

âges de divergence des branches avec une horloge moléculaire globale. Nous avons donc eu recours à l'horloge moléculaire assouplie. En faisant une hypothèse sur le taux d'évolution des protéines le long de chacune des branches de l'arbre, on peut déduire de proche en proche l'âge des nœuds de l'arbre, avec toutefois une incertitude plus ou moins grande (*ci-contre, c*).

Nous sommes arrivés à trois conclusions : la diversification des bilatériens date d'il y a 695 millions d'années (entre 642 et 761 millions) ; les animaux se sont séparés de leurs plus proches parents unicellulaires – les choanoflagellés – il y a 849 millions d'années (entre 761 et 957 millions) ; la séparation entre animaux et champignons est vieille de 984 millions d'années (873 à 1 127 millions). Les animaux bilatériens actuels se seraient donc diversifiés au moins 100 millions d'années avant l'explosion cambrienne.

Un tel décalage reflète sans doute la présence de lacunes dans le registre fossile, les premiers bilatériens ayant été probablement des animaux à corps mou qui n'ont pas été fossilisés. On voit là que la méthode moléculaire fournit des informations complémentaires de celles issues des données fossiles.

Les horloges assouplies peuvent être appliquées à de plus courtes échelles de temps. Ainsi, le registre fossile suggère que beaucoup de mammifères placentaires actuels sont apparus après la transition Crétacé-Tertiaire, il y a 65 millions d'années. Or des études de datation moléculaire ont suggéré que l'origine des quatre rameaux majeurs de placentaires – auxquels appartiennent respectivement l'éléphant, le tatou, l'homme et le chien – remonte au Crétacé, il y a 100 millions d'années. La paléontologie et la biologie moléculaire doivent poursuivre leur dialogue afin de mieux cerner l'époque d'apparition du groupe auquel nous appartenons...

En parallèle, les chercheurs tentent d'améliorer encore les modèles d'horloges assouplies. Actuellement, par exemple, ces modèles ne décrivent que des changements graduels et se produisant sur de longues durées, ce qui permet de tabler sur des taux moyens couvrant plusieurs branches consécutives. Ils ne peuvent décrire les changements soudains ou épisodiques de taux d'évolution. Certains modèles issus de l'économie pourraient être adaptés à cette fin.

N'oublions pas enfin que les horloges moléculaires sont tributaires de calibrations paléontologiques fiables. Si un groupe d'organismes est dépourvu de fossiles, le taux d'évolution correspondant est extrapolé sur de plus grandes distances évolutives à partir de groupes d'organismes voisins pour lesquels on dispose de fossiles. On augmente alors l'incertitude sur le moment où cette lignée a divergé de la branche parente. En revanche, même si les âges fournis par les horloges moléculaires sont parfois empreints d'incertitude, ils aiguillent les recherches en indiquant des fourchettes temporelles dans lesquelles l'origine et la diversification des êtres vivants ont le plus de chance de se trouver.

Un éditeur pour le développement

Sociétés, environnements, santé
N. VERNAZZA-UCHI, M.-E. GRUENAI, D. BLEY
364 p. 38 €

L'énergie dans le développement de la Nouvelle-Calédonie
Y. LE BARS, E. FAUGÈRE, P. MENANTEAU, B. MULLON, A. RIEDACKER, S. VELUT
472 p. 15 €

La dengue dans les départements français d'Amérique
R. CORRIVEAU, B. PHILIPPON, A. YÉBAKIMA
208 p. 15 €

Le Rift est-africain
B. HIRSCH, B. ROUSSEL
424 p. 45 €

En vente dans toutes les librairies et par correspondance :
IRD Diffusion
32, av. Varagnat - F 93143 Bondy cedex
Tél : 01 48 02 56 49 Fax : 01 48 02 79 09
diffusion@ird.fr
www.ird.fr

Au rythme du jour et des saisons

P. Bourgin, É. Challet, M.-P. Felder-Schmittbuhl et V. Simonneaux

L'horloge centrale synchronisée par la lumière est localisée dans une petite aire cérébrale. De nombreuses horloges secondaires sont situées dans différents organes. Toutes ces horloges interagissent, garantissant des cycles d'éveil et de sommeil calés sur 24 heures.

L'ESSENTIEL

✓ L'horloge centrale est située dans le cerveau, précisément dans les noyaux suprachiasmatiques.

Elle est contrôlée par la lumière du jour.

✓ La mélanopsine est un pigment de la rétine sensible à la lumière. Son activation déclenche une chaîne de signaux aboutissant à l'expression de « gènes d'horloge ».

✓ En plus de l'horloge centrale, il existe plusieurs horloges secondaires, par exemple celle qui commande la production d'insuline ; elles sont toutes synchronisées.

✓ La mélatonine joue un rôle essentiel dans la synchronisation de l'horloge circadienne, mais aussi dans la reproduction.

Bonjour. Pourquoi viens-tu d'éteindre ton réverbère ?

– C'est la consigne, répondit l'allumeur. *Bonjour.*

– Qu'est-ce que la consigne ?

– C'est d'éteindre mon réverbère. *Bonsoir. Et il le ralluma.*

– Mais pourquoi viens-tu de le rallumer ?

– C'est la consigne, répondit l'allumeur.

– Je ne comprends pas, dit le petit prince.

– Il n'y a rien à comprendre, dit l'allumeur. *La consigne c'est la consigne. Bonjour.*

Antoine de Saint-Exupéry, *Le Petit Prince*

L'horloge interne de l'allumeur de réverbère était sans doute bien perturbée ! Tous les organismes, de l'algue unicellulaire aux primates, sont soumis à des rythmes circadiens, dont la précision et la stabilité sont liées à l'existence d'une horloge interne. De nombreuses activités sont concernées : la prise alimentaire, la température corporelle, les sécrétions hormonales ou surtout l'alternance de la veille et du sommeil.

Ces rythmes physiologiques ont longtemps été considérés comme des réponses passives aux changements de l'environnement, en particulier au lever et au coucher du soleil. En 1729, le Fran-

çais Jean-Jacques Dortous de Mairan est probablement le premier à avoir montré que cette rythmicité est endogène, en observant que les feuilles de *Mimosa pudica* s'ouvrent et se ferment selon un rythme d'environ 24 heures, même lorsque la plante pousse dans l'obscurité. En 1832, le naturaliste suisse Augustin Pyrame de Candolle montra que les rythmes des plantes maintenues en conditions constantes de lumière ou d'obscurité ne suivent pas ce rythme, suggérant que des éléments externes permettent de caler l'horloge sur des rythmes de 24 heures.

L'horloge centrale

En effet, ces rythmes biologiques dits circadiens (du latin *circa*, autour, et *dies*, jour) sont proches de 24 heures. Chez l'homme, le rythme veille-sommeil dans l'obscurité se maintient aux environs de 24 heures, mais se décale progressivement de jour en jour. Il existe donc des facteurs extérieurs, dont le principal est la lumière, qui synchronisent les rythmes biologiques pour les caler sur 24 heures. Ces synchronisations nous permettent d'être éveillés durant la journée et de dormir pendant la nuit.

Après avoir identifié les différentes horloges dont nous sommes dotés et qui sont toutes sous le contrôle d'une horloge centrale, nous examinerons comment elles se synchronisent. Nous verrons que la mélatonine est un puissant maître d'œuvre qui commande non seulement le rythme circadien (sur 24 heures), mais aussi les rythmes saisonniers auxquels nous sommes également soumis.

C'est dans les années 1960 que le neurobiologiste américain Curt Richter a montré que, chez les mammifères, l'horloge est localisée dans le cerveau; ce fut une première étape dans la compréhension de sa localisation anatomique. Puis, au début des années 1970, on observa qu'une destruction des noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus, situés juste au-dessus de l'endroit où les nerfs optiques se croisent, perturbe, chez l'animal, les rythmes tant comportementaux (veille-sommeil) qu'hormonaux (la reproduction).

Des expériences réalisées sur des cellules isolées ont montré que chaque neurone de ces noyaux suprachiasmatiques est capable de produire et d'entretenir une oscillation rythmique circadienne. Depuis ces expériences, ces neurones sont considérés comme des *pacemakers* circadiens, et chacun d'eux est une cellule-horloge autonome. Récemment, les progrès de la biologie moléculaire et de la génétique ont permis d'identifier des gènes d'horloge et de montrer que tous les éléments nécessaires au fonctionnement d'une horloge biologique sont présents dans le plus petit rouage de ce système: chaque cellule contient tous les gènes d'horloge, mais leur expression varie selon les tissus.

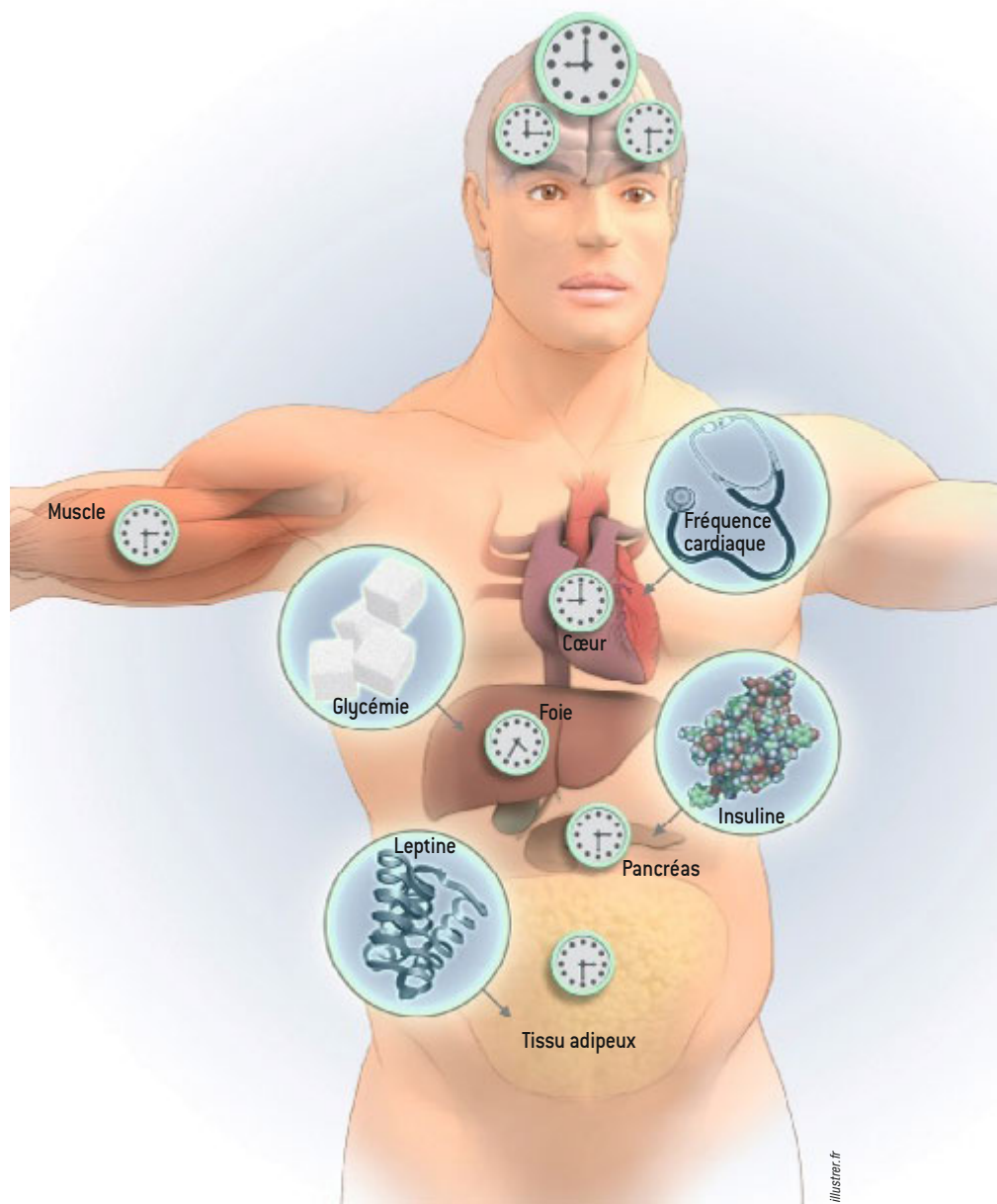
Plusieurs horloges périphériques

L'expression de ces gènes et la synthèse des protéines qu'ils codent varient en fonction du temps selon une période de 24 heures: les protéines d'horloge présentent leur pic de concentration à des moments précis de la journée. Ces niveaux d'expression sont des indicateurs moléculaires du temps circadien. De surcroît, les protéines codées par ces gènes d'horloge sont des régulateurs de la transcription, c'est-à-dire qu'elles activent ou inhibent les gènes contrôlés par l'horloge (CCG pour *Clock Controlled Genes*). Cela signifie que de nombreuses boucles de rétroaction contrôlent l'expression des gènes d'horloge. Par ailleurs, l'ana-

lyse du transcriptome (l'ensemble des gènes transcrits en ARN messagers dans une cellule ou un tissu) durant 24 heures a montré que l'expression d'environ dix pour cent des gènes suit un rythme non seulement dans les cellules de l'horloge centrale (les noyaux suprachiasmatiques), mais aussi dans la plupart des organes périphériques analysés. Cela signifie qu'il existe une horloge centrale, mais aussi de nombreuses horloges dites secondaires.

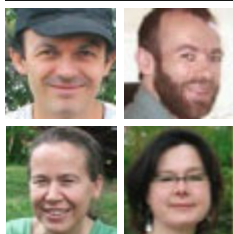
Ainsi, la production et la libération de neurotransmetteurs dans le cerveau ou le métabolisme des sucres dans le foie et, plus généralement, toutes les fonctions de tous les organes sont coordonnées pour être synchronisées avec l'alternance cyclique du jour et de la nuit.

Au-delà de l'alternance de la veille et du sommeil, de nombreux paramètres physiologiques et comportementaux présentent une oscillation dont la période est



1. PLUSIEURS HORLOGES commandent les rythmes circadiens de l'organisme. Une horloge centrale située dans le cerveau synchronise toutes les horloges secondaires présentes dans le cerveau, le foie qui régule la glycémie, le pancréas qui libère l'insuline, le tissu adipeux qui synthétise la leptine, le cœur dont la fréquence change entre le jour et la nuit, ou encore les muscles.

LES AUTEURS



Les auteurs travaillent dans le Département de neurobiologie des rythmes de l'Institut des Neurosciences cellulaires et intégratives du CNRS, UPR 3212, à Strasbourg.

Patrice BOURGIN est professeur de neurologie. Il est également responsable du Laboratoire du sommeil des Hôpitaux universitaires de Strasbourg.

Étienne CHALLET est directeur de recherche au CNRS.

Marie-Paule FELDER-SCHMITTBUHL est chargée de recherche.

Valerie SIMONNEAUX est directrice de recherche au CNRS et responsable du Département de neurobiologie des rythmes.

Site de l'Institut : inci.u-strasbg.fr/dept_a/fr/dept_a.html

égale à 24 heures. Il est essentiel que tous ces rythmes soient coordonnés. Par exemple, il faut que la mise en réserve de l'énergie absorbée avec la nourriture s'effectue pendant la période de veille, et que les réserves énergétiques puissent être consommées durant le sommeil.

On a longtemps cru que tous les rythmes biologiques et leur coordination temporelle étaient sous le contrôle de la seule horloge centrale chez les mammifères. Mais la découverte récente d'oscillations circadiennes dans la quasi-totalité des tissus a bouleversé cette conception. Ainsi, l'horloge principale suprachiasmatique se comporte comme un chef d'orchestre, donnant la mesure à de nombreuses entités oscillantes et assurant la coordination temporelle de toutes ces horloges secondaires. Schématiquement, l'horloge centrale est synchronisée par les signaux issus de l'environnement (la lumière notamment). Elle commande la synchronisation des horloges secondaires situées dans les tissus périphériques. Mais ces dernières envoient aussi des signaux en

retour vers l'horloge centrale. De nombreux mécanismes de rétroaction font dialoguer l'horloge centrale avec les horloges tissulaires secondaires.

Où sont localisées ces horloges secondaires ? Dans le cerveau (ailleurs que dans les noyaux suprachiasmatiques), mais aussi dans la majorité des tissus périphériques, dont le foie, le tissu adipeux et le cœur (voir la figure 1). Le foie est l'un des premiers tissus où l'on a mis en évidence des gènes d'horloge similaires à ceux identifiés dans les noyaux suprachiasmatiques. Cette horloge jouerait un rôle important dans la régulation quotidienne de la glycémie. Les souris transgéniques chez qui l'horloge hépatique n'est pas fonctionnelle présentent une dérégulation de la glycémie. Chez l'homme, on constate que la glycémie est maximale en fin de nuit : cette anticipation des besoins garantit à l'organisme la quantité de sucre nécessaire quand il passe du repos à l'activité.

Le pancréas et le tissu adipeux sont également le siège d'oscillations circadiennes. En effet, le pancréas commande la production d'insuline, l'hormone qui régule la concentration sanguine en sucre. L'horloge est réglée de façon telle que la libération d'insuline diminue durant la nuit. De même, la majorité des gènes d'horloge s'exprime dans le tissu adipeux : une horloge serait également présente dans ce tissu périphérique. La formation de graisse de réserve et le rythme de synthèse de la leptine, une hormone essentielle dans le contrôle de la satiété, sont commandés par l'horloge du tissu adipeux. Ainsi, chez le rongeur, la concentration de leptine est maximale durant la nuit, cet animal ayant essentiellement une activité nocturne.

On observe aussi des oscillations rythmiques des gènes circadiens dans le cœur et dans les muscles. Un cœur isolé *in vitro* présente des variations quotidiennes de fréquence cardiaque et d'expression des gènes impliqués dans le métabolisme. La fréquence cardiaque augmente durant la journée et ralentit durant la nuit, ce qui permet à l'organisme de passer de l'activité au repos. En cas d'hypertrophie cardiaque, l'amplitude du rythme d'expression de ces gènes diminue, ce qui suggère une détérioration de cette horloge périphérique. Les muscles se comportent de la même façon. Une horloge secondaire commande leur activité circadienne, avec

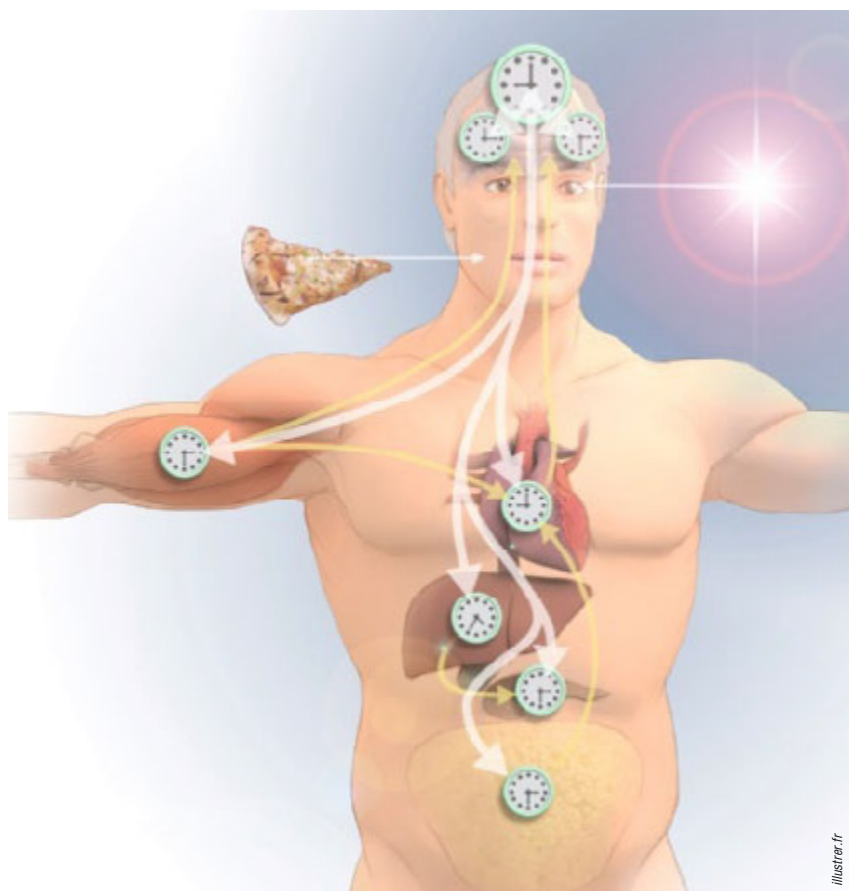


Illustration : fr

2. L'HORLOGE CENTRALE est synchronisée par la lumière et contrôle toutes les horloges secondaires. Ces dernières peuvent subir des influences extérieures directes, l'alimentation, par exemple. De nombreuses rétroactions relient les horloges secondaires à l'horloge principale.

une augmentation de l'efficacité musculaire durant la journée et un ralentissement pendant le repos nocturne.

La synchronisation de toutes les horloges

Comment l'horloge centrale des noyaux suprachiasmatiques coordonne-t-elle toutes ces horloges périphériques ? De deux façons : d'une part, par l'intermédiaire de projections neuronales issues de ces noyaux et qui atteignent (par l'intermédiaire de plusieurs relais neuronaux) les tissus périphériques ; d'autre part, par le biais de molécules qui diffusent dans le liquide céphalo-rachidien et dans les vaisseaux sanguins cérébraux, puis qui agissent à distance sur les horloges périphériques (c'est, par exemple, le cas du *Transforming Growth Factor-alpha* ou de la prokinétine 2, libérés par les cellules des noyaux suprachiasmatiques).

Les signaux de l'horloge suprachiasmatique sont transmis aux organes périphériques par l'intermédiaire du système nerveux autonome ou végétatif. C'est la partie du système nerveux qui agit de façon autonome, c'est-à-dire indépendamment de notre volonté. Il assure le fonctionnement du cœur, des muscles lisses ou encore des glandes endocrines (qui, par exemple, libèrent l'insuline).

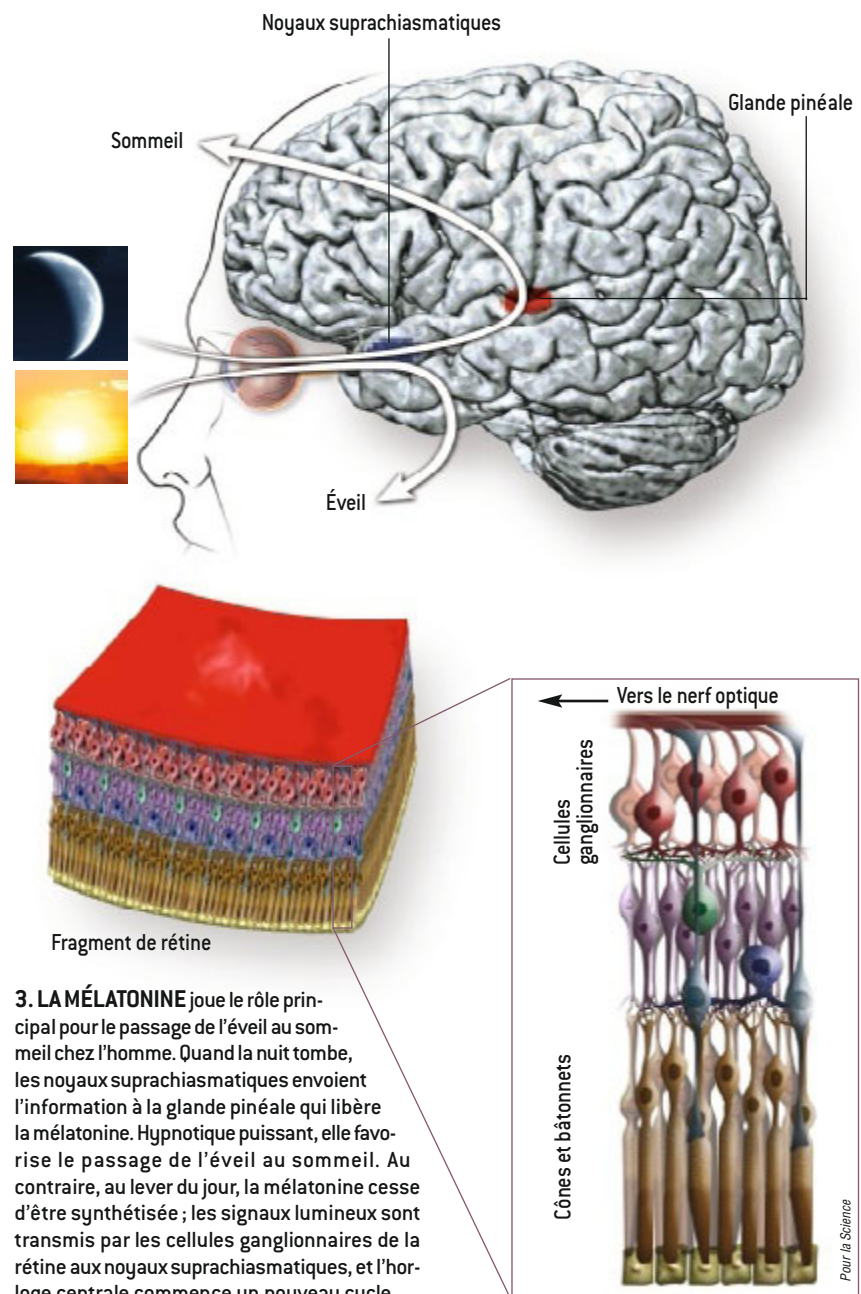
Le système nerveux autonome est subdivisé en un système orthosympathique et un système parasympathique, lesquels ont des effets antagonistes sur les viscères : le système orthosympathique stimule ce que le système parasympathique inhibe. L'effet résultant dépend de la part relative des innervations orthosympathiques et parasympathiques sur l'organe concerné. Comment les neurones des noyaux suprachiasmatiques sont-ils connectés aux organes cibles ?

Les neurones dont le corps cellulaire est situé dans ces noyaux se projettent sur des zones relativement proches, surtout dans les noyaux paraventriculaires de l'hypothalamus. Les neurones de l'hypothalamus sont eux-mêmes connectés à des neurones du tronc cérébral, puis de la moelle épinière, lesquels se projettent vers les différents organes cibles de l'horloge circadienne (cœur, tissu adipeux, etc.).

Cette « circuiterie » relie physiquement les noyaux suprachiasmatiques et les organes pourvus d'une horloge secondaire. Des connexions – des synapses – relient tous

les neurones de ce circuit. Quand les neurones des noyaux suprachiasmatiques reçoivent un signal lumineux (indiquant que le jour est levé), ils transmettent l'information circadienne au moyen de neuropeptides, telle la vasopressine, ou de neurotransmetteurs, tels que le GABA et le glutamate. Ce réseau neuronal recale les horloges secondaires sur l'horloge principale et assure une synchronisation interne de l'ensemble des tissus innervés.

Un autre mode de synchronisation met en jeu des hormones. Toutes les cellules portant des récepteurs des facteurs hormonaux présents dans l'organisme sont sensibles à l'information temporelle liée



Les gènes de l'horloge circadienne

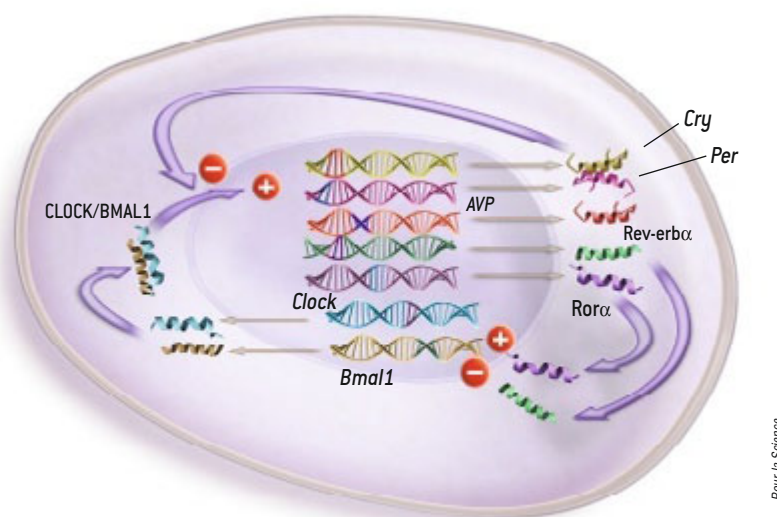
Chez les mammifères, toutes les cellules des horloges circadiennes, que ce soit l'horloge centrale ou les horloges secondaires, expriment des gènes d'horloge. Certains, tels *Clock*, *Bmal1*, *Period* (*Per1-2*) et *Cryptochrome* (*Cry1-2*), jouent un rôle prépondérant. Les gènes *Clock* et *Bmal1* produisent des protéines qui sont des facteurs de transcription. Lorsque les deux facteurs CLOCK et BMAL1 s'associent en un complexe, ils activent l'expression des gènes *Per* et *Cry* en se liant à une séquence spécifique de leur promoteur.

Les protéines PER et CRY s'accumulent à leur tour et interagissent pour réprimer le complexe CLOCK/BMAL1. De ce fait, la production de ces protéines ralentit à mesure qu'elles s'accumulent, et ce n'est qu'après un certain temps, quand l'ensemble des protéines PER et CRY ont été dégradées, que l'activation par CLOCK/BMAL1 peut recommencer. Ce cycle dure environ 24 heures, mais sa précision, son amplitude et sa robustesse sont contrôlées par de nombreux mécanismes moléculaires dits post-traductionnels, c'est-à-dire qui modifient les protéines. En raison de ces modifications, la capacité des facteurs d'horloge à être dégradés, à pénétrer dans le noyau ou encore à interagir avec leurs partenaires change.

Parmi les mécanismes modulateurs, il existe une autre boucle de rétrocontrôle, imbriquée avec la précédente et qui produit des oscillations de l'expression de *Bmal1*. Dans cette boucle, l'expression des facteurs de transcription ROR alpha (activateur) et REV-ERB alpha (répresseur) est aussi activée par le complexe CLOCK/BMAL1. En retour, ROR alpha et REV-ERB alpha activent et répriment alter-

nativement l'expression de *Bmal1* en se liant à une séquence présente dans le promoteur du gène BMAL1.

Toutes ces interactions respectent une chronologie précise durant un cycle de 24 heures : les concentrations maximales des protéines PER et CRY, par exemple, sont décalées de 12 heures environ par rapport à celle de la protéine BMAL1.



Pour la Science

✓ BIBLIOGRAPHIE

Y. Dauvilliers et V. Cochen-De Cock, **Veille et sommeil, un équilibre dynamique**, *L'Essentiel Cerveau&Psycho*, n° 2, pp. 16-23, mai-juillet 2010.

J. Tsai *et al.*, **Melanopsin as a sleep modulator: circadian gating of the direct effects of light on sleep and altered sleep homeostasis in *Opn4*^{-/-} mice**, *PLoS Biology*, 7(6), doi:10.1371/journal.pbio.1000125, 2009.

A. Klarsfeld, **Les horloges du vivant**, Éditions Odile Jacob, 2009.

E. Challet, **Entrainment of the suprachiasmatic clockwork in diurnal and nocturnal mammals**, *Endocrinology*, vol. 148, pp. 5648-5655, 2007.

F. Revel *et al.*, **Kisspeptin mediates the photoperiodic control of reproduction in hamsters**, *Curr. Biol.*, vol. 16(17), pp. 1730-1735, 2006.

à ces messages hormonaux. La synchronisation ne se fait plus directement par le biais d'un circuit, mais indirectement au moyen d'hormones qui diffusent dans tout l'organisme et agissent sur les organes dont les cellules portent des récepteurs de ces hormones. Les signaux circadiens émis par l'horloge suprachiasmatique sont d'abord véhiculés par le système nerveux autonome jusqu'aux glandes concernées, notamment la glande pinéale et les glandes surrénales, puis sont convertis en rythmes hormonaux qui permettent la synchronisation de toutes les horloges. Examinons comment.

Mélanopsine et information lumineuse

Commençons avec la lumière du Soleil, lorsque des rayons sont perçus par la rétine, ou plutôt, d'une part, par les deux grands types de photorécepteurs, les cônes et bâtonnets, les photorécepteurs « classiques » responsables du traitement de l'information visuelle, et, d'autre part, par

une petite population de cellules ganglionnaires localisées dans la couche la plus interne de la rétine.

Ces cellules expriment un photopigment identifié il y a une dizaine d'années : la mélanopsine. Ce photopigment, particulièrement sensible à la lumière bleue, n'intervient pas dans le traitement de l'information visuelle (reconnaissance des objets, traitement des couleurs, etc.), rôle assuré par les cônes et les bâtonnets. En revanche, quand la mélanopsine est activée par la lumière, nous avons montré que les cellules ganglionnaires transmettent l'information lumineuse à certaines structures cérébrales avec lesquelles elles sont en connexion directe, dont les noyaux suprachiasmatiques. Ainsi, l'information lumineuse est transmise à l'horloge centrale par l'intermédiaire des cellules ganglionnaires à mélanopsine. Les cônes et bâtonnets peuvent également jouer un rôle, bien qu'à un moindre degré, en transférant l'information lumineuse aux cellules ganglionnaires à mélanopsine qui prennent ensuite le relais.

Sous l'effet d'une impulsion lumineuse, les cellules ganglionnaires libèrent deux types de molécules, un neurotransmetteur, le glutamate, et un neuropeptide, le PACAP. Ces signaux (*via* divers messagers intracellulaires) activent l'expression des gènes de l'horloge des neurones suprachiasmatiques, ce qui permet à l'horloge centrale de démarrer un nouveau cycle. La mélanopsine joue donc un rôle essentiel : elle cale le rythme veille-sommeil sur 24 heures en fonction de l'alternance de la lumière et de l'obscurité. Chaque jour, l'horloge est resynchronisée.

La mélatonine, pour le sommeil

La mélatonine est un important signal hormonal émis par l'horloge centrale et qui définit la « nuit biologique ». Elle est synthétisée dans la glande pinéale et libérée quand survient l'obscurité, sous le contrôle des noyaux suprachiasmatiques. La libération cyclique de la mélatonine impose un rythme circadien aux structures qui expriment des récepteurs de cette hormone. Les noyaux suprachiasmatiques exprimant eux-mêmes des récepteurs de la mélatonine, cela indique que l'hormone rétroagit sur l'horloge elle-même, de sorte que la mélatonine exogène (administrée à un sujet) peut agir sur le système circadien, ce qui a été confirmé expérimentalement : elle a un effet dit chronobiotique. Ainsi, la mélatonine synchronise l'horloge et, le soir, avec le coucher du soleil et l'obscurité, c'est elle qui joue le rôle principal pour le passage de l'éveil au sommeil, en exerçant un effet hypnotique puissant chez l'homme : c'est un somnifère naturel.

Sa synthèse est bloquée par la lumière et sa concentration est minimale pendant la journée. Elle cesse aussi d'être synthétisée dès que l'on éclaire brièvement une pièce dans laquelle une personne dort. Cette méthode simple et efficace qui permet de supprimer la production de mélatonine chez un sujet endormi est utilisée par les équipes qui étudient le sommeil et la chronobiologie pour évaluer la réactivité de l'horloge circadienne en présence de lumière.

Cette hormone a fait l'objet de nombreuses recherches et elle est utilisée pour lutter contre les décalages horaires, car elle resynchronise les rythmes circadiens sur la nouvelle heure locale. Elle est aussi

utilisée pour traiter certains troubles du sommeil et des rythmes circadiens.

Ainsi, l'horloge centrale, mais aussi toutes les horloges secondaires sont synchronisées par la lumière du jour. En dehors de la lumière, la prise alimentaire joue un rôle sur l'horloge biologique. Dans certaines expériences visant à étudier cet effet, on modifie l'horaire des repas, en les imposant, par exemple, durant la période habituelle de repos. Chez l'animal, ce type de protocole a permis de mettre en évidence que l'heure des repas est un puissant synchroniseur des horloges périphériques dans le foie, le cœur, le pancréas ou le tissu adipeux.

En revanche, l'horloge suprachiasmatique est relativement insensible à l'effet synchroniseur des repas. Cela signifie que l'horloge centrale est surtout synchronisée par la lumière, mais peu par l'alimentation, l'exercice physique ou encore les interactions sociales qui sont, avec la lumière, les principaux éléments agissant sur la synchronisation des horloges circadiennes. Au contraire, les horloges secondaires sont directement influencées par ces signaux extérieurs. En revanche, l'efficacité de ces signaux varie : la lumière synchronise fortement l'horloge centrale et les rétroactions avec les horloges secondaires sont importantes. Par ailleurs, l'alimentation, l'exercice physique ou les interactions sociales synchronisent les horloges secondaires, mais la modulation et les rétroactions sont faibles. Ainsi, la lumière et l'obscurité agissent directement

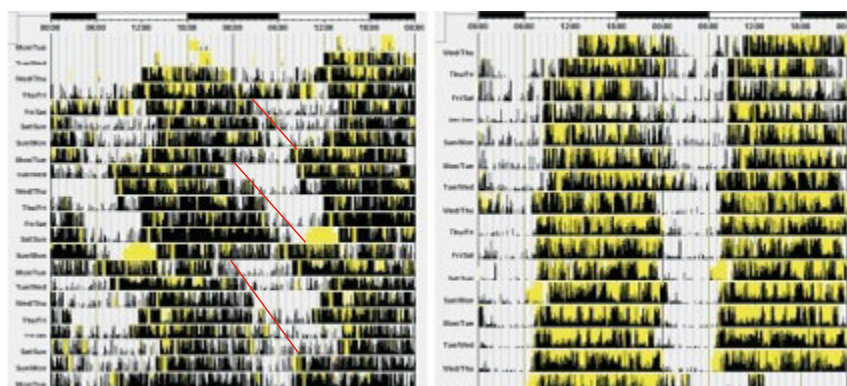
sur les systèmes de régulation de l'horloge circadienne. Ce sont essentiellement elles qui déterminent la durée et la qualité de l'éveil et du sommeil, calant l'éveil sur le jour et le sommeil sur la nuit.

Ces rythmes, nous l'avons souligné, se calent sur 24 heures. Mais les organismes, notamment l'être humain, sont soumis à d'autres cycles, plus longs, calés sur les saisons. Voyons comment les horloges agissent sur ces cycles à plus long terme.

Le rythme des saisons

Durant l'année, les conditions de vie sont plus ou moins favorables en termes de température, de lumière, de nourriture disponible. La physiologie de la plupart des espèces est adaptée à ces contraintes environnementales. Certains animaux migrent, d'autres hibernent, pour d'autres encore l'activité métabolique change. L'activité de reproduction est généralement limitée au printemps, la période de l'année la plus favorable à la survie des petits. Ces phénomènes adaptatifs nécessitent que les organismes soient capables de détecter et de traduire les variations environnementales en informations nerveuses et moléculaires.

La durée d'éclairement quotidienne (la photopériode) change de façon régulière et reproductible au cours d'une année, et c'est le principal facteur environnemental utilisé pour synchroniser les fonctions biologiques avec les saisons. Ainsi une photopériode courte signale l'hiver et une photopériode longue correspond à l'été.



4. DES ACTOGRAMMES, enregistrements de l'activité locomotrice, sont réalisés à l'aide d'un actimètre, un petit boîtier porté au poignet, qui enregistre les mouvements ainsi que l'exposition à la lumière, durant plusieurs jours. Les données [activité locomotrice en noir, exposition à la lumière en jaune] sont représentées sur chaque ligne pour deux jours consécutifs, le deuxième jour est représenté à droite sur une ligne et à gauche sur la ligne suivante. On constate ici que le rythme circadien de la personne étudiée n'était pas entraîné par la lumière : on observe un décalage progressif (traits rouges à gauche) de l'heure d'endormissement (les zones grises correspondent aux périodes de sommeil). L'administration de mélatonine a permis de recaler le rythme circadien de cette personne qui dort désormais de 23 heures à 7 ou 8 heures environ (à droite).

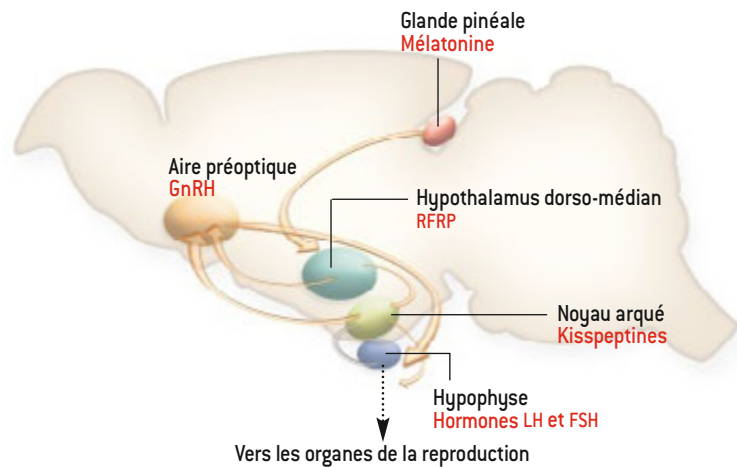
Mélatonine et reproduction

La mélatonine régule l'expression de plusieurs gènes, notamment de *Kiss1*, qui synthétisent les kisspeptines. Ce gène est exprimé dans les neurones de deux noyaux de l'hypothalamus : le noyau arqué et le noyau antéventral péri-ventriculaire. Les neurones à kisspeptines se projettent vers l'aire préoptique où sont localisés les neurones à GnRH et vers l'éminence médiane, qui contient les terminaisons de ces neurones. Les kisspeptines stimulent la libération de GnRH et la sécrétion des gonadotrophines LH et FSH, les hormones qui activent les gonades. Par ailleurs, les neurones qui expriment *Kiss1* sont soumis à des rétrocontrôles (négatifs ou positifs) des hormones sexuelles.

Or les structures hypothalamiques contenant les neurones à kisspeptines ne présentent pas de récepteurs de la mélatonine. Il est donc vraisemblable que cette hormone exerce son effet inhibiteur de façon indirecte, par le biais d'autres cellules. La mélatonine inhibe l'expression de *Kiss1*, mais aussi celle d'autres gènes, tels *Rfrp* et *Dio2*. Le gène *Rfrp* exprime les peptides RFRP dans des neurones de l'hypothalamus dorso-médian, où sont localisés des récepteurs de la mélatonine chez certaines espèces, en particulier le hamster syrien (voir le

schéma). La mélatonine agirait sur les neurones à RFRP qui réguleraient l'activité de reproduction soit en agissant directement sur les neurones à GnRH, soit par l'intermédiaire des neurones à kisspeptines du noyau arqué. De surcroît, des récepteurs de la mélatonine sont fortement exprimés dans les cellules à TSH de la *pars tuberalis*, et la mélatonine régule la production de cette hormone. Cette dernière régulerait la synthèse d'enzymes impliquées dans le métabolisme de l'hormone thyroïdienne localement, à

la base de l'hypothalamus. Ce système complexe permettrait une régulation fine de la concentration locale de l'hormone thyroïdienne en fonction des saisons. L'administration de cette hormone est capable de réguler l'activité de reproduction de plusieurs espèces, mais on ignore encore par quel mécanisme. L'hormone thyroïdienne pourrait agir directement sur les neurones à kisspeptines puisque des récepteurs de cette hormone sont présents dans le noyau arqué, régulant ainsi la sécrétion de GnRH.



Pour la Science

L'horloge des noyaux suprachiasmatiques est capable de détecter ces variations saisonnières de la lumière, qui sont alors traduites en rythmes de sécrétion de différentes hormones, en premier lieu la mélatonine. Cette hormone est, rappelons-le, synthétisée et sécrétée uniquement durant la nuit, d'autant plus longtemps que la nuit est longue. Ainsi, la quantité globale de mélatonine dans l'organisme varie selon les saisons.

Les neurones à kisspeptines

Récemment, des analyses génétiques ont permis d'isoler des gènes dont l'expression est régulée par la mélatonine. L'un d'entre eux, *Kiss1*, code une famille de peptides, les kisspeptines, qui se fixent sur un récepteur spécifique (Kiss1R). Une mutation du gène codant ce récepteur chez l'homme ou la souris bloque le développement pubertaire, révélant le rôle primordial des kisspeptines dans la régulation neuroendocrine de la reproduction.

Chez le hamster syrien, un modèle animal permettant d'étudier le rôle des saisons sur les fonctions biologiques, l'activité

reproductrice est inhibée quand la photopériode est courte (conditions expérimentales reproduisant les conditions hivernales). Nous avons observé que, dans ces conditions, la synthèse des kisspeptines est réduite. Cette inhibition est due à l'augmentation de la production de mélatonine. Nous avons également montré que l'administration chronique de kisspeptines à des hamsters élevés en conditions de photopériode courte (inhibitrice) permet à l'activité de reproduction de reprendre. Ainsi, chez le hamster syrien, la mélatonine synchronise l'activité de reproduction avec les saisons en régulant l'expression des kisspeptines : en hiver, la nuit est longue, la production de mélatonine importante, ce qui inhibe la production de kisspeptines et, par conséquent, la synthèse des hormones de la reproduction.

Or, outre *Kiss1*, d'autres gènes sont inhibés par la mélatonine. C'est le cas du gène *Rfrp*, dont l'expression est fortement inhibée par cette hormone quand la photopériode est courte. Par ailleurs, des injections de RFRP perturbent la sécrétion des gonadotrophines et la production des hormones sexuelles. Ces données suggèrent que la mélatonine agit en premier lieu

sur les neurones à RFRP qui pourraient réguler l'activité de reproduction par l'intermédiaire des neurones à kisspeptines ou en agissant directement sur les neurones à GnRH, une neurohormone qui contrôle la production des hormones sexuelles (voir l'encadré ci-dessus). La découverte récente de plusieurs gènes s'exprimant dans l'hypothalamus et régulés par la mélatonine a permis de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-tendant la reproduction.

On savait déjà que cette substance joue un rôle majeur dans la synchronisation de l'horloge circadienne. Cette double fonction fait de cette molécule un acteur clé de nos rythmes physiologiques. C'est d'ailleurs pourquoi elle représente aujourd'hui un enjeu clinique important : cette molécule ou d'autres qui renforceraient son action (des agonistes) ou l'inhiberaient (des antagonistes) pourraient être utilisées pour traiter les troubles du sommeil, qui touchent une proportion notable de la population. Par ailleurs, elle a déjà des applications dans le domaine vétérinaire, où il est important de pouvoir étaler la production des animaux d'élevage tout au long de l'année. ■