans la région promotrice de ces gènes (4, 5) (Fig.1). Les protéines résultantes, dPER et dTIM, par leur association en complexes hétérodimériques, vont réprimer leur propre transcription activée par dCLOCK/dCYCLE (5-7). A ces régulations transcriptionnelles, se surajoutent des modifications post-traductionnelles de dPER et dTIM qui vont permettre le maintien de la périodicité à 24h (8, 9). Chez les mammifères, la boucle est similaire, les facteurs dCLOCK et dCYCLE sont remplacés par leurs orthologues respectifs, mCLOCK et mBMAL1. Les complexes mCLOCK/mBMAL1 sont à l'origine de la transcription rythmique des gènes *mPeriod* (*mPer1* à 3) et *mCryptochromes* (*mCry1* et 2) (10, 11) (Fig.1). En retour, les dimères mPER/mCRY vont inhiber leur propre transcription (12, 13). L'ajustement de la période à 24h implique des modifications post-traductionnelles de mPER et mCRY (14, 15).



**Figure 1 :** Boucles d'autorégulation transcriptionnelle à l'origine de la genèse des rythmes circadiens chez la drosophile et la souris. *Per*, *Period*; *Tim*, *Timeless*; *Bmal1*, *Brain and Muscle Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-Like protein 1*; *Cry*, *Cryptochromes*; *Pdp1*, *PAR Domain Protein 1*; *R1*, *Retinoic acid-related Orphan Receptor Element 1*; *R2*, *Retinoic acid-related Orphan Receptor Element 2*, *P/V*, *PDP1* and *VRILLE* binding element.

donc comme un système hiérarchisé intégrant le fonctionnement coordonné de multiples oscillateurs centraux et périphériques, dans lequel l'horloge centrale a pour rôle de coordonner les fonctions rythmiques en synchronisant l'ensemble des oscillateurs de l'organisme, par l'intermédiaire de signaux rythmiques, nerveux et humoraux (2).

La boucle principale d'autorégulation transcriptionnelle négative, originellement décrite chez *Drosophila melanogaster*, est très conservée au cours de l'évolution. Chez la drosophile, elle est composée

Au cours de ces six dernières années, deux autres boucles de rétroaction transcriptionnelle, positive et négative, impliquant respectivement *dClock* chez la drosophile et *mBmal1* chez les mammifères, ont été décrites. Chez la drosophile, les complexes dCLOCK/dCYCLE n'activent pas seulement la transcription de *dPer* et *dTim* mais également la transcription de gènes dits contrôlés par l'horloge, et notamment de deux régulateurs transcriptionnels

(Suite page 72)

(Suite de la page 71)

de *dClock*, *Vrille* et *PAR Domain Protein 1 (Pdp1)* (16, 17) (Fig.1). Les deux protéines VRILLE et PDP1, appartenant à la famille des facteurs de transcription leucine zipper, reconnaissent les mêmes éléments de réponse dans le promoteur de *dClock* mais exercent des effets opposés sur la transcription de ce gène. Tandis que VRILLE réprime l'expression de *dClock*, PDP1 l'active (16, 18, 19) (Fig.1).

Chez les mammifères, le premier régulateur transcriptionnel de *mBmal1* a été identifié par Preitner et collaborateurs (2002) (20), il s'agit du récepteur nucléaire orphelin REV-ERB $\alpha$  (Fig.1). La délétion du gène *Rev-erb $\alpha$*  chez des souris entraîne une réduction de l'amplitude des oscillations de *mBmal1* dans le NSC et le foie ainsi qu'un raccourcissement de la période endogène du rythme d'activité locomotrice (20). Preitner et collaborateurs (2002) (20) ont montré que, dans le foie, REVERB $\alpha$  présente une expression circadienne et peut se lier à un des deux sites monomériques RORE (Retinoic acid-related Orphan Receptor Element; WAWNTRGGTCA) situé à proximité du site d'initiation de la transcription de *mBmal1*. Dans deux lignées cellulaires (COS-7 et CHO), nous avons montré que REV-ERB $\alpha$  réprime l'activité transcriptionnelle de *mBmal1* par sa liaison sur les deux sites RORE (RORE1 et RORE2) (21), cet effet répresseur de REV-ERB $\alpha$  a également été démontré dans d'autres lignées cellulaires (293T3, Hela, NIH-3T3) (22), il n'est donc pas spécifique d'un type cellulaire. Récemment, il a été montré que l'inhibition de la transcription de *mBmal1* par REV-ERB $\alpha$  nécessite l'intervention d'un corépresseur, SMRT (Silencing Mediator of Retinoic acid and Thyroid hormone receptor) associé à la 3 histone déacétylase (22). Les altérations de la structure chromatinienne induites par ce complexe multiprotéique vont bloquer l'activation du promoteur *mBmal1* (22). Le gène *Rev-erb $\alpha$*  est présent aussi bien au niveau central que périphérique. Il est exprimé rythmiquement dans le thymus, le rein et le muscle squelettique et son expression est maximale lorsque les niveaux d'ARN *mBmal1* sont bas (21). Cette relation de phase inverse entre les pics de *Rev-erb $\alpha$*  et *mBmal1* a été retrouvée dans le NSC et d'autres oscillateurs périphériques (foie, cœur, poumon, estomac, rate, et testicule) (20, 23, 24). Hormis dans la rétine où l'expression de *Rev-erb $\alpha$*  ne varie pas au cours de la journée (25), dans tous les autres organes ou tissus, les oscillations de *Rev-erb $\alpha$*  semblent résulter de l'activation rythmique de sa transcription par la liaison de mCLOCK/mBMAL1 sur les E-box présentes dans sa région promotrice (26).

Les travaux de Ueda et collaborateurs (2002) (27) réalisés dans des fibroblastes synchronisés par un choc sérique ont montré que le rythme de *mBmal1*

est aboli par la mutation des deux sites ROREs. Ces sites sont donc nécessaires et suffisants à l'induction d'une rythmicité d'expression de *mBmal1*. Toutefois, chez les souris KO *Rev-erb $\alpha$* , le rythme de *mBmal1* n'est pas aboli, ce qui suggère que REV-ERB $\alpha$  n'est pas le seul régulateur transcriptionnel de *mBmal1* (20). Le deuxième membre de la famille des récepteurs REV-ERB, REV-ERB $\beta$ , ainsi que l'ensemble des membres de la famille des récepteurs nucléaires ROR (Retinoic acid-related Orphan Receptor): ROR $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  sont des récepteurs capables de se lier sur les sites ROREs et sont, de ce fait, des régulateurs potentiels de *mBmal1*. Tandis que les récepteurs REV-ERB sont connus pour être des répresseurs transcriptionnels de nombreux gènes, les RORs, eux sont des activateurs (28). Il existe quatre isoformes de ROR $\alpha$  (ROR $\alpha_1$  à  $\alpha_4$ ) et deux isoformes de ROR $\gamma$  ( $\gamma$  et  $\gamma_t$ ), ROR $\gamma_t$  étant exprimée uniquement dans le thymus (28, 29).

*mRev-erb $\beta$* , exprimé de façon ubiquitaire, présente une expression rythmique dans le NSC et dans différents tissus et organes périphériques (foie, cœur, poumon, estomac, rate, thymus, rein, muscle squelettique et testicule) (21, 23), alors que son expression est constante dans la rétine (25). Comme *Rev-erb $\alpha$* , le pic d'expression de *Rev-erb $\beta$*  est en anti-phase avec celui de *mBmal1* (21, 23). Nous avons montré que la surexpression du récepteur orphelin REV-ERB $\beta$  induit une inhibition de l'expression du gène endogène *mBmal1* et du gène rapporteur GFP (Green Fluorescent Protein) sous le contrôle du promoteur de *mBmal1*. Cet effet est aboli par la mutation d'un des deux sites ROREs ainsi que par la mutation des deux sites (21).

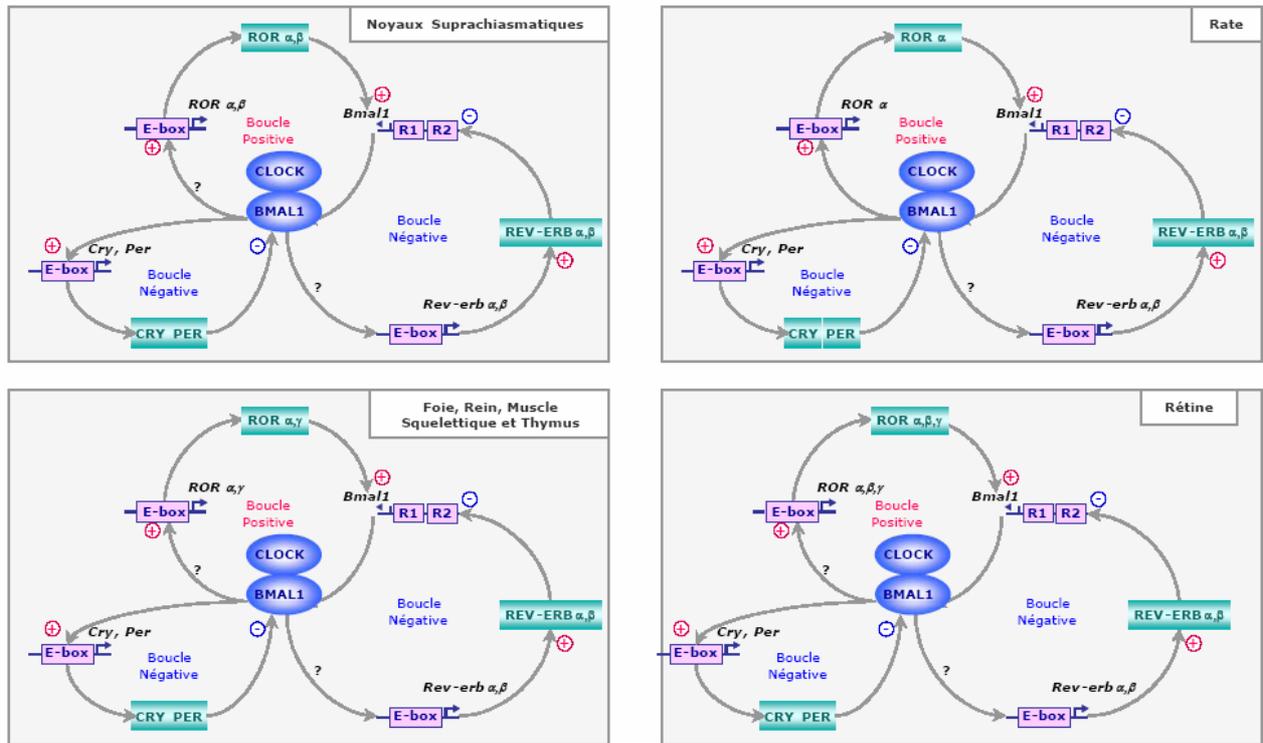
Parmi les gènes *Ror*, *Ror $\alpha$*  présente une expression rythmique dans les NSC et constante dans la majorité des oscillateurs périphériques (foie, rein, muscle squelettique et thymus) (20, 21, 30), sauf dans le cœur, les poumons et la rétine (1, 24, 25). Dans la mesure où le rythme de *Ror $\alpha$*  est en phase avec ceux des gènes cibles de mCLOCK/mBMAL1 (*Per* et *Cry*) et que d'autre part la phase du rythme de *Ror $\alpha_1$*  et  $\alpha_4$  est altérée chez les souris mutantes *clock*, la transcription de *Ror $\alpha$*  pourrait être directement régulée par mCLOCK/mBMAL1 (30). Les souris *staggerer*, porteuses d'une mutation du gène *Ror $\alpha$*  entraînant la non fonctionnalité du récepteur, présentent des altérations du fonctionnement moléculaire de leur horloge centrale et de leur rythme d'activité locomotrice : réduction de l'amplitude du pic nocturne de *mBmal1* dans le NSC et de la période du rythme locomoteur (30). Le phénotype peu marqué de ces souris mutantes *staggerer* pourrait être dû à une redondance fonctionnelle entre ROR $\alpha$  et ROR $\beta$ , dans la mesure où le gène *Ror $\beta$*  est fortement exprimé dans le NSC (31). ROR $\alpha_1$  et  $\alpha_4$  sont deux puissants activateurs transcriptionnels de *mBmal1*

(Suite page 73)

(Suite de la page 72)

et leurs effets passent par la mise en jeu des deux éléments ROREs (21, 24, 30, 32). Cependant, nous avons montré que contrairement à REV-ERB $\alpha$  et  $\beta$  qui agissent aussi bien sur RORE1 que sur RORE2, ROR $\alpha_1$  exerce son activité transcriptionnelle préférentiellement par l'intermédiaire du site RORE1 (21). D'après Akashi et Takumi (2005) (24), RORE1 est nécessaire à l'induction rythmique de la transcription de *mBmal1* par ROR $\alpha_1$ , alors que RORE2 permettrait uniquement d'augmenter l'amplitude du rythme de *mBmal1*. Ces auteurs ont montré, dans des fibroblastes préalablement synchronisés par un choc sérique, que la surexpression d'un dominant-négatif de ROR $\alpha_1$  ou d'un ARN interférant inhibant sa synthèse induit une diminution de l'amplitude du rythme de *mBmal1* (24). Des expériences de compétition ont permis de montrer que les REV-ERBs ( $\alpha$  et  $\beta$ ) peuvent inhiber de façon dose-dépendante l'activation transcriptionnelle de

tral, présente des variations circadiennes avec un pic en phase avec celui de *mBmal1* dans trois structures du système circadien, la rétine, la glande pinéale et le NSC (25, 27, 31). Les souris KO *Rorb*, contrairement aux souris KO *Rev-erb $\alpha$*  (20) ou *staggerer* (30), présentent un allongement de la période de leur rythme locomoteur (31). Le phénotype comportemental des souris KO *Rorb* est très similaire à celui des souris *vacillans* présentant une mutation spontanée (37). Dans deux lignées cellulaires, nous avons montré que ROR $\beta$  active la transcription du gène endogène *mBmal1* et du gène rapporteur *mBmal1*-GFP, cette activation est complètement abolie par la mutation du site RORE1 ou la double mutation, en revanche la mutation de RORE2 n'affecte pas l'augmentation de l'expression de *mBmal1* induite par ROR $\beta$  (21). Le ligand endogène de ce récepteur, l'acide tout trans-rétinoïque, a été récemment identifié par Stehlin-Gaon et collaborateurs (2003) (34).



**Figure 2 :** Schéma représentant les différents modèles de régulation transcriptionnelle de *mBmal1* selon l'oscillateur circadien considéré. *Per*, *Period*; *Bmal1*, *Brain and Muscle Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-Like protein 1*; *Cry*, *Cryptochromes*; *ROR*, *Retinoic acid-related Orphan Receptor*; *R1*, *Retinoic acid-related Orphan Receptor Element 1*; *R2*, *Retinoic acid-related Orphan Receptor Element 2*.

*mBmal1* induite par ROR $\alpha$  (21, 30). Par ailleurs, contrairement aux récepteurs orphelins REV-ERB, on ne peut pas exclure l'existence d'une régulation de l'activité transcriptionnelle du récepteur ROR $\alpha$  par son ligand endogène, le cholestérol, récemment identifié par Kallen et collaborateurs (2002) (33).

A l'exception de la rétine, Ror $\gamma$  n'est exprimé qu'en périphérie et seulement dans quelques oscillateurs périphériques (foie, thymus, rein et muscle squelettique) (20, 21, 25, 35, 36). *Ror $\gamma$*  n'est pas présent dans la rate (29) (Guillaumond et al., non-publiés).

Le gène *Rorb*, exprimé uniquement au niveau cen-

(Suite page 74)

(Suite de la page 73)

Son profil d'expression est également tissu-spécifique, puisque des oscillations circadiennes ont pu être observées dans le foie, le rein, le muscle squelettique et la rétine mais pas dans le thymus. Dans les tissus où son expression est rythmique, les pics d'expression sont en phase avec ceux de *mBmal1* (20, 21, 25). Le récepteur surexprimé dans des lignées cellulaires induit une activation de la transcription de *mBmal1*, tout comme ROR $\alpha$  et  $\beta$ . Il exerce également son activité transcriptionnelle préférentiellement par l'intermédiaire du site RO-RE1 (21) et celle-ci peut être modulée par l'acide tout trans-rétinoïque qui est également capable de se lier à ROR $\gamma$  (34).

Il apparaît que contrairement aux récepteurs REV-ERB, les RORs sont des activateurs transcriptionnels de *mBmal1* (21, 30) dont l'activité peut être régulée par leurs ligands endogènes respectifs (30, 33, 34). Les récepteurs REV-ERBs, ne possédant ni domaine transactivationnel ni ligand endogène (28), exercent leur action sur la transcription de *mBmal1* par compétition avec les RORs pour leur sites de liaison communs (21, 30).

En conclusion, les gènes codant pour les récepteurs REV-ERBs présentent une expression ubiquitaire et rythmique, sauf dans la rétine, tandis que les Rors, ont une expression ainsi que des profils d'expression tissu-spécifiques. A partir de nos données confrontées à celles de la littérature, au moins quatre modèles de régulation transcriptionnelle de *mBmal1* peuvent être proposés, dont un spécifique à l'horloge centrale, un commun au foie, au rein, au muscle squelettique et au thymus, un spécifique à la rate et un spécifique à la rétine (Fig.2).

Dans ces modèles, on retrouve des éléments communs, les récepteurs REV-ERB ( $\alpha$  et  $\beta$ ) et ROR $\alpha$  (seuls récepteurs présents dans la rate), et des éléments variables, ROR $\beta$  (présent dans le NSC et la rétine) et ROR $\gamma$  (présent dans le foie, le rein, le muscle squelettique, le thymus et la rétine) (Fig.2). En conclusion, l'ensemble de nos résultats remet donc clairement en cause l'existence d'un modèle unique de fonctionnement moléculaire commun à tous les oscillateurs de l'organisme. En effet, si la boucle principale de rétroaction transcriptionnelle négative impliquant PER et CRY et celle impliquant les REV-ERBs sont communes à tous les oscillateurs circadiens, la boucle de rétroaction positive faisant intervenir les RORs est quant à elle spécifique à chaque oscillateur considéré.

**Abbreviations :** ROR, Retinoic acid-related Orphan Receptor; NSC, Noyaux Suprachiasmatiques; Per, Period; Tim, Timeless; Bmal1, Brain and Muscle Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-Like protein 1; Cry, Cryptochromes; Pdp1, PAR Domain Protein 1; RORE, Retinoic acid-related Orphan Receptor Element; SMRT, Silencing Mediator of Reti-

noic acid and Thyroid Hormone receptor; GFP, Green Fluorescent Protein.

## Références

1. Dunlap, J. C., Loros, J. J. & DeCoursey, P. J. (2003) (Sinauer Associates, Sunderland, MA), pp. 406.
2. Reppert, S. M. & Weaver, D. R. (2002) *Nature* **418**, 935-41.
3. Albrecht, U. & Eichele, G. (2003) *Curr Opin Genet Dev* **13**, 271-7.
4. Darlington, T. K., Wager-Smith, K., Ceriani, M. F., Staknis, D., Gekakis, N., Steeves, T. D. L., Weitz, C. J., Takahashi, J. S. & Kay, S. A. (1998) *Science* **280**, 1599-603.
5. Lee, C., Bae, K. & Ederly, I. (1999) *Molecular & Cellular Biology* **19**, 5316-25.
6. Lee, C., Bae, K. & Ederly, I. (1998) *Neuron* **21**, 857-67.
7. Bae, K., Lee, C., Hardin, P. E. & Ederly, I. (2000) *Journal of Neuroscience* **20**, 1746-53.
8. Kloss, B., Price, J. L., Saez, L., Blau, J., Rothenfluh, A., Wesley, C. S. & Young, M. W. (1998) *Cell* **94**, 97-107.
9. Price, J. L., Blau, J., Rothenfluh, A., Abodeely, M., Kloss, B. & Young, M. W. (1998) *Cell* **94**, 83-95.
10. Gekakis, N., Staknis, D., Nguyen, H. B., Davis, F. C., Wilsbacher, L. D., King, D. P., Takahashi, J. S. & Weitz, C. J. (1998) *Science* **280**, 1564-9.
11. Yamaguchi, S., Mitsui, S., Miyake, S., Yan, L., Onishi, H., Yagita, K., Suzuki, M., Shibata, S., Kobayashi, M. & Okamura, H. (2000) *Curr Biol* **10**, 873-6.
12. Griffin, E. A., Jr., Staknis, D. & Weitz, C. J. (1999) *Science* **286**, 768-71.
13. Kume, K., Zylka, M. J., Sriram, S., Shearman, L. P., Weaver, D. R., Jin, X., Maywood, E. S., Hastings, M. H. & Reppert, S. M. (1999) *Cell* **98**, 193-205.
14. Vielhaber, E., Eide, E., Rivers, A., Gao, Z. H. & Virshup, D. M. (2000) *Molecular and Cellular Biology* **20**, 4888-4899.
15. Eide, E. J., Vielhaber, E. L., Hinz, W. A. & Virshup, D. M. (2002) *J Biol Chem* **277**, 17248-54.
16. Blau, J. & Young, M. W. (1999) *Cell* **99**, 661-71.
17. McDonald, M. J. & Rosbash, M. (2001) *Cell* **107**, 567-78.
18. Cyran, S. A., Buchsbaum, A. M., Reddy, K. L., Lin, M. C., Glossop, N. R., Hardin, P. E., Young, M. W., Storti, R. V. & Blau, J. (2003) *Cell* **112**, 329-41.
19. Glossop, N. R., Houl, J. H., Zheng, H., Ng, F. S., Dudek, S. M. & Hardin, P. E. (2003) *Neuron* **37**, 249-61.
20. Preitner, N., Damiola, F., Lopez-Molina, L., Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U. & Schibler, U. (2002) *Cell* **110**, 251-60.
21. Guillaumond, F., Dardente, H., Giguere, V. & Cermakian, N. (2005) *J Biol Rhythms* **20**, sous-presses.
22. Yin, L. & Lazar, M. A. (2005) *Mol Endocrinol* **19**, 1452-9.
23. Yamamoto, T., Nakahata, Y., Soma, H., Akashi, M., Mamino, T. & Takumi, T. (2004) *BMC Mol Biol* **5**, 18.
24. Akashi, M. & Takumi, T. (2005) *Nat Struct Mol Biol* **12**,

(Suite page 75)

(Suite de la page 74)  
441-8.

25. Kamphuis, W., Cailotto, C., Dijk, F., Bergen, A. & Buijs, R. M. (2005) *Biochem Biophys Res Commun* **330**, 18-26.

26. Triqueneaux, G., Thenot, S., Kakizawa, T., Antoch, M. P., Safi, R., Takahashi, J. S., Delaunay, F. & Laudet, V. (2004) *J Mol Endocrinol* **33**, 585-608.

27. Ueda, H. R., Chen, W., Adachi, A., Wakamatsu, H., Hayashi, S., Takasugi, T., Nagano, M., Nakahama, K., Suzuki, Y., Sugano, S., Iino, M., Shigeyoshi, Y. & Hashimoto, S. (2002) *Nature* **418**, 534-9.

28. Giguere, V. (1999) *Endocr Rev* **20**, 689-725.

29. He, Y. W., Defetos, M. L., Ojala, E. W. & Bevan, M. J. (1998) *Immunity* **9**, 797-806.

30. Sato, T. K., Panda, S., Miraglia, L. J., Reyes, T. M., Rudic, R. D., McNamara, P., Naik, K. A., FitzGerald, G.

A., Kay, S. A. & Hogenesch, J. B. (2004) *Neuron* **43**, 527-37.

31. Andre, E., Conquet, F., Steinmayr, M., Stratton, S. C., Porciatti, V. & Becker-Andre, M. (1998) *Embo J* **17**, 3867-77.

32. Nakajima, Y., Ikeda, M., Kimura, T., Honma, S., Ohmiya, Y. & Honma, K. (2004) *FEBS Lett* **565**, 122-6.

33. Kallen, J. A., Schlaeppli, J. M., Bitsch, F., Geisse, S., Geiser, M., Delhon, I. & Fournier, B. (2002) *Structure (Camb)* **10**, 1697-707.

34. Stehlin-Gaon, C., Willmann, D., Zeyer, D., Sanglier, S., Van Dorsselaer, A., Renaud, J. P., Moras, D. & Schule, R. (2003) *Nat Struct Biol* **10**, 820-5.

35. Hirose, T., Smith, R. J. & Jetten, A. M. (1994) *Biochem Biophys Res Commun* **205**, 1976-83.

36. Medvedev, A., Yan, Z. H., Hirose, T., Giguere, V. & Jetten, A. M. (1996) *Gene* **181**, 199-206.

Sirlin, J.L. (1956) *J Genet* **54**, 42-48.

## Meeting of the EORTC Chronotherapy Group



### Translational Research Symposium: Current options for circadian system assessment in cancer patients.

Saturday october 29<sup>th</sup> 2005, 09:00 - 18:00 H, Paedagogium, Bâtiment André Lwoff, Université Paris XI, Hôpital Paul Brousse, 14 Avenue P.V. Couturier, 94800 Villejuif, France

08 :30 - 09 :00 Welcome

#### TRANSLATIONAL RESEARCH SYMPOSIUM

09 :00 - 13 :00 Current options for circadian system assessment in cancer patients. Objectives : to help develop protocols for circadian system assessments in cancer patients as companion studies for ongoing trials of cancer therapy  
Chairmen : G. Bjarnason, Toronto, Canada; F. Lévi, Villejuif, France

09 :00 - 09 :30 Rest-activity rhythm : longitudinal monitoring for assessing treatments effects  
I. Iurisci, Villejuif, France; F. Chieti, Italy

09 :30- 10 :00 Human body temperature rhythm  
K. Krauchi, Basel, Sw.

10 :00- 10 :30 A new device for non-invasive body temperature rhythm monitoring  
J. Beau et F. Lévi, Villejuif, France

10 :30- 11 :00 **Break**

11 :00 - 11 :30 Monitoring cortisol and melatonin rhythms  
B. Claustrat, Lyon, France

11 :30- 12 :00 Clock gene assessments in human lymphocytes  
F. Delaunay, Nice, France

12 :00 - 12 :30 Clock gene assessments in human oral mucosa  
U. Albrecht, Freiburg, Sw.

12 :30 - 13 :00 General discussion and conclusions  
G. Bjarnason, Toronto, Canada; F. Lévi, Villejuif, France

13 :00 - 14 :00 **Lunch**

14 :00 - 18 :00 **CLOSED MEETING OF THE E.O.R.T.C. CHRONOTHERAPY GROUP**



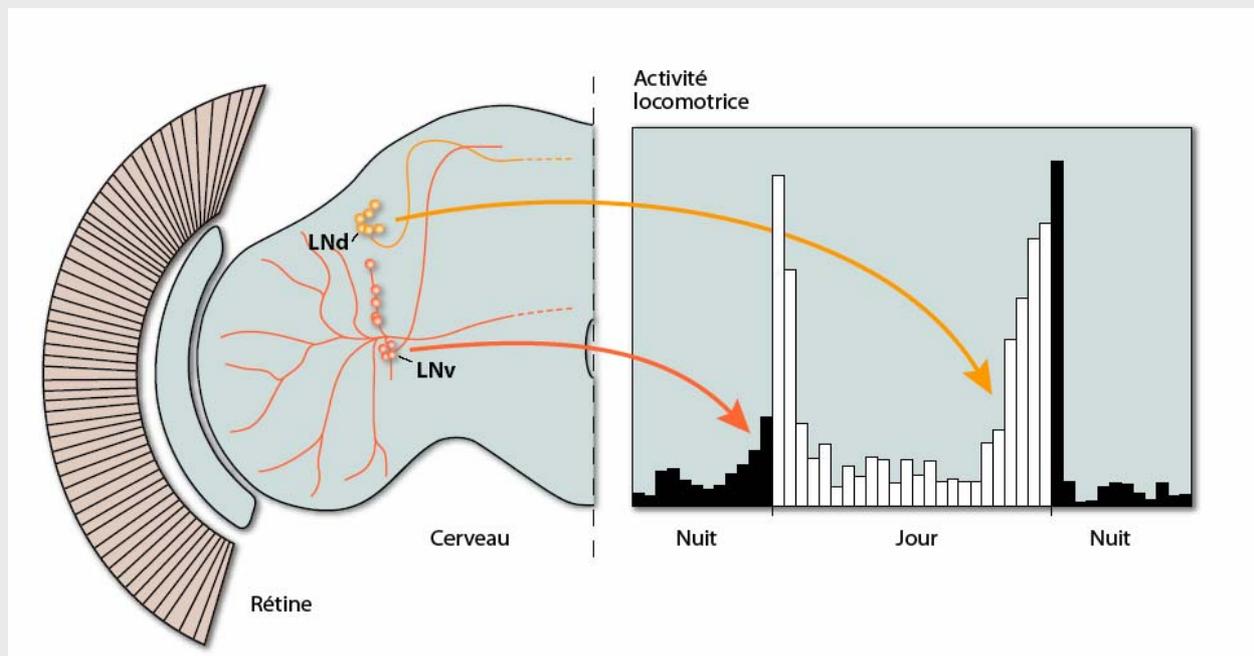
## Des horloges du matin et du soir dans le cerveau de la drosophile

François ROUYER

CNRS, Institut de Neurobiologie Alfred Fessard,  
UPR 2216 Neurobiologie Génétique et Intégrative, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex  
Francois.Rouyer@iaf.cnrs-gif.fr

De nombreux animaux montrent une distribution bimodale de l'activité locomotrice en conditions naturelles jour-nuit. L'adaptation de ce profil aux variations saisonnières de la photopériode suggère que la lumière provoque une avance du pic du matin et un retard du pic du soir, donc que deux oscillateurs différents contrôlent l'activité de l'animal (Pittendrigh and Daan, 1976). Cette hypothèse a trouvé un argument de poids dans le phénomène de « splitting » observé chez différents rongeurs, en particulier lorsqu'ils sont placés en conditions de lumière constante (LL). Certains animaux montrent alors une séparation du rythme d'activité en deux composants, un à période courte et un à période longue. Pittendrigh et Daan ont proposé que le composant à période courte soit généré par un oscillateur matinal et que celui à période longue soit généré par un oscillateur vespéral.

insecte diurne fort apprécié des généticiens, ne fait pas à la règle de l'activité bimodale. Les mouches sont principalement actives à l'aube et au crépuscule, moments où les conditions de température et d'humidité sont optimales pour leur physiologie. Les pics d'activité du matin et du soir sont contrôlés par une horloge interne dont la présence est attestée par la capacité des mouches sauvages à anticiper les transitions jour-nuit (Helfrich-Förster, 2000). Dans les conditions de laboratoire jour-nuit 12h-12h (LD), le démarrage de l'activité précède de quelques heures l'allumage ou l'extinction de la lumière. Les mutants de l'horloge qui sont arythmiques en condition d'obscurité constante (DD) perdent les anticipations du matin et du soir en LD. L'horloge qui gouverne le rythme d'activité locomotrice de la mouche est située dans le cerveau, où les quantités



Comme de nombreux animaux, les mouches sont actives le matin et le soir. Des expériences d'expression ciblée d'un gène de l'horloge circadienne montrent que le cerveau possède deux oscillateurs neuronaux distincts, qui contrôlent l'activité du matin pour l'un et l'activité du soir pour l'autre.

Deux études viennent de définir les bases neuronales de ces oscillateurs du matin et du soir chez la drosophile (Grima et al., 2004; Stoleru et al., 2004).

La mouche du vinaigre *Drosophila melanogaster*,

des produits des gènes *period* (*per*) et *timeless* (*tim*) oscillent dans une centaine de neurones par hémisphère cérébral (soit environ 100 fois moins qu'un

(Suite page 77)

(Suite de la page 76)

noyau suprachiasmatique (SCN)) répartis en plusieurs groupes dorsaux et latéraux (Hall, 2003; Helfrich-Forster, 2003). Dans le cerveau adulte, un sous-groupe ventral de neurones latéraux (LNv), composé de quatre petites cellules (s-LNv) et quatre à cinq grosses (l-LNv), exprime le neuropeptide PDF (pigment-dispersing factor). L'absence de PDF induit une arrythmicité importante en conditions d'obscurité constante (Renn et al., 1999), et des travaux récents suggèrent qu'il jouerait un rôle de synchronisateur entre les différents groupes de neurones d'horloge (Lin et al., 2004; Peng et al., 2003).

Qu'en est-il du rôle des différents neurones d'horloge ? La compréhension de l'architecture cellulaire de l'horloge cérébrale a tiré profit des techniques de génétique moléculaire disponibles chez la mouche, permettant en particulier de cibler l'expression de gènes dans certains tissus ou groupes de cellules. Le système Gal4/UAS repose sur un premier transgène codant pour le facteur de transcription de levure Gal4 dont l'expression peut être contrôlée par des séquences régulatrices choisies de façon adéquate et un second transgène codant pour une protéine d'intérêt (X) et placé sous contrôle de séquences UAS de réponse à Gal4. Les mouches transgéniques porteuses d'un transgène Gal4 d'une part et d'un transgène UAS-gèneX d'autre part, exprimeront donc la protéine d'intérêt là où les séquences régulatrices choisies le commanderont, par exemple dans les neurones à PDF si on utilise un transgène Gal4 sous contrôle des séquences de régulation du gène *pdf*.

Ainsi, l'expression de gènes d'apoptose sous contrôle de transgènes Gal4 spécifiquement exprimés dans les neurones à PDF provoque une ablation génétique de ces neurones, et induit des défauts similaires à ceux observés chez les mutants *pdf*<sup>0</sup> (Blanchardon et al., 2001; Renn et al., 1999). De même la surexpression du gène *per* dans ces neurones abolit les oscillations de la protéine PER et induit une perte complète de la rythmicité en DD (Blanchardon et al., 2001). Les neurones latéraux ventraux à PDF étaient donc de bons candidats pour être le siège de l'oscillateur principal contrôlant les rythmes veille-sommeil. Afin de tester leur capacité autonome à générer des rythmes circadiens, l'expression de *per* a été ciblée dans les LNv dans un contexte génétique *per*<sup>0</sup>, dépourvu de protéine PER endogène. Dans cette situation, l'expression du gène *per* dépend du système *pdf-Gal4/UAS-per* et n'est donc plus soumise à la boucle de régulation qui agit sur le promoteur du gène endogène. Néanmoins, il avait été montré que des oscillations de protéine sont observées dans l'œil lorsque *per* est y exprimé de façon constitutive (Cheng and Hardin, 1998), et qu'une rythmicité comportementale pouvait être restaurée par une expression pan-

neuronale du gène (Yang and Sehgal, 2001). L'expression constitutive de *per* dans les neurones à PDF génère des oscillations de protéine et un rythme d'activité en DD avec une période de 24h (Grima et al., 2004). Les LNv à PDF (une dizaine de cellules par hémisphère) constituent donc une horloge circadienne autonome. Quid des oscillateurs du matin et du soir ?

Lorsque les mouches n'expriment PER que dans les LNv sont entraînées en LD 12-12, leur activité anticipe la transition nuit-jour mais n'anticipe pas la transition jour-nuit (Grima et al., 2004). A l'inverse, les mutants *pdf*<sup>0</sup> semblent perdre l'anticipation matinale mais gardent le pic du soir, bien que celui-ci soit avancé par rapport aux mouches sauvages. Stoleru et al. (2004) obtiennent également la perte du pic du matin en provoquant l'ablation spécifique des LNv par expression du gène d'apoptose *hid* sous contrôle d'un transgène *pdf-Gal4*. Il apparaît donc que les LNv à PDF sont responsables de l'activité matinale. Quels neurones pourraient porter l'oscillateur vespéral prédit par Pittendrigh et Daan ? Grima et al. (2004) ont utilisé un autre transgène Gal4 qui induit l'expression de la protéine PER dans les LNv à PDF et dans environ la moitié des six LNd, le groupe de neurones latéraux situés de façon plus dorsale et qui n'expriment pas le PDF. Les mouches *per*<sup>0</sup> exprimant PER sous contrôle de ce transgène (Mai179) montrent un pic du matin et un pic du soir. L'addition de ce deuxième groupe de neurones exprimant PER rajoute donc une composante vespérale à l'activité des mouches. Utilisant la technique d'ablation ciblée, Stoleru et al. (2004) montrent que la perte de la plupart des neurones d'horloge (plus exactement ceux qui expriment le gène *cry* codant pour le photorécepteur cryptochrome), à l'exception des LNv à PDF, abolit spécifiquement l'activité du soir. Cette ablation sélective est réalisée par l'expression de *hid* sous le contrôle d'un transgène *cry-Gal4*, couplée à l'inhibition du Gal4 par son inhibiteur Gal80 dans les seuls neurones à PDF (obtenue par expression d'un transgène *pdf-Gal80*). Les résultats de ces deux études montrent la présence de deux oscillateurs dans le cerveau de la mouche, l'un porté par les LNv à PDF qui contrôle l'activité du matin (M), l'autre porté par les LNd PDF-négatifs qui contrôle l'activité du soir (E) (Schwartz, 2004).

La capacité des seules mouches exprimant PER dans les LNv à générer des rythmes persistant en DD, suggère que seul l'oscillateur du matin est une véritable horloge circadienne. L'oscillateur du soir porté par les LNd semble ne fonctionner qu'en LD, mais participe pourtant à la construction du message circadien en DD en présence des LNv. En effet, les mouches n'ayant que l'oscillateur du matin, ont en DD une phase largement avancée, tandis

(Suite page 78)

(Suite de la page 77)

que les mouches exprimant PER dans les deux oscillateurs montrent une phase proche de celle des sauvages. Enfin, le gène *per* est exprimé dans trois groupes de neurones dorsaux dont on ignore la fonction, à l'exception de leur participation à la photoréception circadienne par l'intermédiaire du cryptochrome (Klarsfeld et al., 2004; Veleri et al., 2003).

Une approche intéressante pour comprendre le rôle des différents groupes neuronaux réside dans l'étude des phénomènes de « splitting », également décrit chez les insectes dont la drosophile (Helfrich-Forster, 2004). Une étude récente montre que les mutants *cry<sup>b</sup>* (dépourvus de cryptochrome), qui sont rythmiques en LL contrairement aux mouches sauvages (Emery et al., 2000), sont particulièrement prompts à séparer leur activité en deux composants, l'un à période courte et l'autre à période longue (Yoshii et al., 2004). On rappellera ici que contrairement aux mammifères, les mouches sans cryptochrome sont parfaitement rythmiques en DD mais ne répondent presque plus à de brèves impulsions lumineuses (Emery et al., 1998; Stanewsky et al., 1998). Le cryptochrome joue donc dans l'horloge cérébrale de la mouche un rôle de photorécepteur et non de protéine d'horloge. L'analyse des oscillations de PER dans les neurones d'horloge des mouches *cry<sup>b</sup>* montrant du « splitting » en LL, suggère que les LNV et certains neurones dorsaux (DN) oscillent avec une période courte, tandis que d'autres DN oscillent avec une période longue (Yoshii et al., 2004). La désynchronisation des groupes neuronaux par le LL suggère donc que les LNV portent un oscillateur accéléré par la lumière, en accord avec son caractère matinal selon le modèle de Pittendrigh et Daan. Ils suggèrent de plus la participation des DN aux oscillateurs du matin et du soir.

Chez les rongeurs, le phénomène de « splitting » en LL a été associé à une désynchronisation des deux noyaux suprachiasmatiques, visualisée par l'expression antiphasique de plusieurs gènes d'horloge entre les SCN gauche et droit (de la Iglesia et al., 2000; Ohta et al., 2005). Une étude récente suggère l'existence, dans les régions dorso-médianes et ventro-latérales du SCN, d'oscillateurs différents qui peuvent être découplés par un protocole de désynchronisation forcée (de la Iglesia et al., 2004). Enfin, des oscillations de l'activité électrophysiologique du SCN comportant une composante du matin et une composante du soir ont été enregistrées in vitro (Jagota et al., 2000). Ces données restent pour l'instant éparses et leur interprétation en termes neuronaux est confrontée à la complexité de l'organisation des SCN, composés de plusieurs régions dont la fonction dans la génération du rythme et sa synchronisation sont encore mal connues (voir E. Challet 2004, (Rythmes 35-5) 2005 (Rythmes 36-1),

et Antle and Silver, 2005 pour revue).

Chez la drosophile et ses 200 neurones d'horloge, les interactions fonctionnelles entre les oscillateurs des différents groupes LNV, LND et DN restent à définir. Mais des outils sont maintenant disponibles pour s'attaquer d'une part aux systèmes de neurotransmission utilisés par les neurones qui ne sécrètent pas de PDF, d'autre part aux mécanismes de synchronisation du réseau, par le cryptochrome et les rhodopsines du système visuel (Helfrich-Forster et al., 2001; Rieger et al., 2003). L'entraînement des horloges par les cycles jour-nuit, leur réponse aux décalages horaires ainsi qu'aux changements saisonniers de la photopériode concernent évidemment de nombreux aspects de la vie des drosophiles comme des autres êtres vivants.

### Bibliographie

- Antle, M. C., and Silver, R. (2005). *Orchestrating time: arrangements of the brain circadian clock*. *Trends Neurosci* 28, 145-151.
- Blanchardon, E., Grima, B., Klarsfeld, A., Chélot, E., Hardin, P. E., Préat, T., and Rouyer, F. (2001). *Defining the role of Drosophila lateral neurons in the control of circadian activity and eclosion rhythms by targeted genetic ablation and PERIOD protein overexpression*. *Eur J Neurosci* 13, 871-888.
- Cheng, Y. Z., and Hardin, P. E. (1998). *Drosophila photoreceptors contain an autonomous circadian oscillator that can function without period mRNA cycling*. *J Neurosci* 18, 741-750.
- de la Iglesia, H. O., Cambras, T., Schwartz, W. J., and Diez-Noguera, A. (2004). *Forced desynchronization of dual circadian oscillators within the rat suprachiasmatic nucleus*. *Curr Biol* 14, 796-800.
- de la Iglesia, H. O., Meyer, J., Carpino, A., and Schwartz, W. J. (2000). *Antiphase oscillation of the left and right suprachiasmatic nuclei*. *Science* 290, 799-801.
- Emery, P., So, W. V., Kaneko, M., Hall, J. C., and Rosbash, M. (1998). *CRY, a Drosophila clock and light-regulated cryptochrome, is a major contributor to circadian rhythm resetting and photosensitivity*. *Cell* 95, 669-679.
- Emery, P., Stanewsky, R., Hall, J. C., and Rosbash, M. (2000). *A unique circadian-rhythm photoreceptor*. *Nature* 404, 456-457.
- Grima, B., Chélot, E., Xia, R., and Rouyer, F. (2004). *Morning and evening peaks of activity rely on different clock neurons of the Drosophila brain*. *Nature* 431, 869-873.
- Hall, J. C. (2003). *Genetics and molecular biology of rhythms in Drosophila and other insects*. *Adv Genet* 48, 1-280.
- Helfrich-Forster, C. (2003). *The neuroarchitecture of the circadian clock in the brain of Drosophila melanogaster*. *Microsc Res Tech* 62, 94-102.
- Helfrich-Forster, C. (2004). *The circadian clock in the brain: a structural and functional comparison between mammals and insects*. *J Comp Physiol A Neuroethol*

(Suite page 79)

(Suite de la page 78)

*Sens Neural Behav Physiol* 190, 601-613.

Helfrich-Förster, C. (2000). Differential control of morning and evening components in the activity rhythm of *Drosophila melanogaster*--sex-specific differences suggest a different quality of activity. *J Biol Rhythms* 15, 135-154.

Helfrich-Förster, C., Winter, C., Hofbauer, A., Hall, J. C., and Stanewsky, R. (2001). The circadian clock of fruit flies is blind after elimination of all known photoreceptors. *Neuron* 30, 249-261.

Jagota, A., de la Iglesia, H. O., and Schwartz, W. J. (2000). Morning and evening circadian oscillations in the suprachiasmatic nucleus in vitro. *Nat Neurosci* 3, 372-376.

Klarsfeld, A., Malpel, S., Michard-Vanhée, C., Picot, M., Chélot, E., and Rouyer, F. (2004). Novel features of cryptochrome-mediated photoreception in the brain circadian clock of *Drosophila*. *J Neurosci* 24, 1468-1477.

Lin, Y., Stormo, G. D., and Taghert, P. H. (2004). The neuropeptide PDF coordinates pacemaker interactions in the *Drosophila* circadian system. *J Neurosci* 24, 7951-7957.

Ohta, H., Yamazaki, S., and McMahon, D. G. (2005). Constant light desynchronizes mammalian clock neurons. *Nat Neurosci* 8, 267-269.

Peng, P., Stoleru, D., Levine, J. D., Hall, J. C., and Rosbash, M. (2003). *Drosophila* free-running rhythms require intercellular communication. *PLoS Biol* 1, 1-9.

Pittendrigh, C., and Daan, S. (1976). A Functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V.

Pacemaker structure: a clock for all seasons. *J Comp Physiol A* 106, 333-335.

Renn, S. C., Park, J. H., Rosbash, M., Hall, J. C., and Taghert, P. H. (1999). A pdf neuropeptide gene mutation and ablation of PDF neurons each cause severe abnormalities of behavioral circadian rhythms in *Drosophila*. *Cell* 99, 791-802.

Rieger, D., Stanewsky, R., and Helfrich-Förster, C. (2003). Cryptochrome, compound eyes, H-B eyelets and ocelli play different roles in the entrainment and masking pathway of the locomotor activity rhythm in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *J Biol Rhythms* 18, 377-391.

Schwartz, W. J. (2004). Sunrise and sunset in fly brains. *Nature* 431, 751-752.

Stanewsky, R., Kaneko, M., Emery, P., Beretta, B., Wager-Smith, K., Kay, S. A., Rosbash, M., and Hall, J. C. (1998). The cryb mutation identifies cryptochrome as a circadian photoreceptor in *Drosophila*. *Cell* 95, 681-692.

Stoleru, D., Peng, P., Agosto, J., and Rosbash, M. (2004). Coupled oscillators control morning and evening locomotor behavior of *Drosophila*. *Nature* 431, 862-868.

Veleri, S., Brandes, C., Helfrich-Förster, C., Hall, J. C., and Stanewsky, R. (2003). A self-sustaining, light-entrainable circadian oscillator in the *Drosophila* brain. *Curr Biol* 13, 1758-1767.

Yang, Z., and Sehgal, A. (2001). Role of Molecular Oscillations in Generating Behavioral Rhythms in *Drosophila*. *Neuron* 29, 453-467.

Yoshii, T., Funada, Y., Ibuki-Ishibashi, T., Matsumoto, A., Tanimura, T., and Tomioka, K. (2004). *Drosophila* cry(b) mutation reveals two circadian clocks that drive locomotor



18<sup>th</sup> Congress of the  
European  
Sleep Research Society

Innsbruck  
Congress Centre  
Austria

September 12-16, 2006



**Local Organizers ESRS 2006:**

**Birgit Högl (Chair)**

**Werner Poewe**

**Congress Secretariat:**

**PCO Tyrol Congress**

Rennweg 3,

A-6020 Innsbruck

T: +43 512 575600

F: +43 512 575607

E: [esrs2006@congress-innsbruck.at](mailto:esrs2006@congress-innsbruck.at)

I: <http://www.pco-tyrolcongress.at>



**Date limite  
20 mars 2006**



## 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 \*.rtf, \*.doc 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, png ou epsf. 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](mailto:fabienne.aujard@wanadoo.fr) avec copie à [jean-francois.vibert@upmc.fr](mailto:jean-francois.vibert@upmc.fr) et [beau@vjf.inserm.fr](mailto:beau@vjf.inserm.fr).

**Fabienne Aujard**  
**Jacques Beau**  
**Jean-François Vibert**

### Société Francophone de Chronobiologie

<b>Président</b>	Paul Pévet <a href="mailto:pevet@neurochem.u-strasbg.fr">pevet@neurochem.u-strasbg.fr</a>
<b>Vice président</b>	Bruno Claustrat <a href="mailto:bruno.claustrat@chu-lyon.fr">bruno.claustrat@chu-lyon.fr</a>
<b>Secrétaire général</b>	Etienne Challet <a href="mailto:challet@neurochem.u-strasbg.fr">challet@neurochem.u-strasbg.fr</a>
<b>Secrétaire adjointe</b>	Sophie Lumineau <a href="mailto:Sophie.Lumineau@univ-rennes1.fr">Sophie.Lumineau@univ-rennes1.fr</a>
<b>Trésorière</b>	Fabienne Aujard <a href="mailto:fabienne.aujard@wanadoo.fr">fabienne.aujard@wanadoo.fr</a>
<b>Trésorière adjointe</b>	Berthe Vivien-Roels <a href="mailto:vivien@neurochem.u-strasbg.fr">vivien@neurochem.u-strasbg.fr</a>

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

**Fabienne Aujard**  
**Jacques Beau**  
**Fabienne Guillaumond**  
**Paul Pévet**  
**Alain Reinberg**  
**François Rouyer**  
**Jean-François 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 : Bernard Bruguerolle. 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.