

# **Introduction aux rythmes biologiques**

**Francis LEVI**

**INSERM E 0118 « Chronothérapeutique des Cancers »  
Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France**

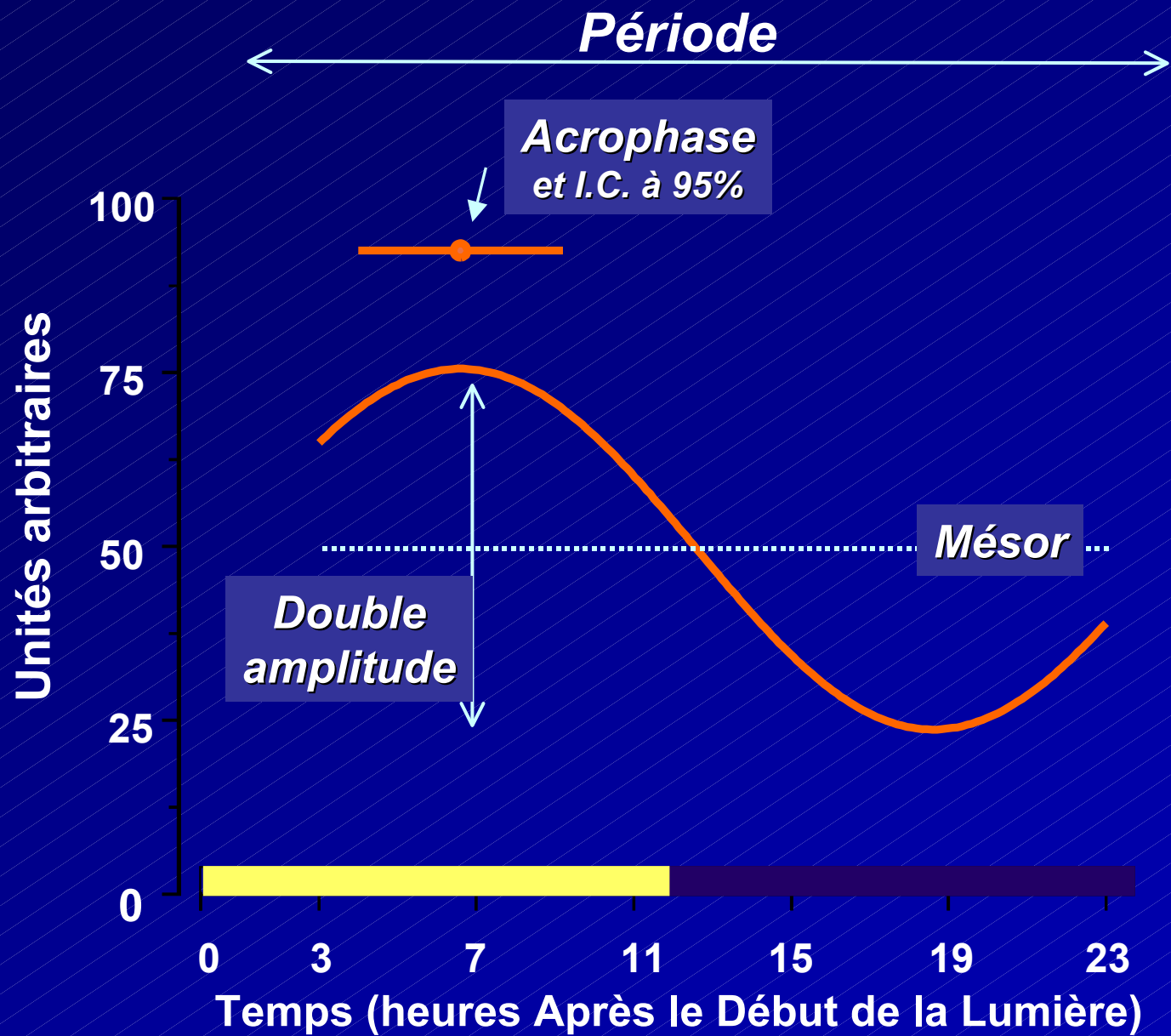
# Rythmes Biologiques

- **Descriptif**



- **Neurosciences**
- **Biologie moléculaire**
- **Applications médicales**





**Synchroniseur**

# Période

- circadienne (20 à 28 h)
- ultradienne ( $< 20$  h)
- infradienne ( $> 28$  h)
  - circaseptaine
  - cycle de fertilité (estral, ovarien)
  - circannuelle

# Rythmes biologiques

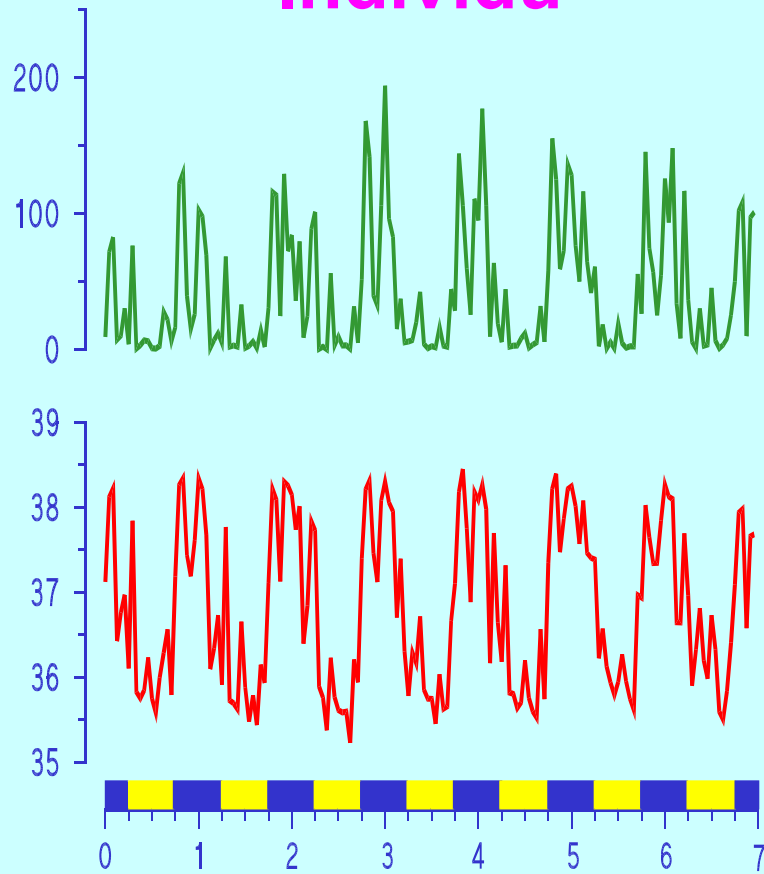
## Période

- |                             |               |
|-----------------------------|---------------|
| • Rythmes neuronaux         | 0.01-10 s     |
| • Rythmes cardiaques        | 1 s           |
| • Oscillations du calcium   | 1 s - 30 mn   |
| • Oscillations biochimiques | 1-20 mn       |
| • Cycle mitotique           | 10 min - 24 h |
| • Rythme circadien          | 20 - 28 h     |
| • Rythmes hormonaux         | 10 min - 3 h  |
| • Cycle ovarien             | 28 jours      |
| • Rythmes annuels           | 1 an          |

# Rythmes circadiens de température et d'activité chez la Souris en LD 12:12

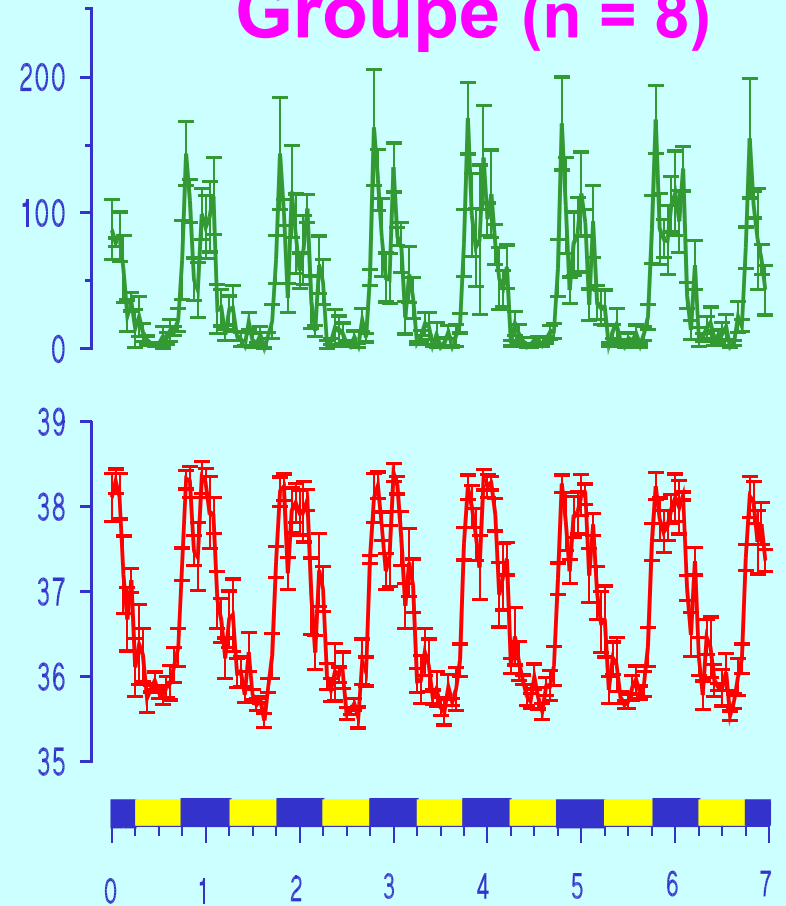
Activité (unités)

Individu



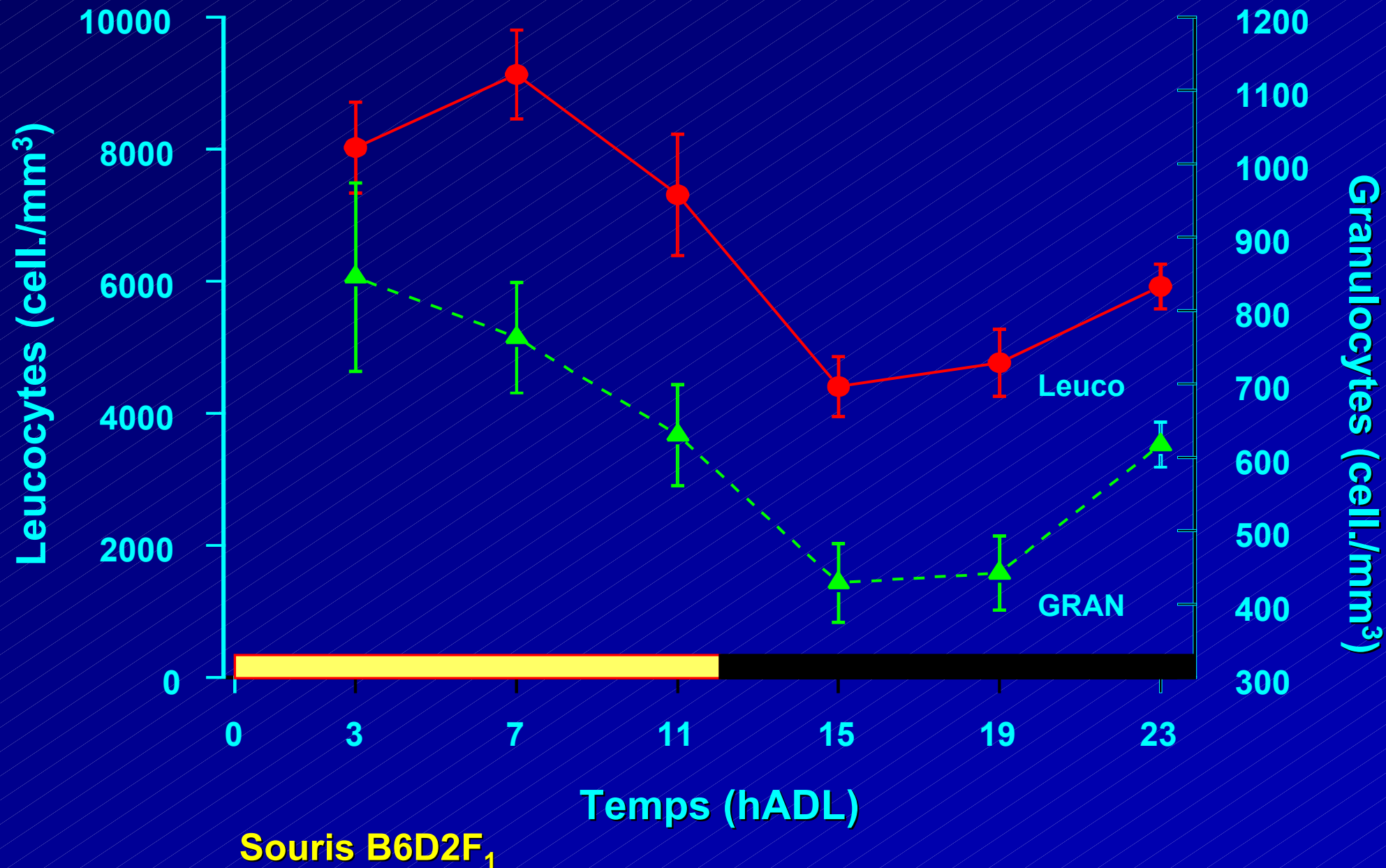
Température (°C)

Groupe (n = 8)

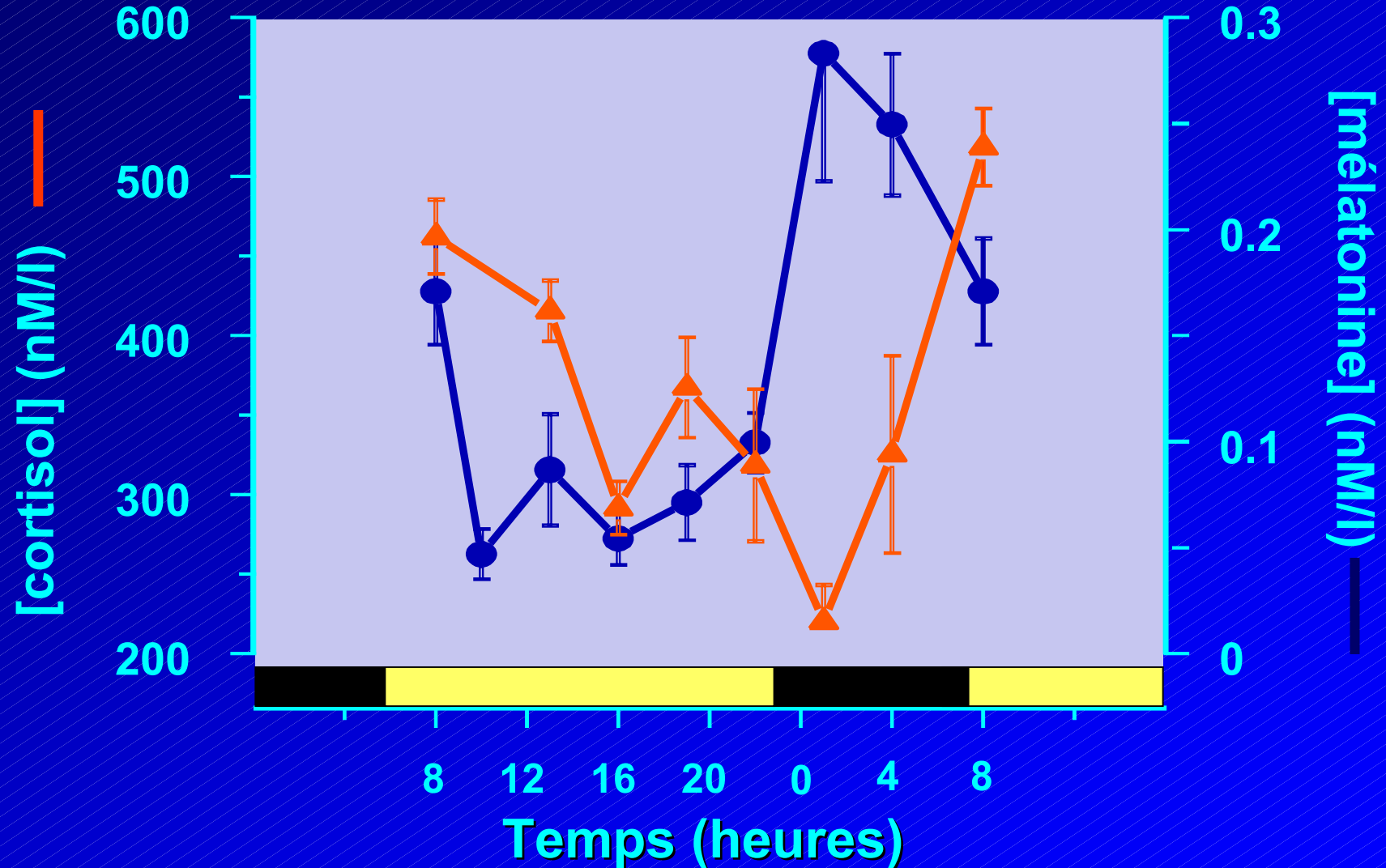


Jours

# Rythme circadien des globules blancs circulants

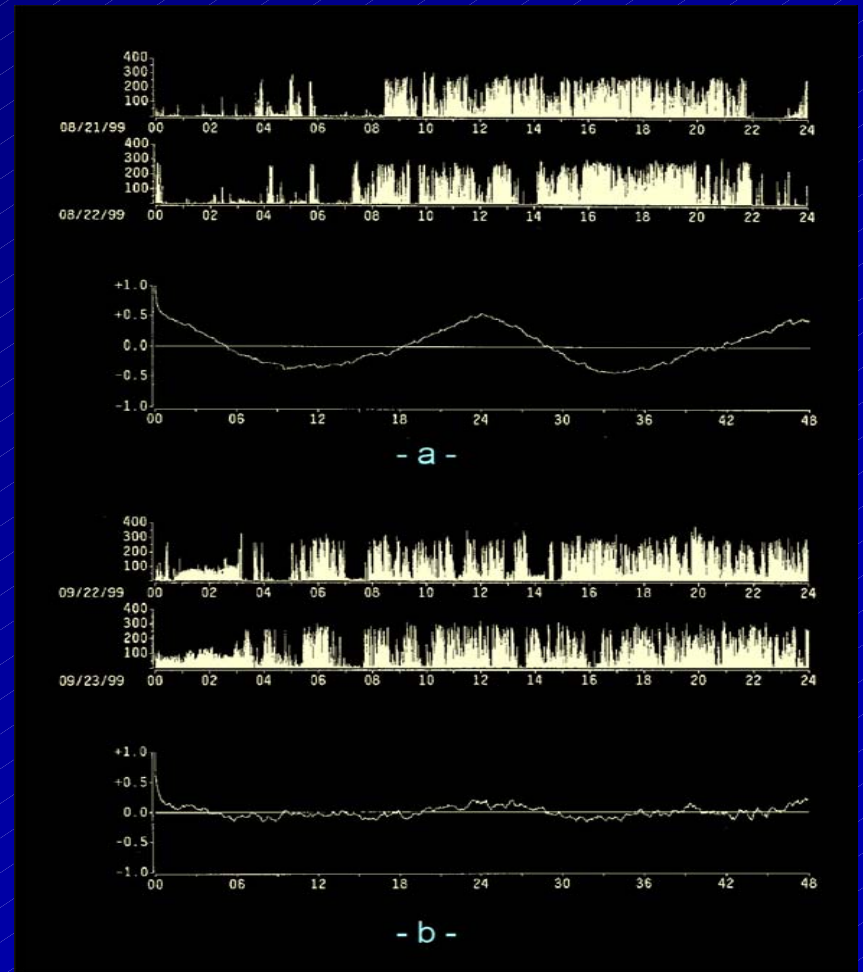


# Rythme du cortisol et de la mélatonine plasmatiques chez 18 patients cancéreux



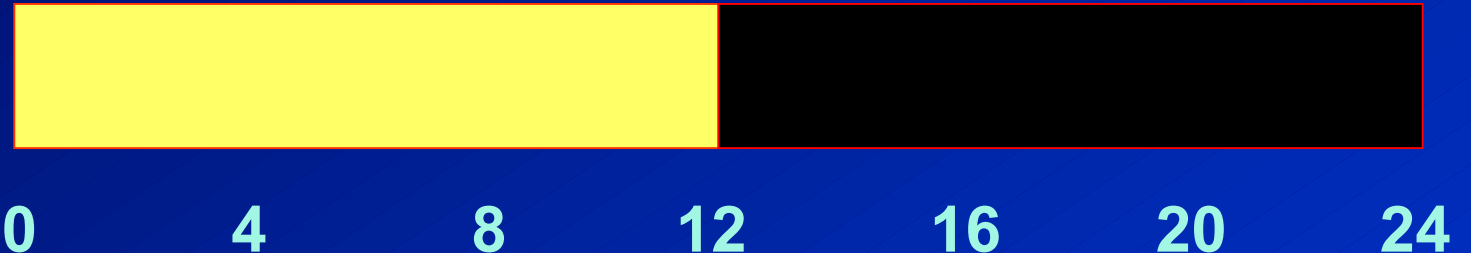


# Cycle activité-repos mesuré par actimétrie



Heures Après le Début de la Lumière (hADL)  
Hours After Light Onset (HALO)  
Zeitgeber Time (ZT)

**Rat, Souris,  
Hamster**  
LD 12:12



*Repos*

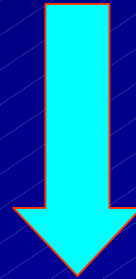
*Activité*

**Humains**



Heure locale

**Synchronisation**



**Structure circadienne**

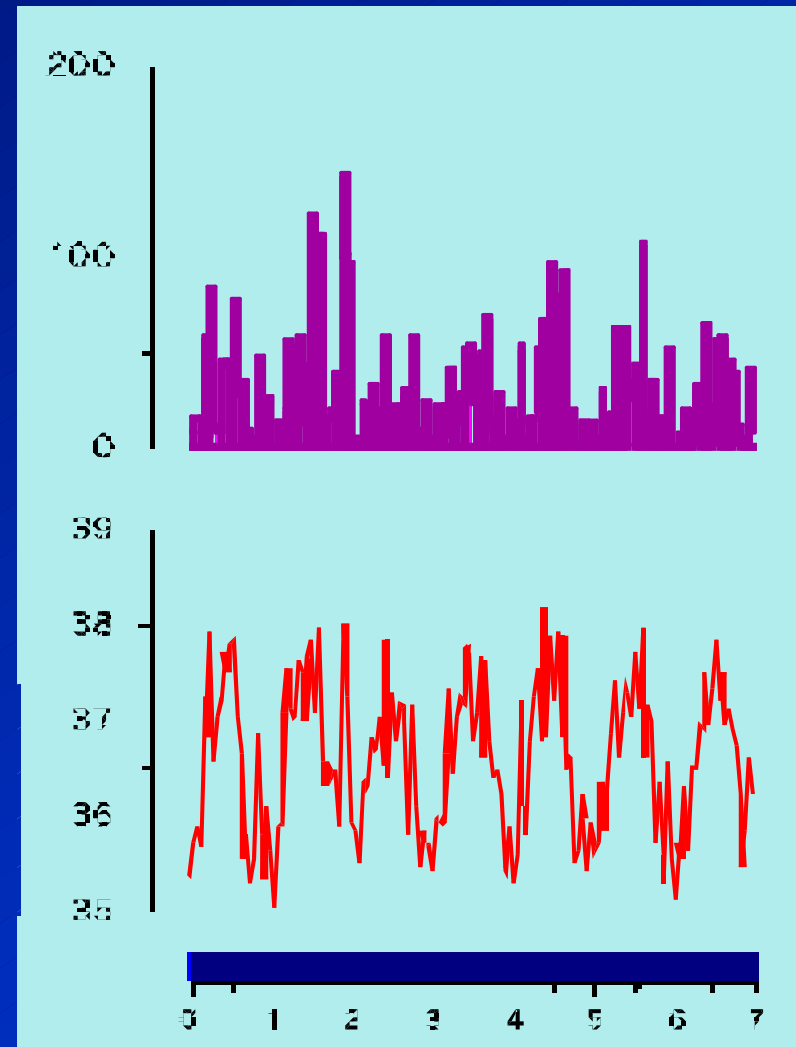
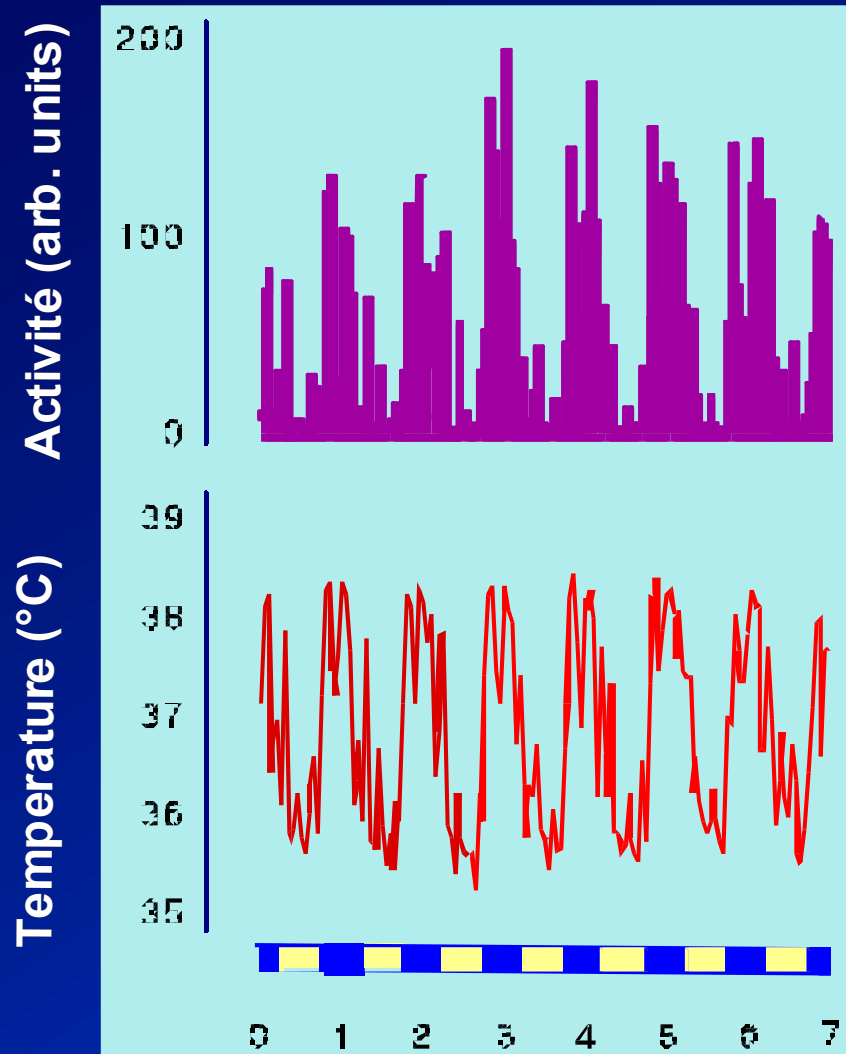
# Rythmes circadiens

- endogènes
- ubiquitaires
- horloge centrale (mammifères)
- gènes spécifiques

# Rythmes endogènes chez la souris B6D2F<sub>1</sub>

LD 12:12

DD (19 semaines)

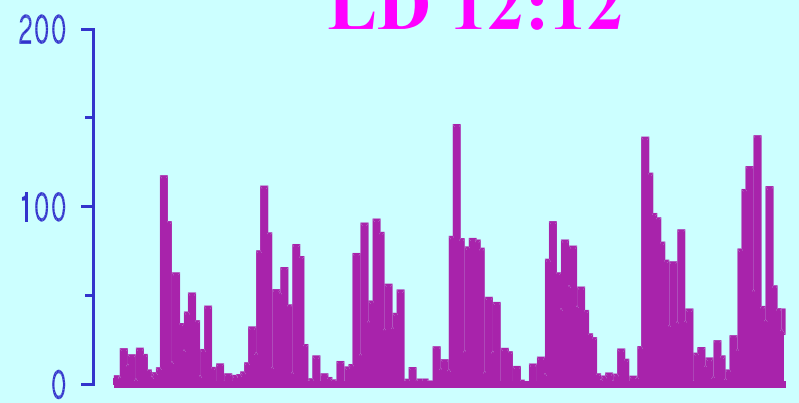


Jours)

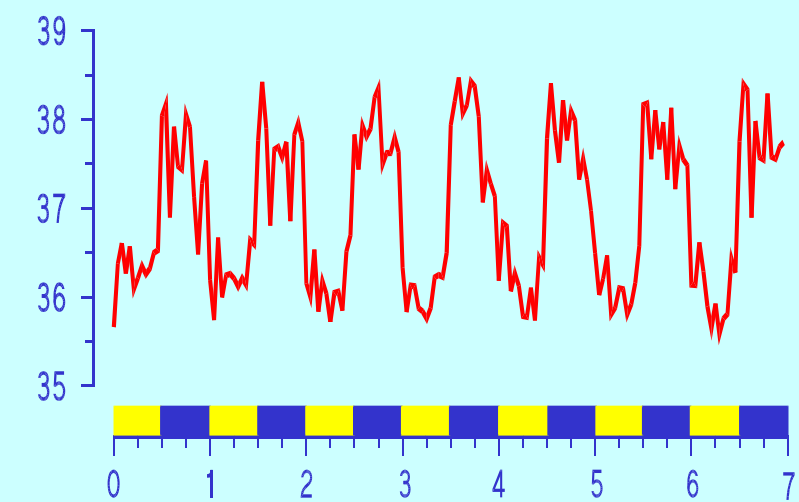
# Rythmes circadiens de température et d'activité chez la Souris en LD 12:12 ou en LL

Activité (unités)

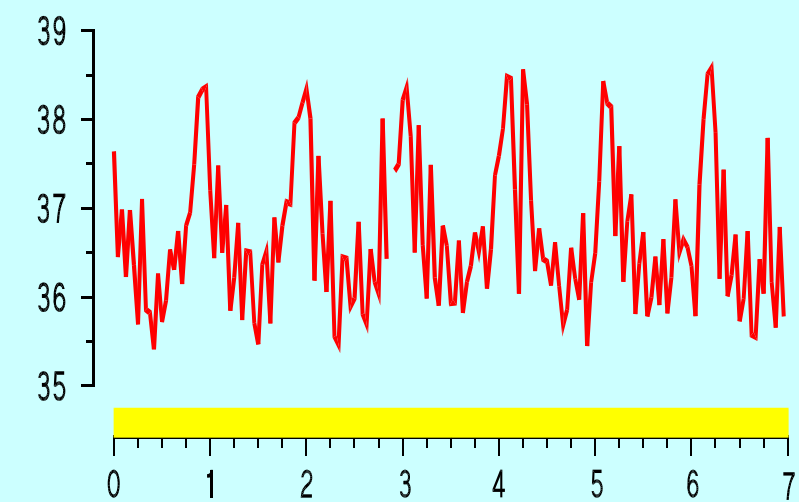
LD 12:12



Température (°C)



LL



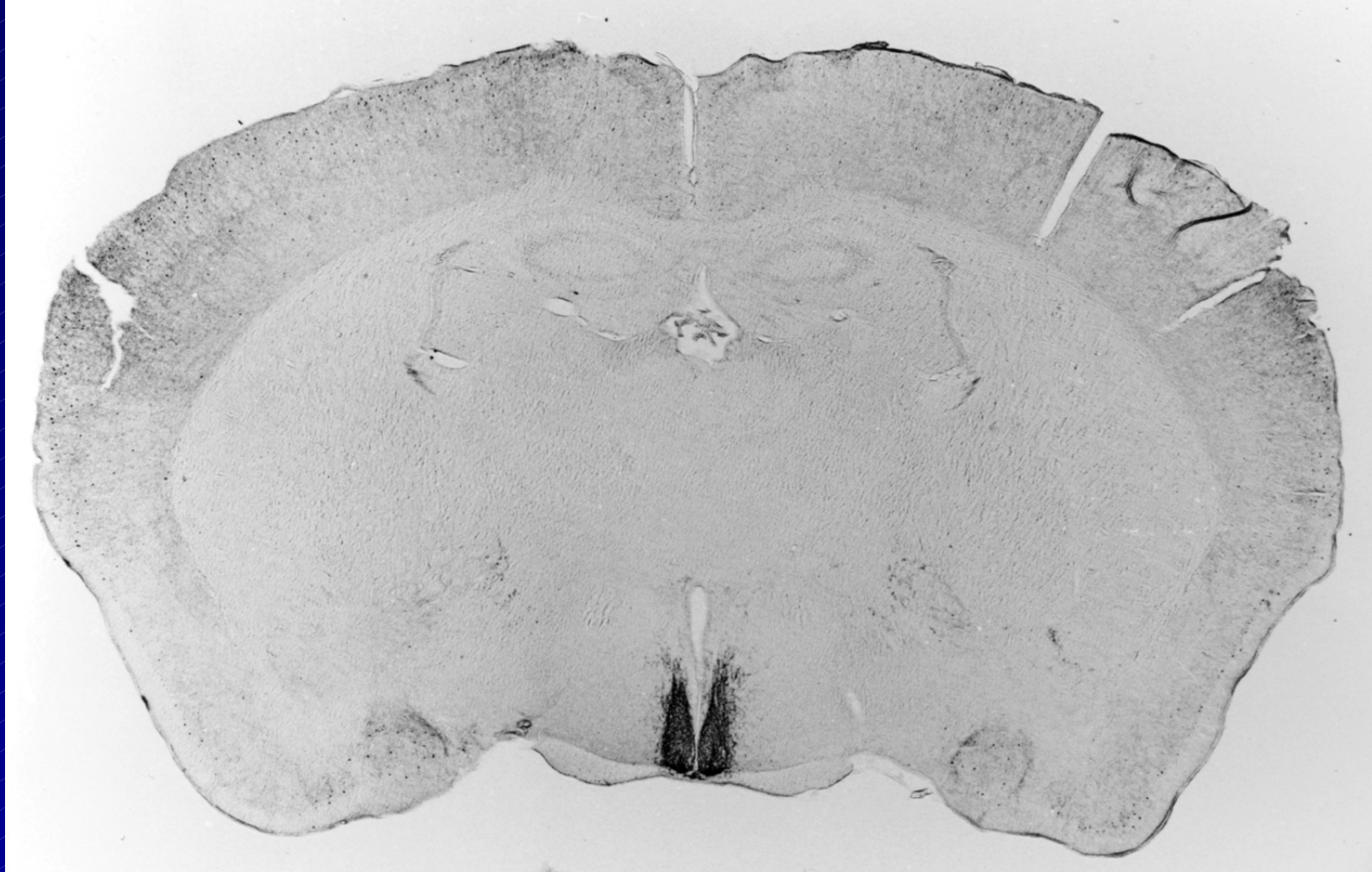
Jours

# **Endogénicité des rythmes circadiens chez l'Homme**

- **Expériences d'isolement prolongé (> 300)**
- **Suppression des synchroniseurs (effet de masque)**
  - **lumière tamisée constante**
  - **alimentation contrôlée**
  - **position**



# Noyau suprachiasmatique de souris





# Modèle de souris avec lésion des NSC

Témoin

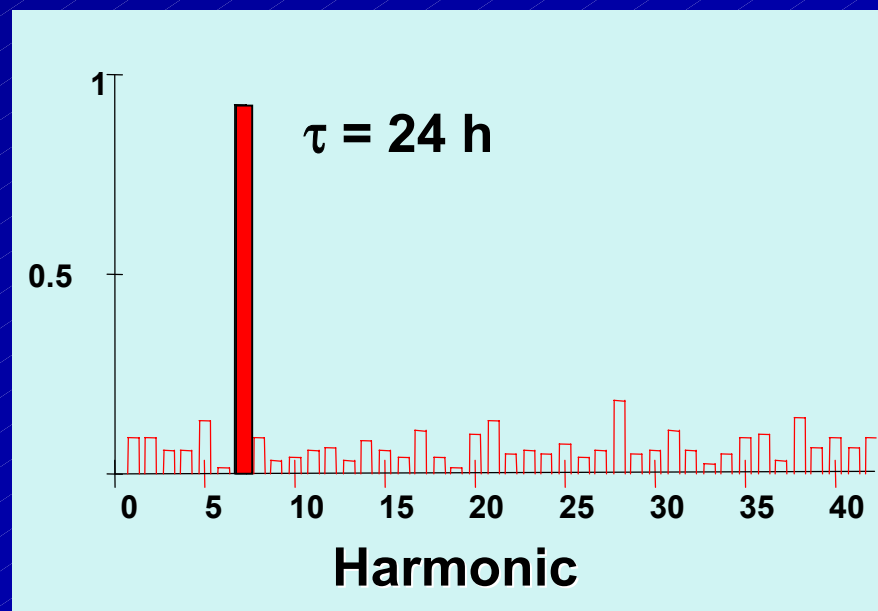
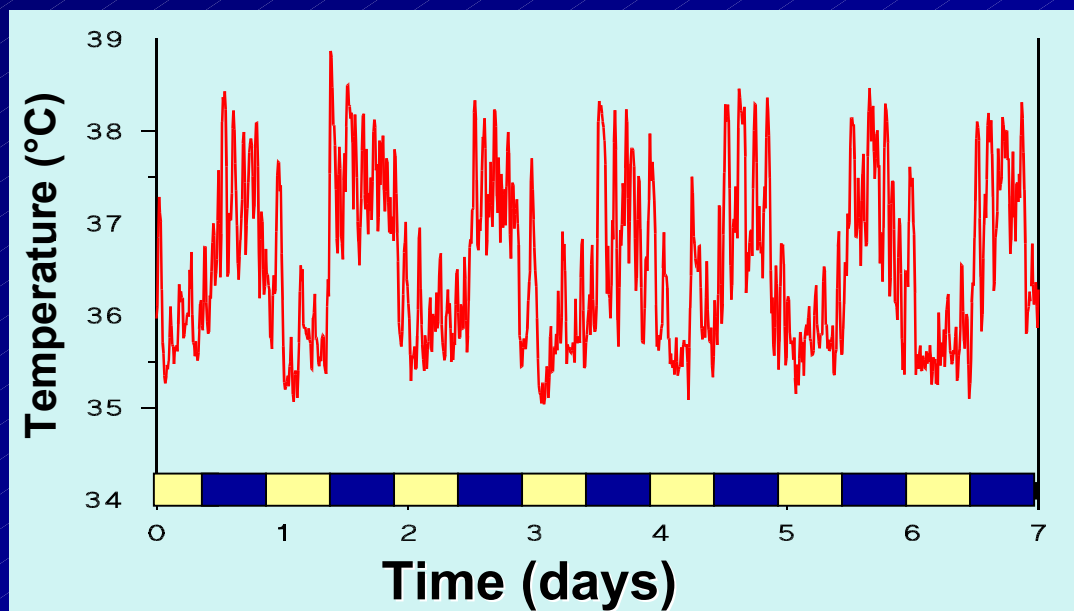
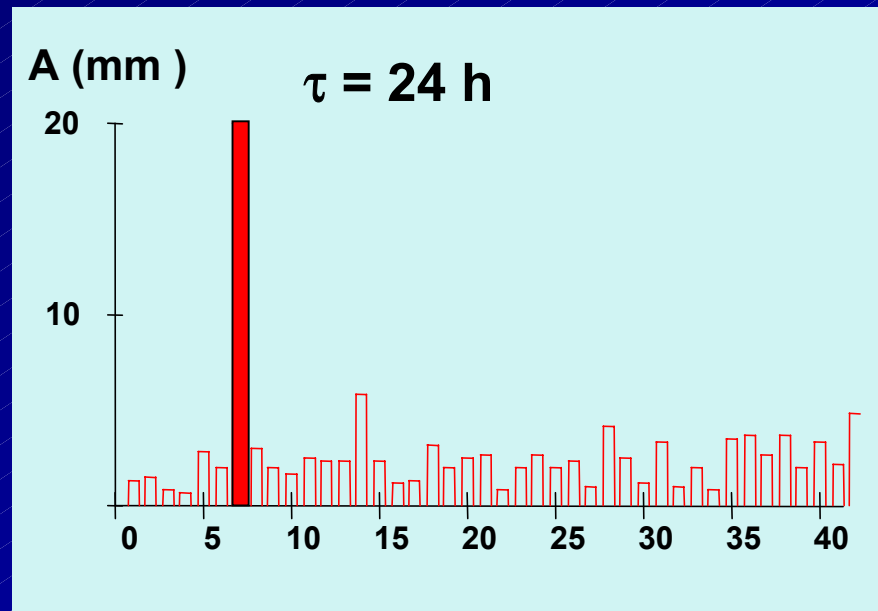
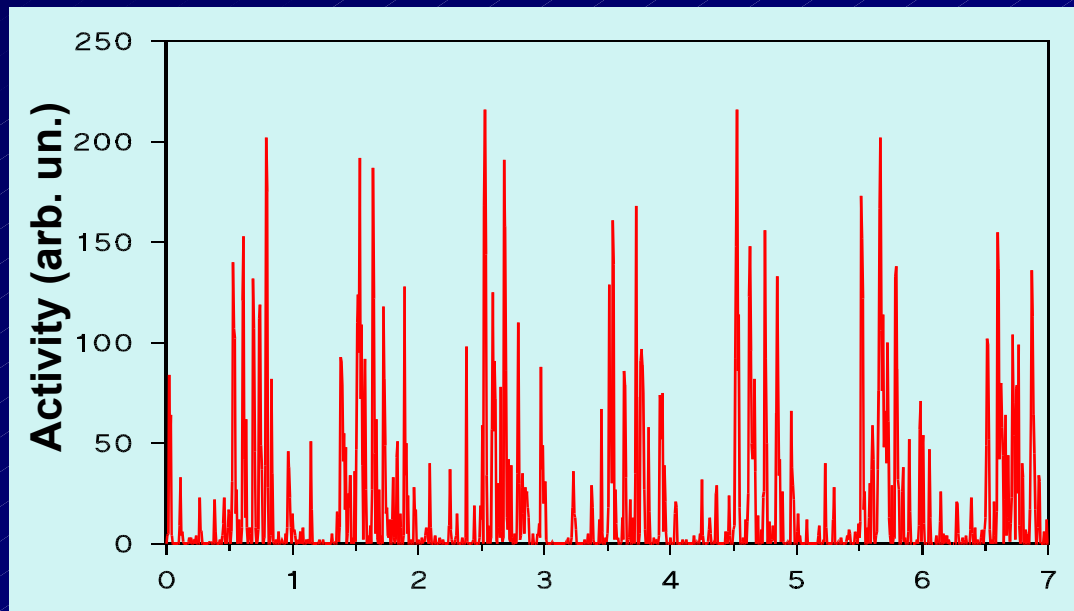


NSC(-)

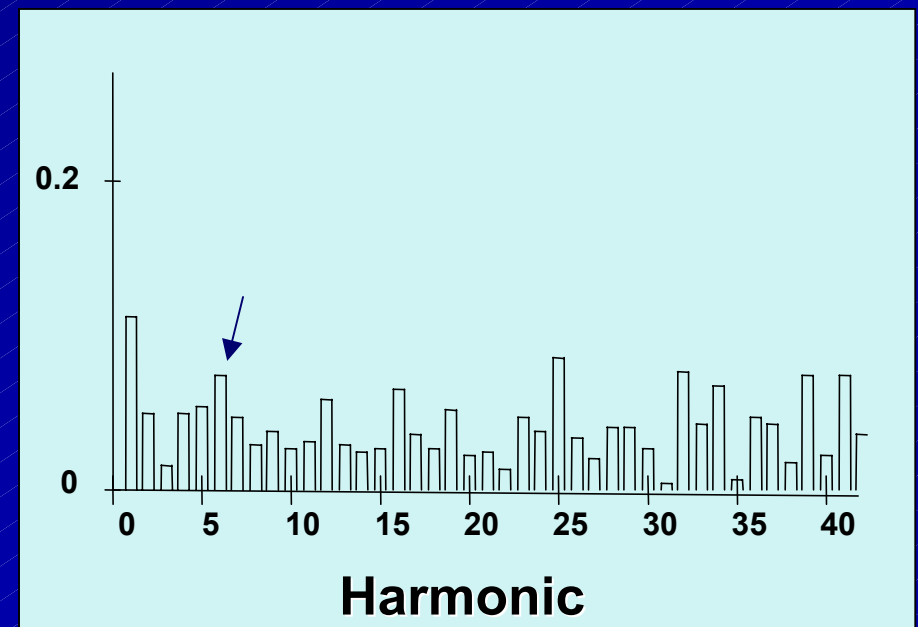
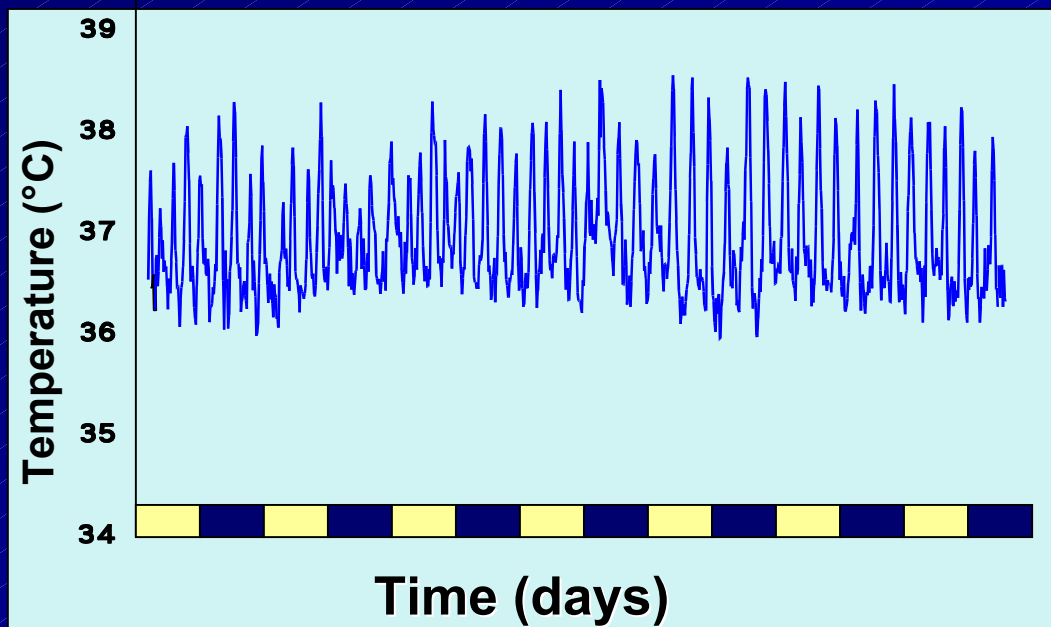
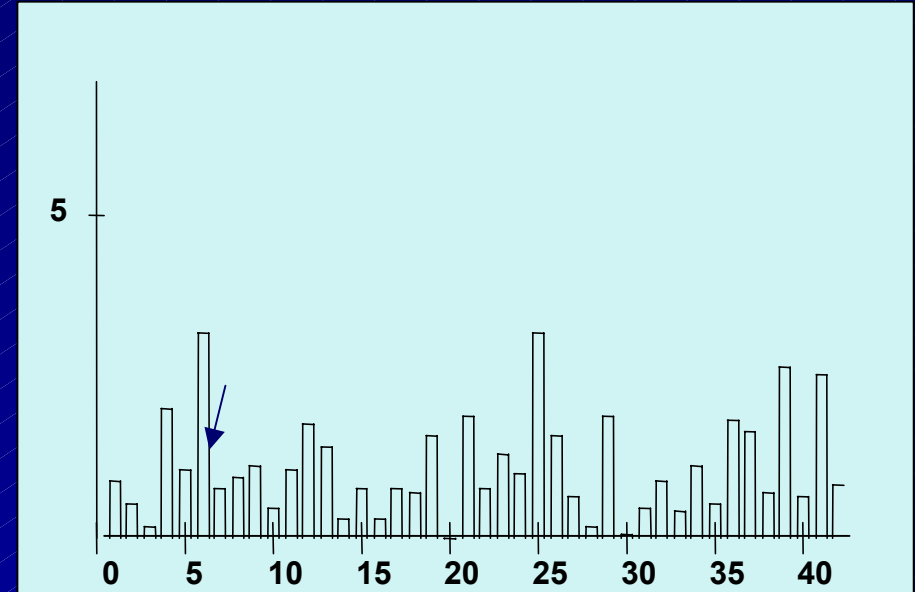
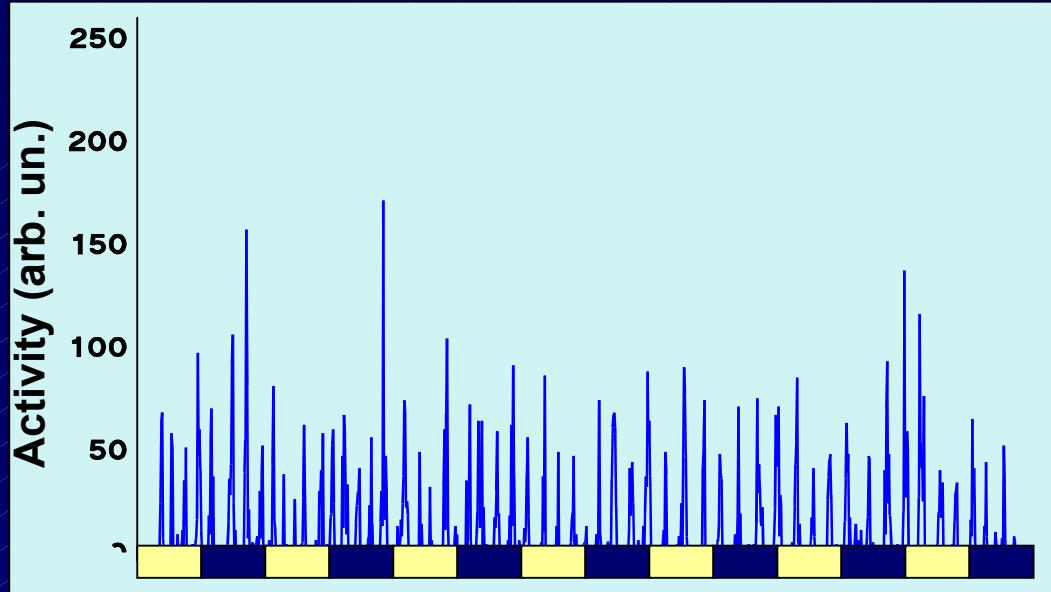


Immunocoloration PHI

# Cycle activité-repos et rythme thermique (souris témoin)



# Cycle activité-repos et rythme thermique (souris avec NSC détruit)

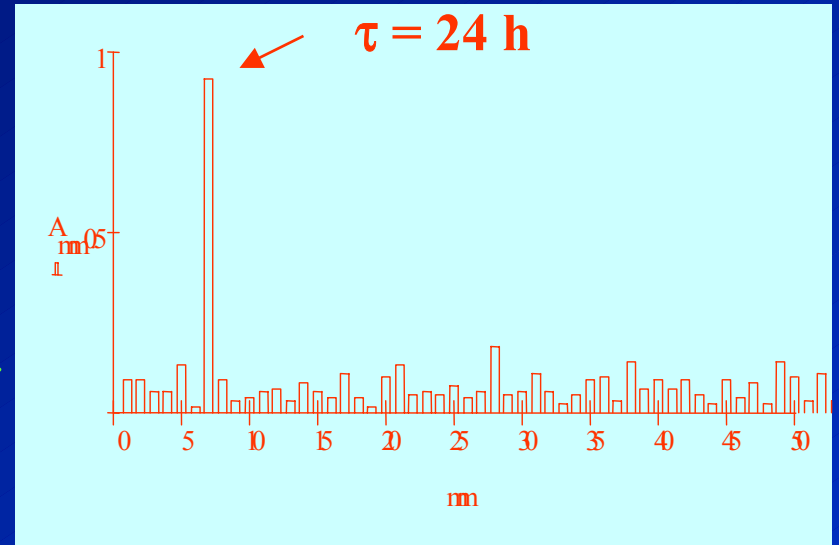
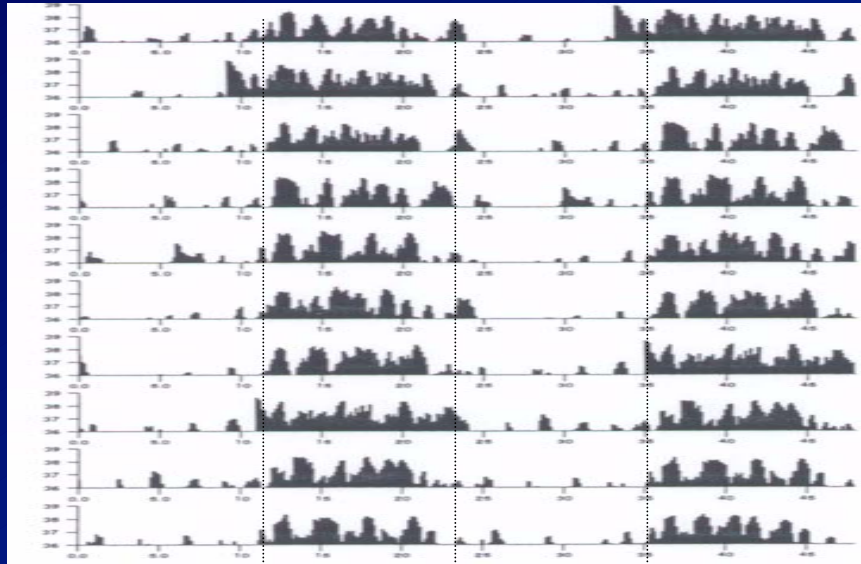


# Température péritonéale

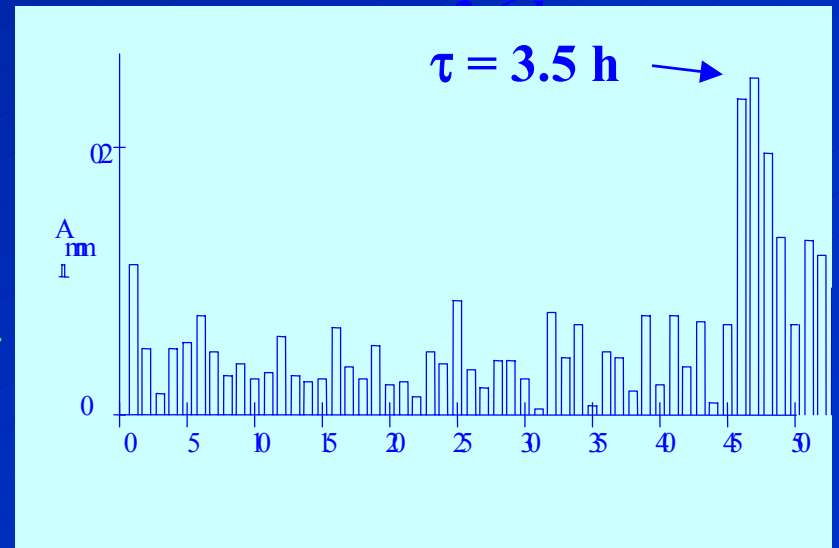
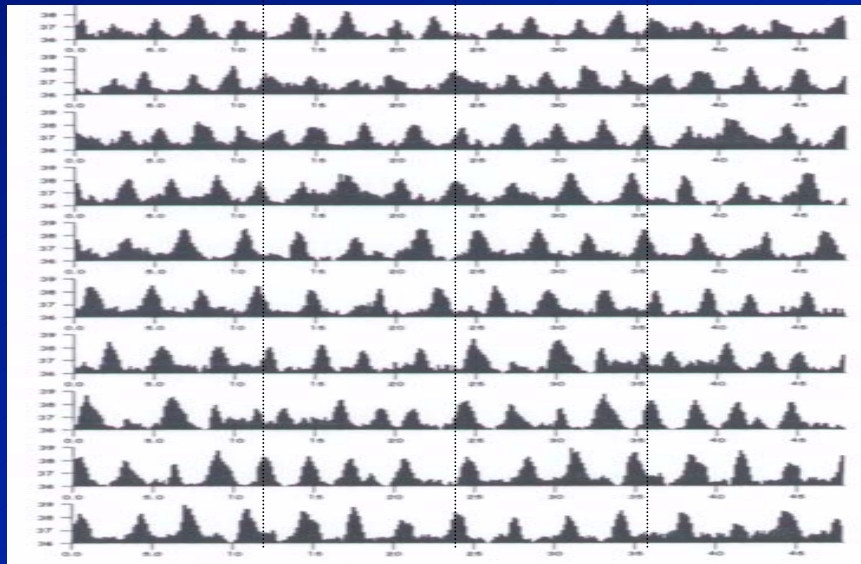
Double-tracé

Analyse spectrale

Témoin



NSC (-)



0 12 24 12 24  
Heures après le début de la lumière

# Cycle activité-repos

## Drosophile

*d-per*  
*d-tim*

### Homologues

*d-clock*  
*d-cyc*  
*d-cry*

## Rongeurs

### Souris

*m-clock*  
*m-bmal-1*

### Rat

*r-per1*  
*r-per2*

### Hamster

*tau*  
(*cklε*)

### Homologues

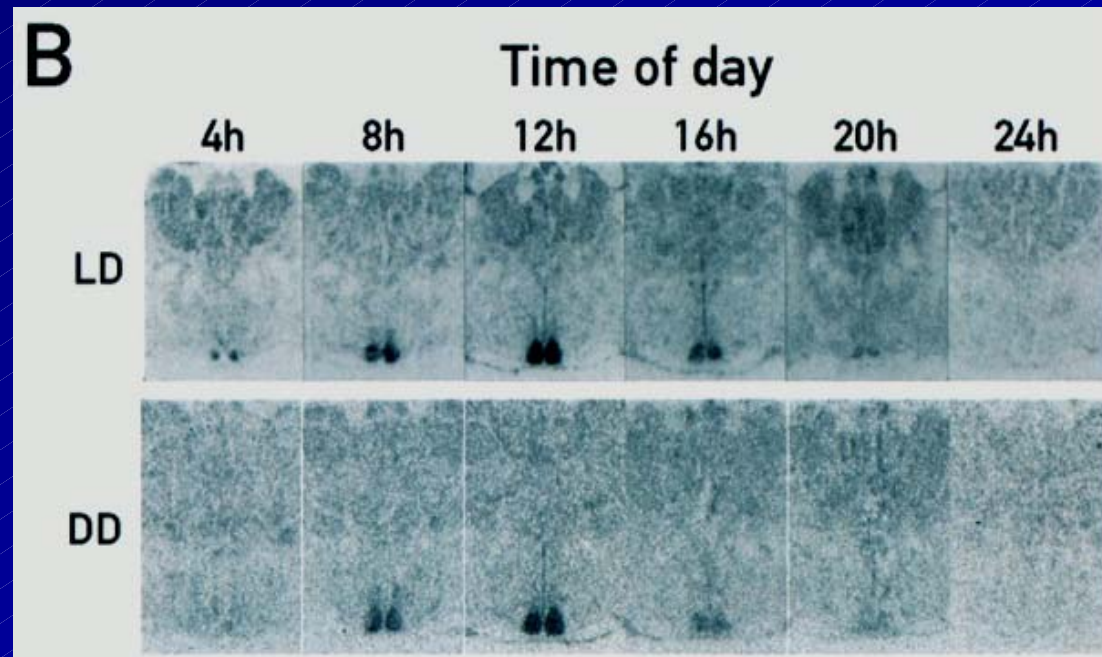
*m-per1*  
*m-per2*  
*m-per3*  
*m-tim*  
*m-cry1*  
*m-cry2*

## Autres homologues

*Clock*  
*Poisson zèbré*

*Per, tim,*  
*clock,*  
*bmal-1, cry*  
*Homme*

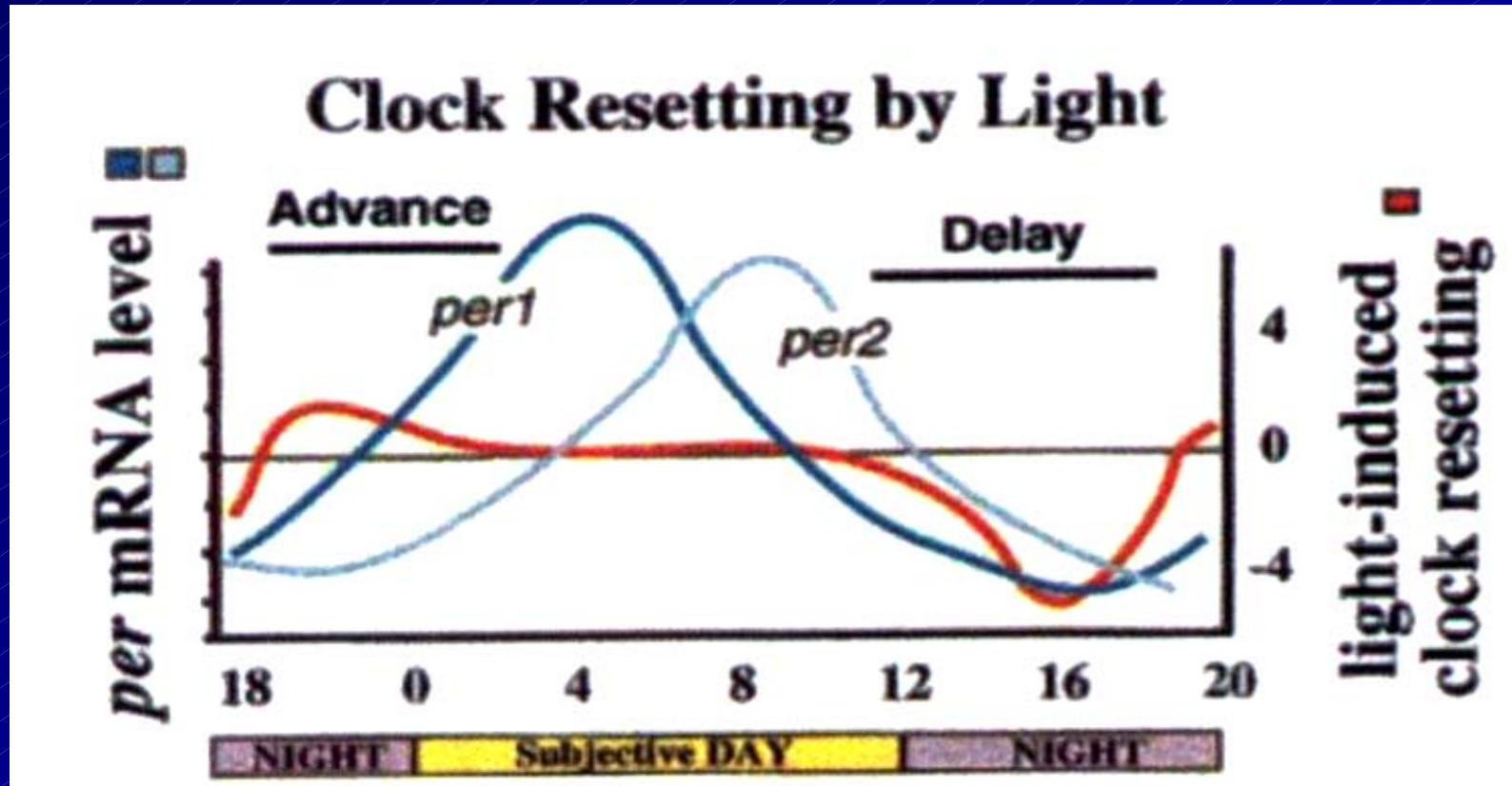
# Rythme circadien de l'expression de gènes dans les NSC



*Schibler et coll., 1997*



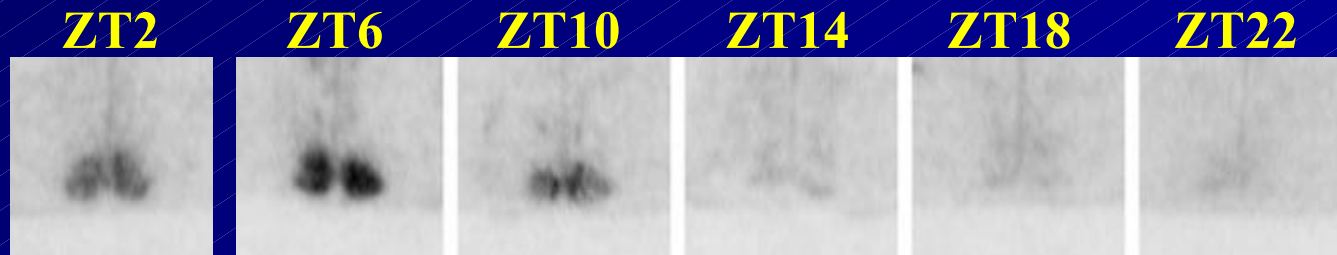
# Réponse de phase à la lumière



Temps (heures)

# Décalage de phase des rythmes d'expression de Per1 dans les NSC et dans les tissus périphériques

## ARNm Per1 dans les NSC

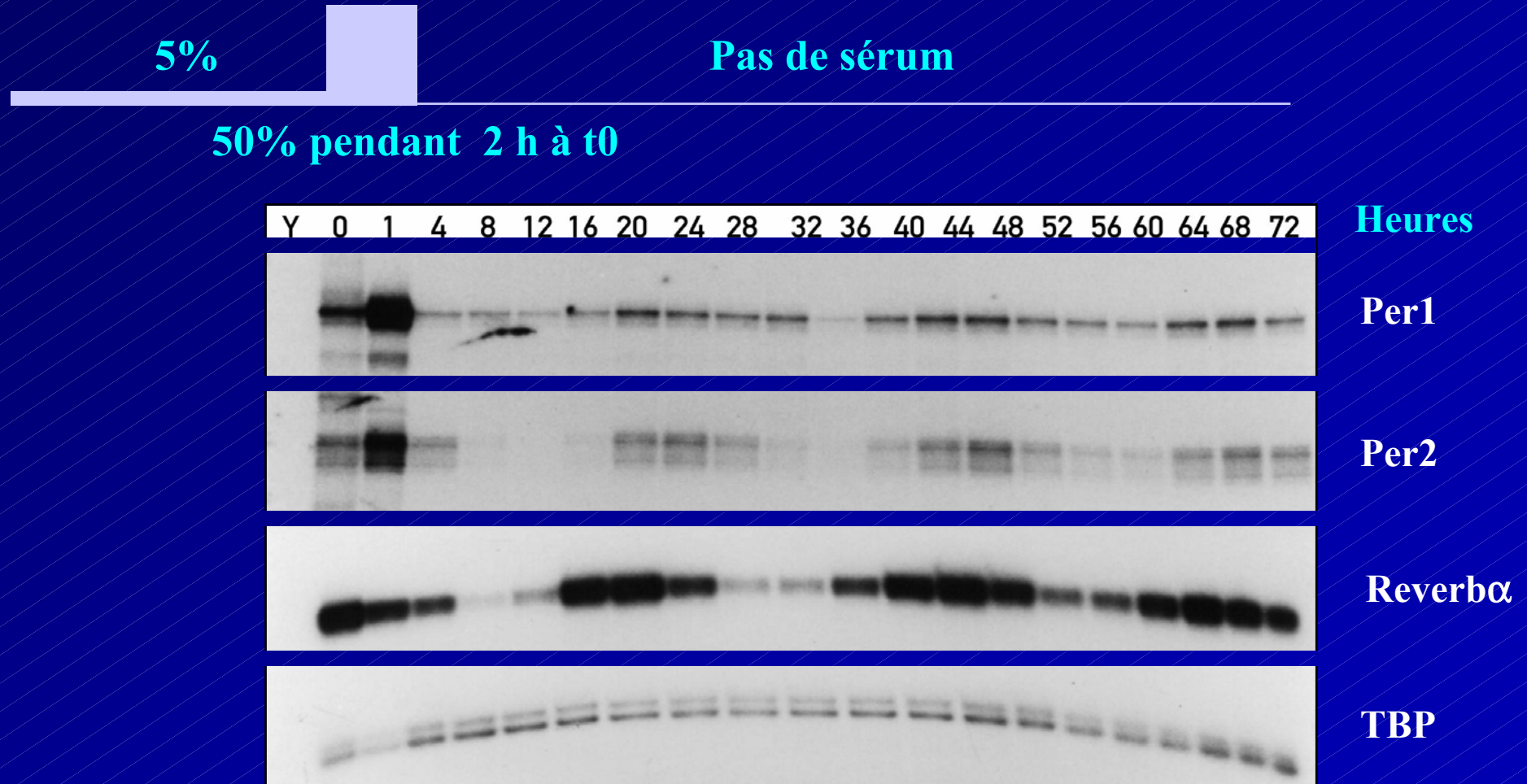


ZT2 ZT6 ZT10 ZT14 ZT18 ZT22

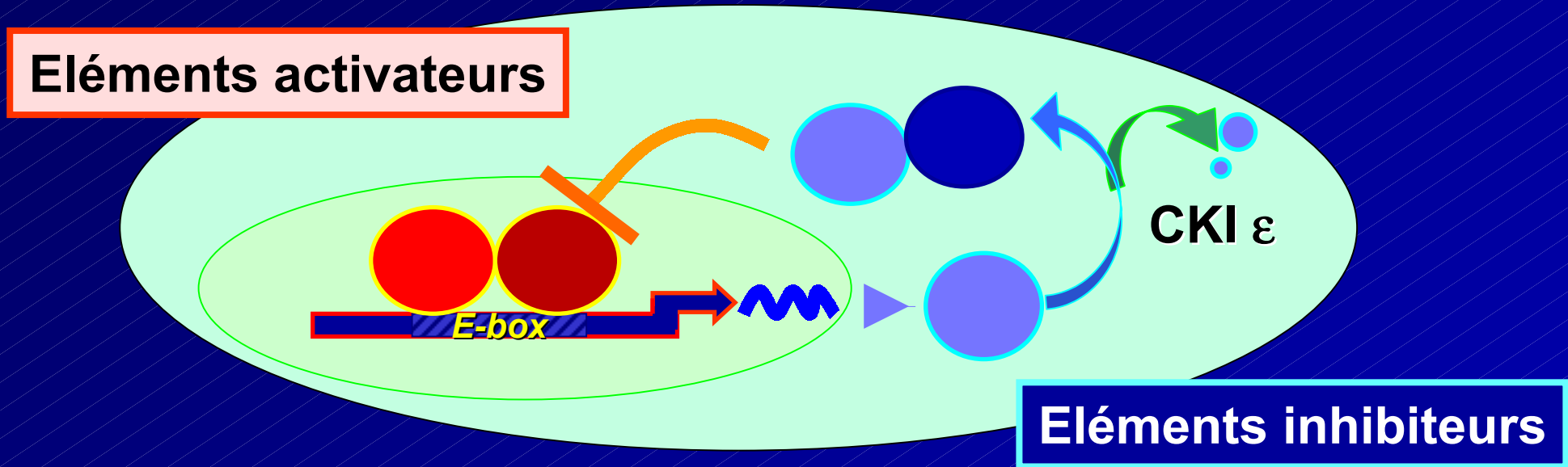
## ARNm Per1 dans le foie



# Un choc sérique induit l'expression rythmique de gènes dans des fibroblastes de rat en culture



## Horloge circadienne moléculaire

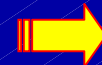


### Gènes de l'horloge

*Per1, Per2, Per3, Cry1, Cry2, Tim,*  
*Bmal1, Clock, Rev-erb, CKI $\epsilon$ , Dec1, Dec2*



Gènes contrôlés par l'horloge  
~5-10% du génôme

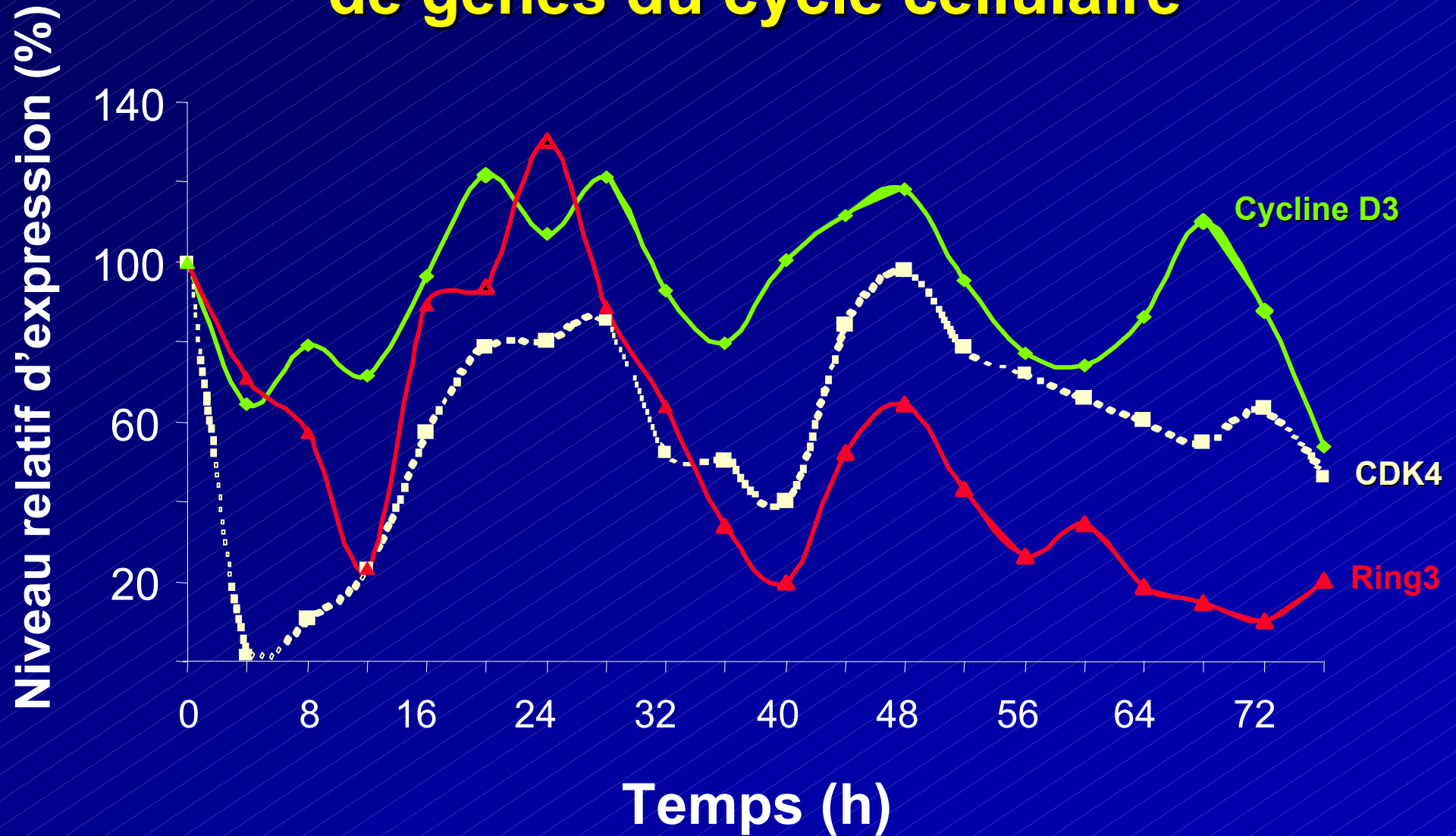


**Cycle activité-repos**  
**Rythmes métaboliques**  
**Rythmes du cycle cellulaire**

# Analyse de l'expression des gènes du rythme circadien par micropuces ADN

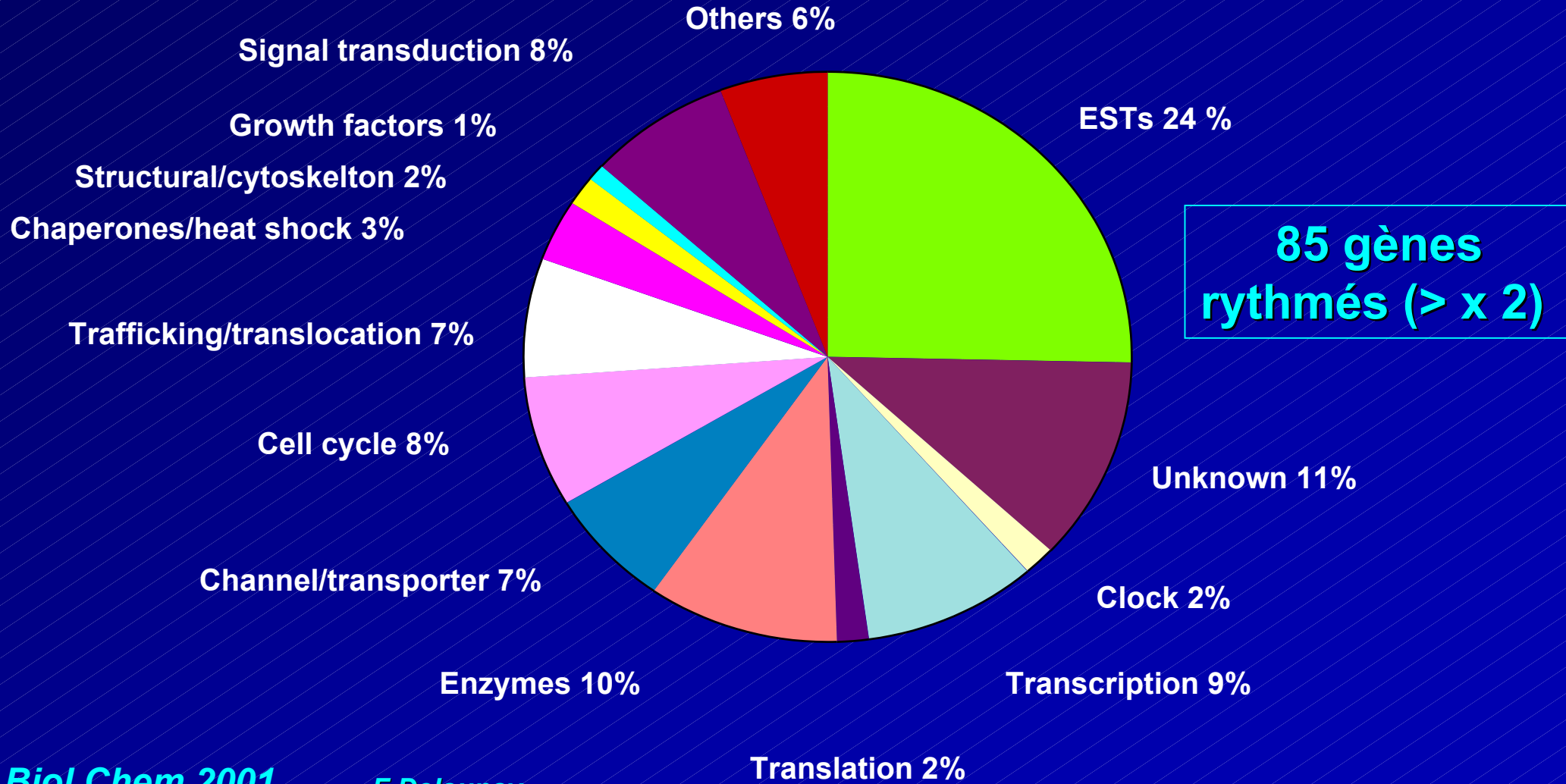
Modèle	Micropuce	Nombre de gènes	Référence
<b><i>Arabidopsis</i></b>	Affymetrix GeneChip	8 200	Harmer <i>et al.</i> , 2000 Science 290: 2110-2113.
	Produits PCR/ Lames de verre	7 800	Schaffer <i>et al.</i> , 2001 Plant Cell 13:113-123.
<b><i>Drosophile</i></b>	Affymetrix GeneChip	13 600	Mc Donald & Rosbash, 2001 Cell 107: 567-578 Claridge-Chang <i>et al.</i> , 2001 Neuron 32: 657-671
	Affymetrix GeneChip	9 957	Grundschober <i>et al.</i> , 2001 J Biol Chem 276: 46751-46758

# Expression circadienne *in vitro* de gènes du cycle cellulaire



# Classes fonctionnelles des transcrits cycliques dans des fibroblastes de rat en culture

Custom Affymetrix arrays (Roche/incyte)

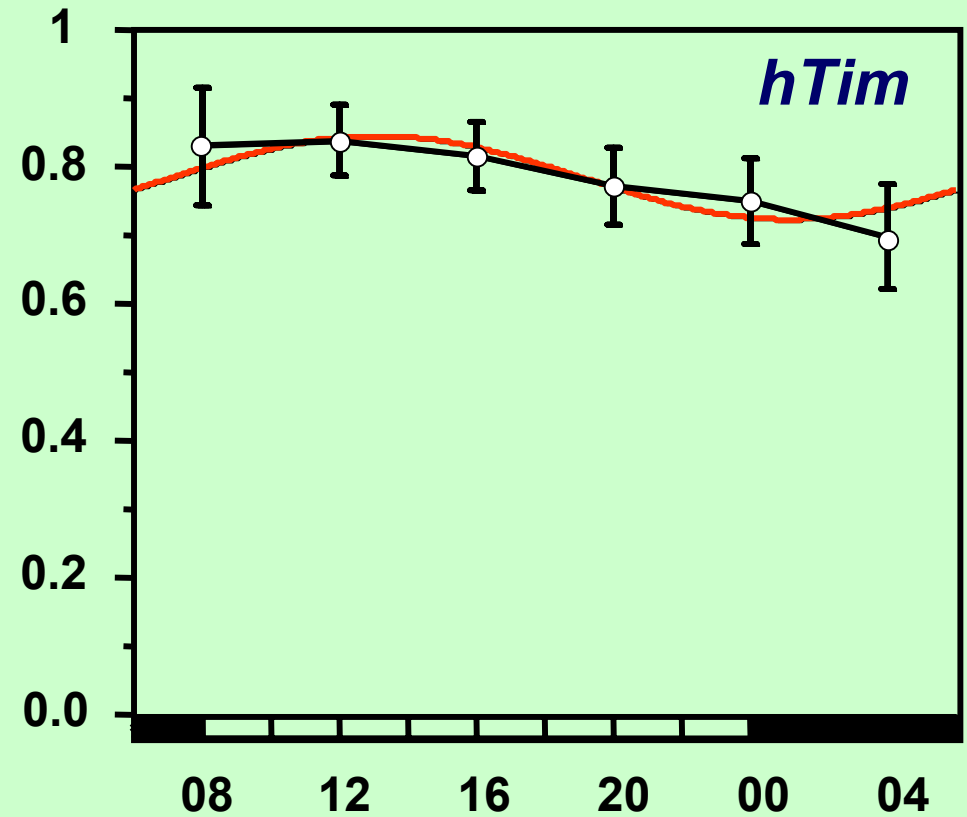
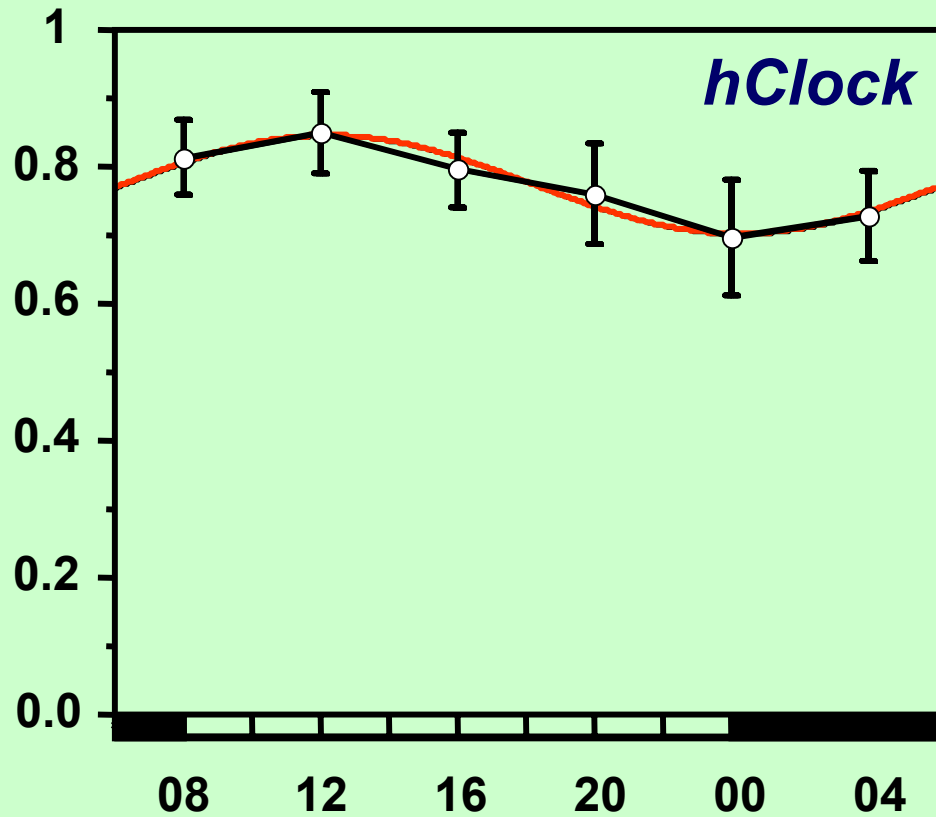


# Quelques modèles de souris avec gène circadien muté

- clock
- per1
- per2
- per1 et per2
- bmal1
- cry1

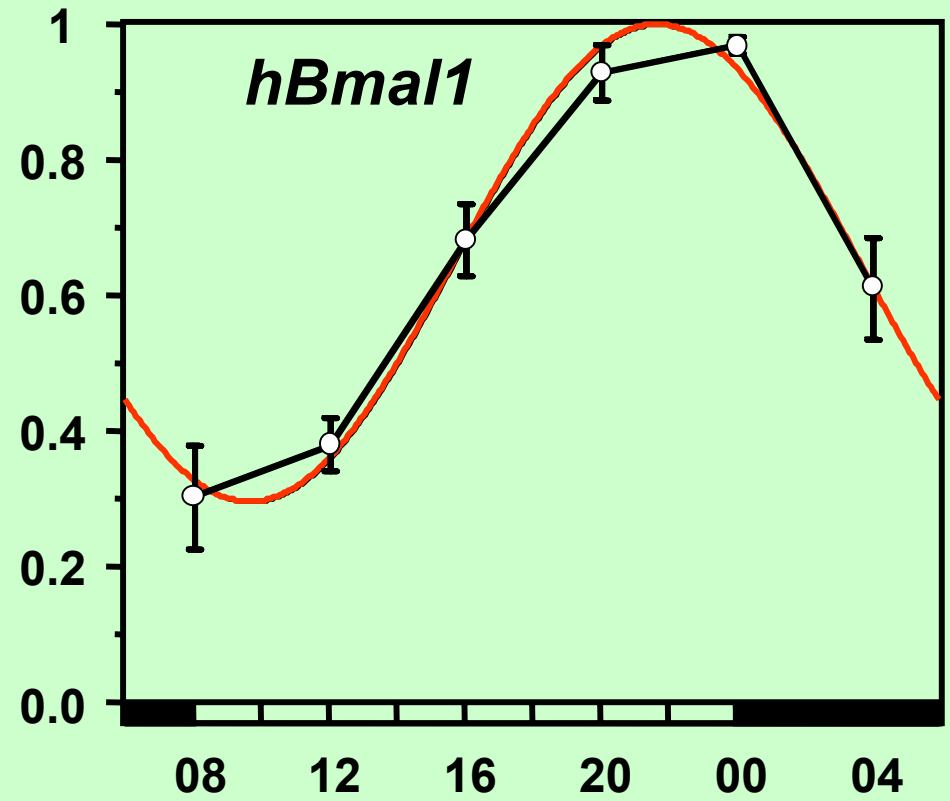
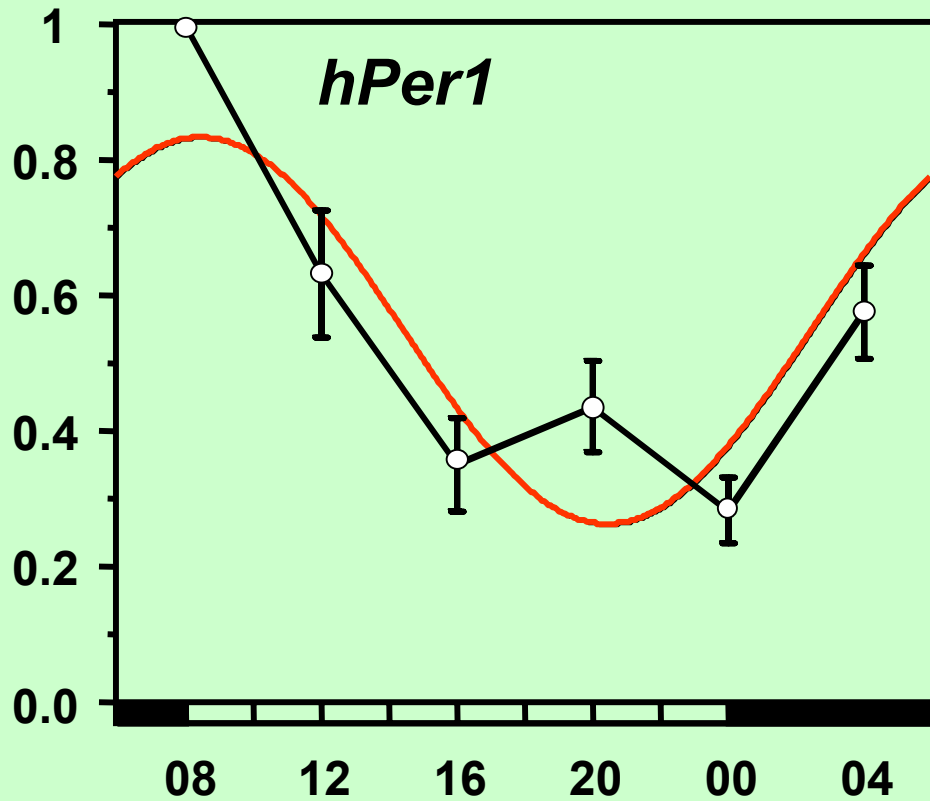
- Rythme circadien amorti en LD 12:12 (cycle activité-repos)
- Période circadienne allongée, puis supprimée en DD

# Expression de hClock et hTim dans la muqueuse buccale humaine



Heure de prélèvement

# Expression de hPer1 et hBmal1 dans la muqueuse buccale humaine



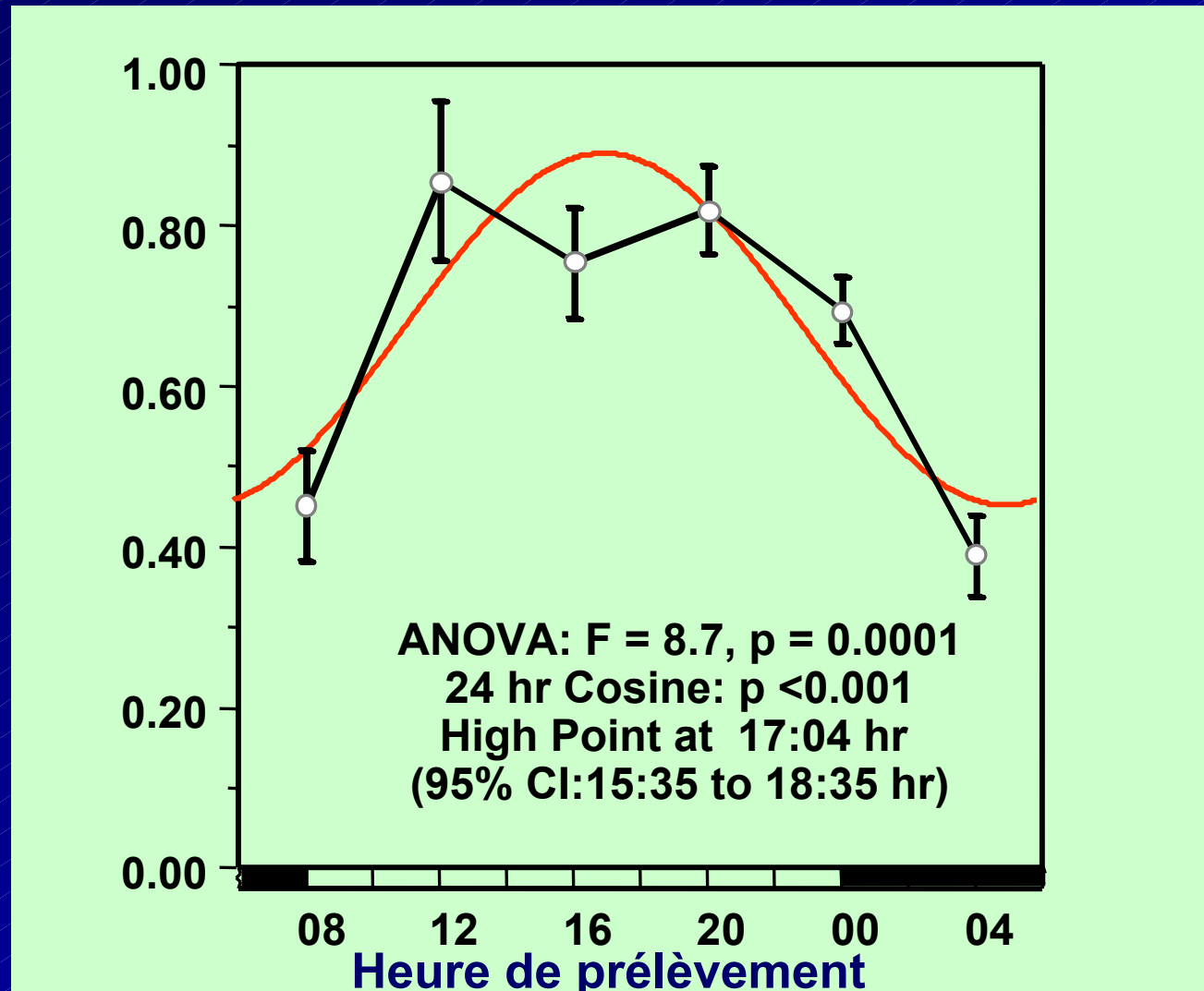
Heure de prélèvement

ANOVA:  $F = 16.1$ ,  $p < 0.001$  ; Cosinor à 24 hr :  $p < 0.001$   
Maximum à 08:29 hr (I.C. à 95% : 07:16 à 09:40 hr)

ANOVA:  $F = 25.7$ ,  $p < 0.001$  ; Cosinor à 24 hr :  $p < 0.001$   
Maximum à 21:40 hr (I.C. à 95% : 21:00 à 22:20 hr)



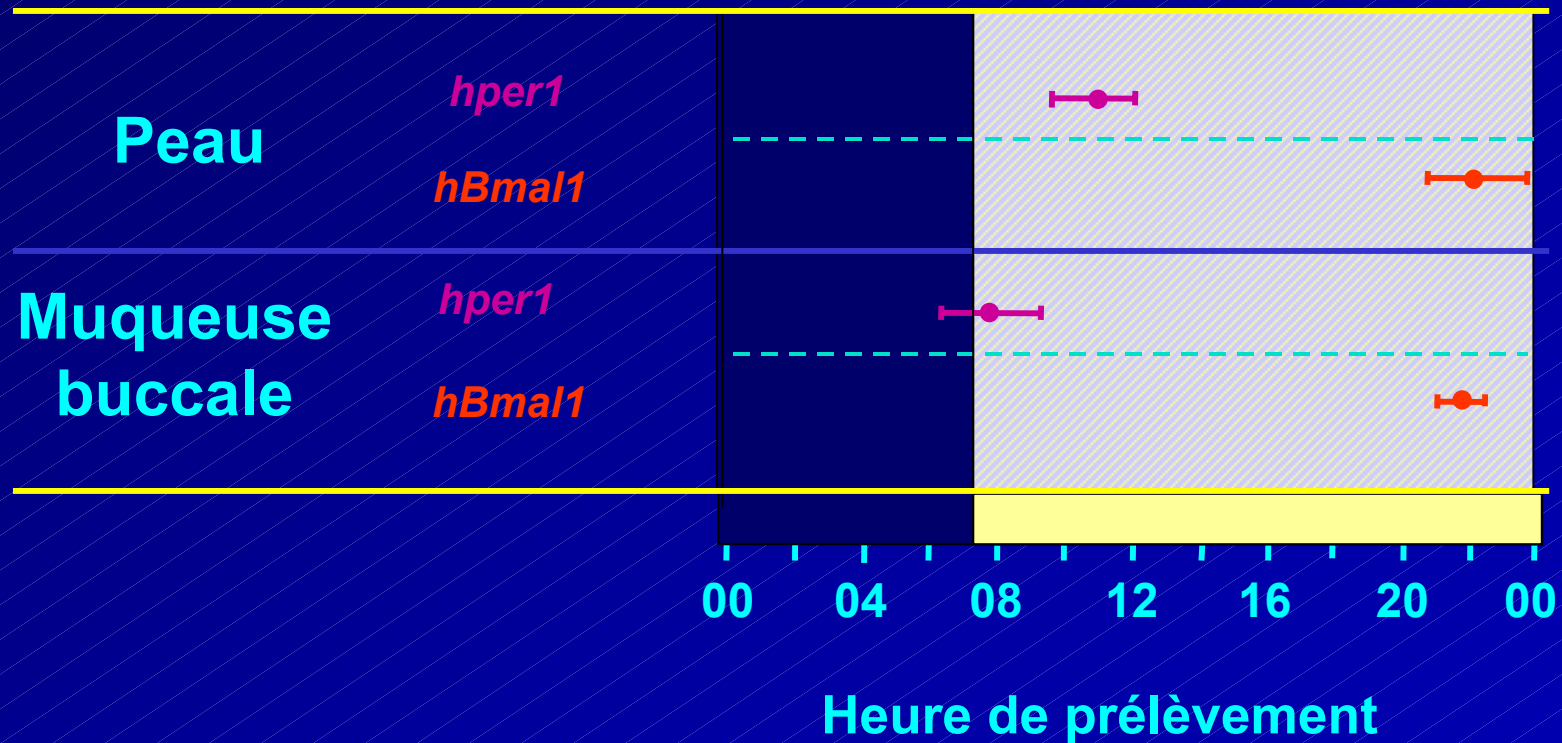
# Expression de hCry1 dans la muqueuse buccale humaine



ANOVA:  $F = 8.7$ ,  $p < 0.001$  ; Cosinor à 24 hr :  $p < 0.001$  , maximum à 17:04 hr (I.C. à 95% : 15:35 à 18:35 hr)

*Bjarnason et al., Am J Path 2000*

# Rythmes synchrones d'expression de *hPer1* et *hBmal1* dans la muqueuse buccale et la peau humaines



# Gènes de l'horloge et cycle activité-repos chez l'Homme

---

polymorphisme  
*hClock*

Préférence  
diurne

*Katzenberg et al.*  
*Sleep 1998, 21, 569-76*

---

polymorphisme  
*hPer3*

Syndrome de retard à  
l'endormissement

*Ebisawa et al.*  
*EMBO Rep 2001, 21, 342-46*

---

mutation  
*hPer2*

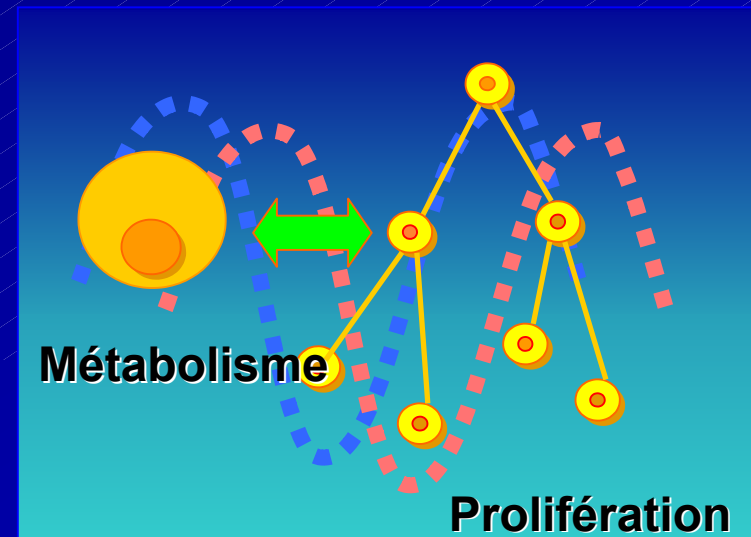
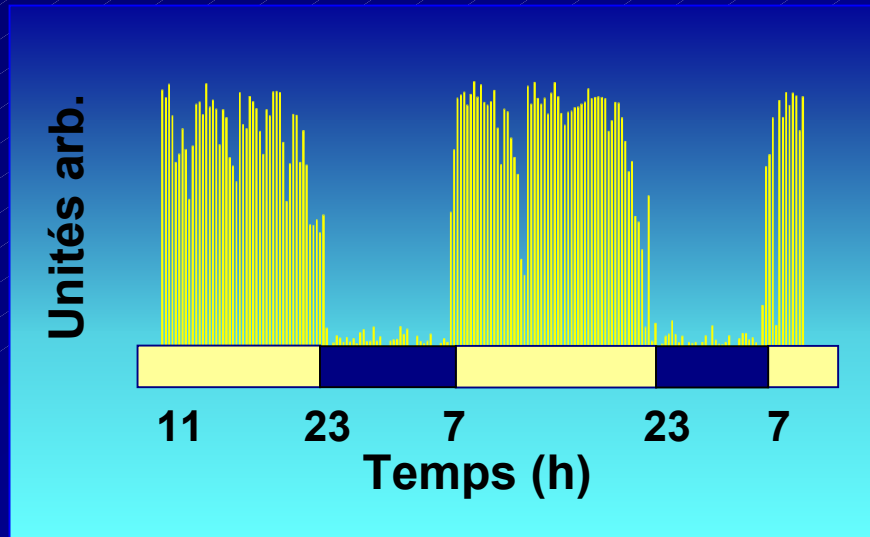
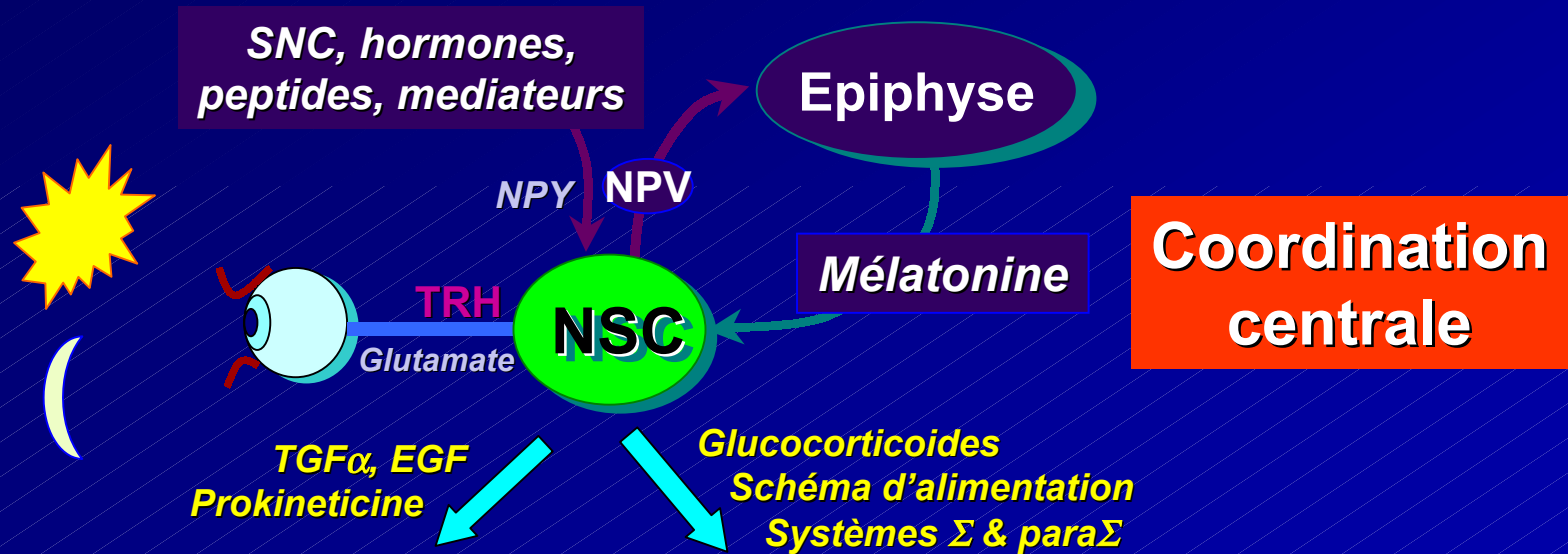
Syndrome familial  
d'avance de phase  
du sommeil

*Toh et al.*  
*Science 2001, 291 : 1040-43*

---

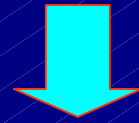
# Concepts, méthodes et acquis récents en chronobiologie

## Systeme circadien

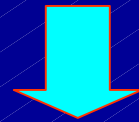


## Oscillateurs périphériques

**Synchronisation**

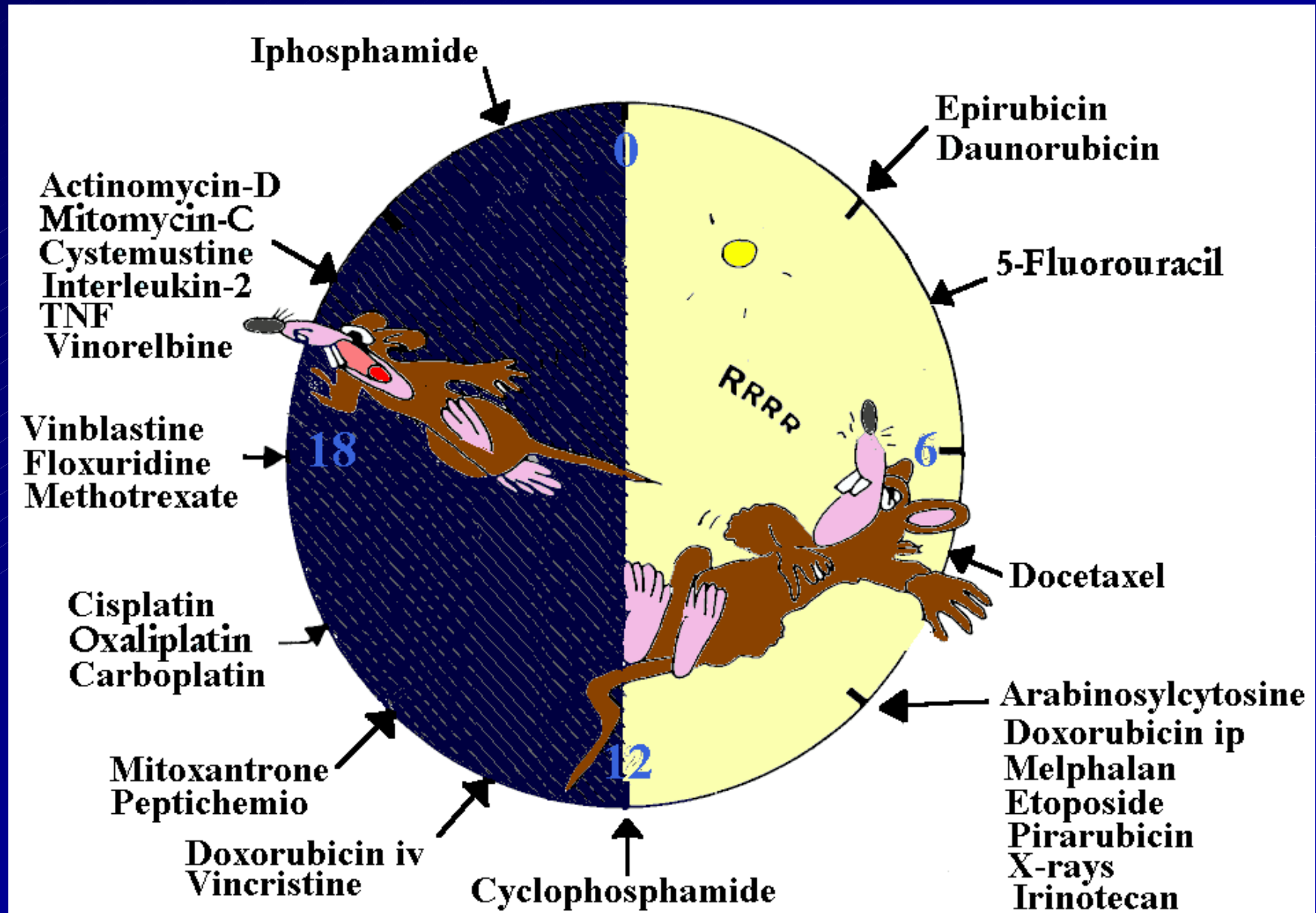


**Structure circadienne**

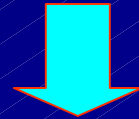


**Chronopharmacologie**  
**Chronothérapie**

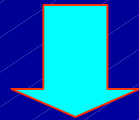
# Rythme circadien de tolérance aux anticancéreux



**Pharmacologie  
Thérapeutique**

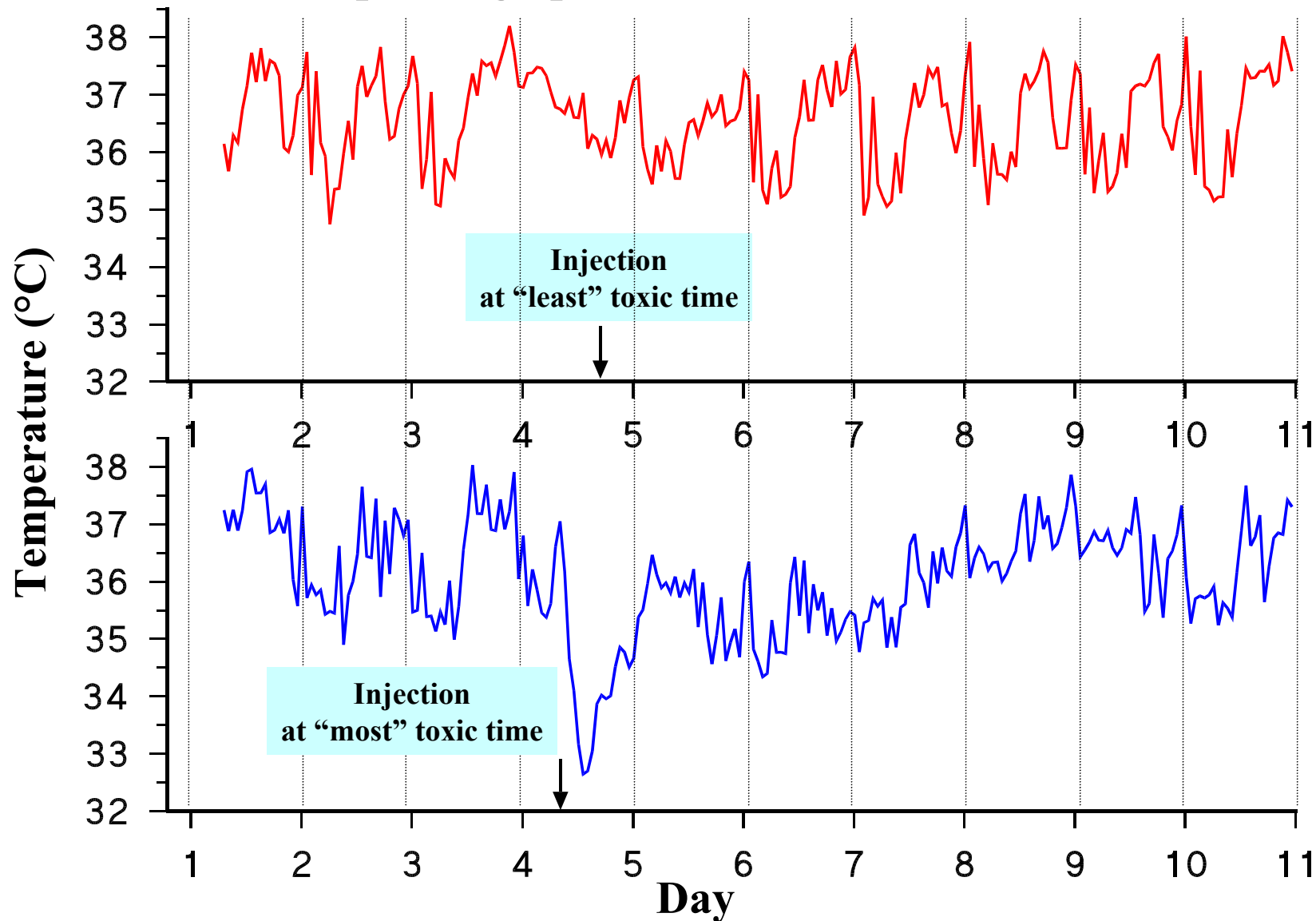


**Structure circadienne**



**Synchronisation**

# Same dose of cancer drug alters body temperature rhythm pending upon time of administration





# Implications médicales et thérapeutiques

- Troubles du sommeil
- Psychiatrie (dépression)
- Pneumologie (asthme)
- Rhumatologie (arthrose)
- Cardiologie (HTA, infarctus)
- Cancérologie

# Conclusions

- Rythmes des fonctions biologiques
- Horloges cellulaires et coordination centrale
- Implications pathologiques et thérapeutiques
- Nécessité d'intégrer un grand nombre de paramètres d'où l'intérêt d'une modélisation