

Feux croisés



Section du cerveau d'une drosophile vue en microscopie confocale.
© Dieter Göhlmann & K.F. Fischbach, Institut für Biologie Freiburg / FlyBrain

Le sens du rythme

Les modèles mathématiques permettent de mieux comprendre les mécanismes en jeu dans les phénomènes biologiques dynamiques et complexes, qu'une simple description « linéaire » et statique apprécie mal. Ils seront de plus en plus utilisés à l'avenir. Albert Goldbeter, chercheur à l'Université libre de Bruxelles, nous explique ici leur rôle dans l'analyse des troubles liés au dérèglement des rythmes biologiques.

Pourquoi utilise-t-on de plus en plus la modélisation mathématique pour analyser les mécanismes moléculaires des rythmes biologiques ?

Le recours à la modélisation dans l'étude des mécanismes moléculaires des rythmes biologiques s'avère utile, voire nécessaire, à plusieurs titres. D'abord, en raison de la complexité des mécanismes de régulation à la base des rythmes. L'intuition seule ne suffit pas à prédire le comportement dynamique d'un système biologique soumis à de multiples rétroactions (**voir l'encadré**). Ainsi, la modélisation montre que les oscillations se produisent dans des conditions précises, dans une « fenêtre » de l'espace des paramètres, c'est-à-dire dans un domaine borné par deux valeurs critiques d'un paramètre de contrôle.

Rythmes et rétroaction

Les rythmes biologiques observés chez la plupart des êtres vivants sont classés en trois grandes catégories : les rythmes circadiens, qui ont une période d'environ 24 heures (la période est l'intervalle de temps séparant deux phases identiques, par exemple deux maxima successifs d'une variable) ; les rythmes infradiens (de période supérieure à 28 heures) ; et les rythmes ultradiens (période inférieure à 20 heures ; exemple : le sommeil paradoxal de période voisine de 90 minutes). Tous sont sous le contrôle d'horloges internes, appelées aussi oscillateurs.

Les horloges circadiennes sont présentes chez la plupart des organismes vivants. Elles contrôlent le rythme de diverses fonctions physiologiques telles que l'éclosion des œufs chez les insectes, l'activité locomotrice chez les insectes et les mammifères ou l'alternance veille-sommeil chez l'homme.

Chez les mammifères, l'horloge interne est située dans les noyaux suprachiasmatiques (NSC) de l'hypothalamus, qui reçoivent des informations lumineuses en provenance de la rétine. Des neurones du NSC isolés possèdent des rythmes circadiens. Cela prouve que la « machinerie » de l'horloge circadienne se situe à l'intérieur des cellules. De fait, les chercheurs ont découvert plusieurs gènes impliqués dans la génération et la régulation des horloges circadiennes chez différentes espèces : cyanobactéries, champignon *Neurospora*, plantes, mouche drosophile (le modèle le mieux connu), poissons, amphibiens, oiseaux, mammifères (rongeurs, homme).

Ces gènes sont activés de façon rythmique. Par exemple, chez la drosophile, les taux cellulaires des protéines **PER** et **TIM**, correspondants aux gènes *period* (*per*) et *timeless* (*tim*) évoluent selon une période de 24 heures, avec un maximum au milieu de la nuit. On a découvert que ces deux protéines agissent comme des inhibiteurs de leur propre production *via* des boucles de rétroaction de la transcription des gènes correspondants. Les oscillations rythmiques des taux de protéines sont la conséquence de ces boucles de rétroaction. Plus précisément, les gènes *per* et *tim* sont activés par un complexe moléculaire formé par les facteurs de transcription **CLOCK** et **CYCLE** (CYC). Lorsque la quantité de protéines **PER** et **TIM** devient suffisamment élevée, ces deux protéines pénètrent dans le noyau cellulaire sous forme d'un complexe qui se lie à **CLOCK**-**CYC** et inhibe son activité, et donc leur propre synthèse.

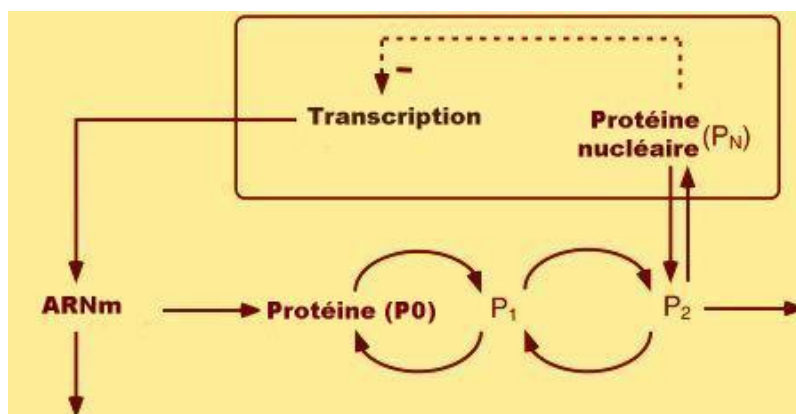
Chez les mammifères, on retrouve des boucles de rétroaction similaires (**voir le schéma**). Les homologues de **CLOCK** et **CYCLE**, **CLOCK** et **BMAL1**, activent trois types de gènes *Per* et deux types de gènes *Cry* (pour cryptochromes) : les protéines **PER** sont associées aux cryptochromes (**CRY1** et **CRY2**). Ces complexes **PER**-**CRY** entrent dans le noyau et inhibent **CLOCK**-**BMAL1**, et donc leur propre production.

Deuxième raison, la modélisation permet d'explorer rapidement un grand nombre de paramètres et de mécanismes sous des conditions variées. De plus, elle met en lumière les paramètres dont l'influence sur la période ou l'amplitude du rythme est la plus grande. Ainsi, pour les rythmes circadiens, dont la période est proche de 24 heures, des modèles fondés sur un mécanisme d'autorégulation négative de l'expression d'un gène montrent que les paramètres ayant le plus d'effet sur la période sont ceux liés à la vitesse d'entrée de la protéine régulatrice dans le noyau cellulaire (**voir le schéma**). La période peut varier d'un facteur de l'ordre de 3 – de 14 à 52 heures – en fonction de ce paramètre, tandis que la période ne varie que fort peu avec d'autres paramètres, tel le degré de coopérativité du processus de répression.

Les modèles permettent aussi de faire le lien et de dégager des propriétés communes avec des rythmes qui se produisent dans d'autres contextes et à d'autres échelles. Par exemple, une même structure mathématique se trouve impliquée aussi bien dans les oscillations métaboliques d'une période de quelques minutes qui résultent de la régulation de l'activité enzymatique, que dans les rythmes circadiens, qui découlent du contrôle de l'expression de certains gènes.

À quoi correspond cette structure mathématique ?

Dans les deux cas, les oscillations entretenues au cours du temps correspondent à l'évolution vers une trajectoire fermée, appelée **cycle limite**, quand on porte une variable en fonction d'une autre au cours du temps : par exemple la concentration de protéine régulatrice en fonction de la concentration de son ARN messager dans le cas des rythmes circadiens (**voir les graphiques**), ou la concentration de substrat en fonction de la concentration en produit dans le cas des oscillations métaboliques dues à la régulation de la phosphofructokinase, une enzyme clé de la glycolyse. Les oscillations du type cycle limite se caractérisent par une grande robustesse, et sont à la base de la plupart des rythmes biologiques.

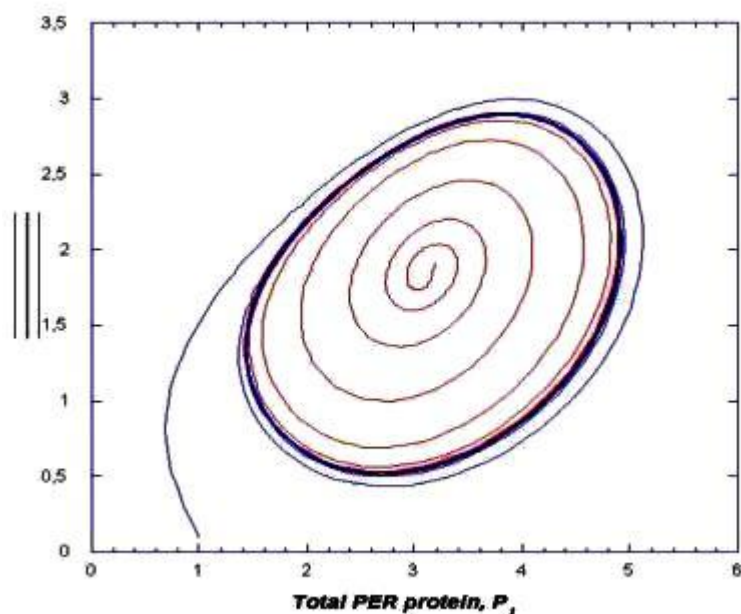
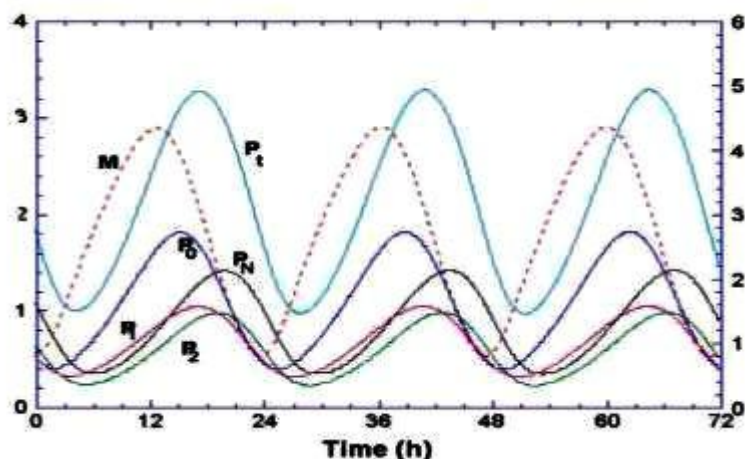


Ce modèle représente le mécanisme d'auto-régulation négative de l'expression des gènes gouvernant les rythmes circadiens. La transcription d'un gène produit un ARN messager qui est transporté dans le cytosol puis traduit en une protéine de l'horloge (P0) et dégradé (flèche de gauche). La protéine P0 peut être phosphorylée réversiblement en formes P1 et P2, successivement. P2 est soit dégradée (flèche de droite), soit transportée dans le noyau grâce à sa phosphorylation, et elle va exercer son effet de feedback négatif sur l'expression du gène. Ce modèle est décrit par un système de quelques équations différentielles ordinaires, non linéaires.

D'après D. Gonze *et al.* (2002) *PNAS* 99: 673-678.

En quoi consiste la stratégie de modélisation ?

Dans toute modélisation, la première des choses à faire est d'identifier les variables clés du phénomène étudié, ainsi que la nature de leurs interactions. Les processus qui régissent le comportement dynamique de ces variables sont alors formalisés mathématiquement à l'aide d'équations différentielles qui permettent de décrire l'évolution du système dans le temps.



La quantité de la protéine PER est soumise à des oscillations circadiennes ; elle atteint un maximum en fin de nuit. Ces graphes présentent les oscillations entretenues prédites par un modèle à 5 variables chez la drosophile.

En haut, oscillations entretenues de la quantité de protéine PER en fonction du temps.

En bas, représentation de la quantité totale de la protéine PER en fonction de la quantité de son ARN messager (en ordonnée) : on observe toujours une évolution vers un « cycle limite », c'est-à-dire vers la même courbe fermée.

D'après A. Goldbeter (1995) « A model for circadian oscillations of the *Drosophila* period protein (PER) », *Proc. R. Soc. Lond. B* 261: 319-324.

La troisième étape vise à déterminer de façon analytique, ou numériquement, par ordinateur, les solutions de ces équations correspondant à un état stationnaire du système, pour lequel les variables restent constantes au cours du temps.

On procède ensuite à une « **analyse de stabilité linéaire** » qui consiste à déterminer l'évolution de perturbations infimes de ces états stationnaires. Si ces perturbations croissent au cours du temps, l'état stationnaire est instable ; dans le cas contraire, l'état stationnaire est stable. Les oscillations surviennent généralement quand un état stationnaire unique devient instable.

Dans une avant-dernière étape, on construit des « **diagrammes de bifurcation** » qui montrent comment la période et l'amplitude du système varient en fonction des différents paramètres. Finalement, les prédictions théoriques du modèle, élaborées à partir des simulations numériques, sont comparées aux observations expérimentales. En cas de discordance, le modèle peut être ajusté puis testé à nouveau par rapport aux données de l'expérience.

Quelles sont les implications cliniques des recherches fondamentales sur les rythmes biologiques ?

Elles sont nombreuses : troubles du rythme cardiaque, troubles neuroaux comme l'épilepsie, troubles du sommeil liés au dysfonctionnement de l'horloge circadienne...

Deux exemples illustrent bien l'apport médical des modèles. Beaucoup d'hormones sont sécrétées de manière pulsatile, sous l'influence de rythmes

endogènes des cellules sécrétrices. Ainsi, l'hormone **GnRH** (gonadotropin-releasing hormone, aussi appelée LHRH, ou lulibérine) est sécrétée par l'hypothalamus à raison d'une pulsation de 6 minutes toutes les heures. Certaines femmes, qui souffrent de troubles de la sécrétion de cette hormone, sont stériles. L'injection de

l'hormone à la bonne fréquence au moyen d'une pompe programmée permet de rétablir une ovulation normale en induisant les niveaux appropriés des hormones LH et FSH libérées par la GnRH. L'étude de modèles montre que l'injection de l'hormone GnRH à sa fréquence physiologique permet d'éviter la désensibilisation des cellules-cibles qui sécrètent les hormones LH et FSH.

Deuxième exemple : un **syndrome d'avance de phase du sommeil (FASPS)** – un décalage du cycle veille-sommeil qui conduit les personnes à se coucher plus tôt, vers 19h30, et à se réveiller vers 4h30 du matin – a été mis en évidence par des cliniciens américains, qui ont pu le relier à une mutation d'un gène de l'horloge circadienne, le gène *Per2*. La protéine **PER2** correspondante subit une moindre phosphorylation. À l'aide d'un modèle que nous avons récemment proposé pour les rythmes circadiens chez les mammifères, nous étudions comment cette mutation conduit à une avance de phase du cycle du sommeil.

Le modèle a permis de montrer que la phosphorylation réduite de la protéine **PER2** provoque une diminution de quelques heures de la période autonome des oscillations, qui passe de près de 24 heures à quelque 20 heures en conditions d'obscurité constante. Un tel rythme peut être entraîné à une période de 24 heures par un cycle de 12 heures de lumière – 12 heures d'obscurité ; mais la phase des oscillations est avancée de plusieurs heures par rapport au cas « normal » où la période autonome en obscurité constante est proche de 24 heures.

« Des données épidémiologiques, physiologiques et moléculaires récentes montrent l'existence d'un lien entre perturbation sévère des rythmes circadiens et développement de tumeurs. »

Ce type d'étude est-il applicable également au cas inverse, le retard de phase (DSPS), une des causes d'insomnie ?

Effectivement, le modèle montre qu'on peut rendre compte, par une explication en miroir, de l'existence du syndrome de retard de phase du sommeil. L'étude du modèle met également en évidence la possibilité d'une absence d'entraînement du rythme circadien par le cycle lumière-obscurité. Ce dernier phénomène est rencontré dans le cas du « **non-24h sleep-wake cycle syndrome** », ou **syndrome hyper-nyctéméral**, dans lequel la phase du cycle veille-sommeil varie continuellement. Les modèles aident donc à mieux comprendre les conditions dans lesquelles les troubles physiologiques des rythmes biologiques surviennent.

Les rythmes sont-ils aussi impliqués dans les cancers via le contrôle de la prolifération et de la mort cellulaires ? Quel est le rôle éventuel des modèles sur ce sujet ?

Des données épidémiologiques, physiologiques et moléculaires récentes montrent l'existence d'un lien entre perturbation sévère des rythmes circadiens et développement de tumeurs. Chez la souris, les travaux du groupe de **Francis Lévi** à Villejuif ont montré que des lésions des noyaux suprachiasmatiques (noyaux de l'hypothalamus où réside l'horloge circadienne centrale chez les mammifères) favorisent le développement de tumeurs [1]. Des études de biologie moléculaire viennent de montrer que l'horloge circadienne contrôle un gène-clé du cycle cellulaire, ce qui permet d'éclairer les liens entre perturbation des rythmes circadiens et cancer [2]. Les modèles théoriques de l'horloge circadienne pourraient s'avérer utiles pour étudier ce lien, et pour mener à des prédictions visant à optimiser les schémas temporels d'administration de médicaments anticancéreux. La chronopharmacologie est ainsi un autre domaine où les modèles pourraient s'avérer utiles.

Albert Goldbeter

Unité de Chronobiologie théorique, Faculté des Sciences,
Université Libre de Bruxelles
Campus Plaine ULB CP 231
B-1050 Bruxelles
Belgique

Pour contacter l'auteur
agoldbet@ulb.ac.be

[1] E. Filipski *et al.* (2002) « Host Circadian Clock as a Control Point in Tumor Progression », *Journal of the National Cancer Institute* 94: 690-697 ;

<http://jncicancerspectrum.oupjournals.org/cgi/content/full/jnci;94/9/690?ijkey=e00383216345cf91bad1a78c45514407cc60fd96>.

[2] T. Matsuo *et al.* (2003) *Science* 302: 255-259.

Pour aller plus loin

- | Equipe d'Albert Goldbeter, Université libre de Bruxelles ;
<http://www.ulb.ac.be/sciences/utc/GOLDBETER/agoldbet.html>
- | J.C. Leloup & A. Goldbeter (2003) « Towards a detailed computational model for the mammalian circadian clock », *PNAS* 100(12): 7051-7056 ;
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid=12775757>
- | D.B. Forger & C.S. Peskin (2003) « A detailed predictive model of the mammalian circadian clock », *PNAS* 100: 14806-14811 ;
<http://www.pnas.org/cgi/content/full/100/25/14806>.
- | Inserm (2001) « Approche moléculaire des rythmes circadiens » In: *Rythmes de l'enfant : De l'horloge biologique aux rythmes scolaires*, Les Editions INSERM, 106 p ;
<http://disc.vjf.inserm.fr:2010/BASIS/elgis/fqmr/rapp/DDD/816.pdf>
- | Équipe Génétique moléculaire des rythmes circadiens, CNRS, Gif-sur-Yvette ;
<http://www.cnrs-gif.fr/iaf/ngi/rouyer/home.html>
- | Les horloges biologiques, site de Didier Gonze, Université Libre de Bruxelles ;
<http://homepages.ulb.ac.be/~dgonze/HORLBIOL.dir/hb.html>
- | The time of our lives, a Web Guide to Biological Clocks ;
<http://template.bio.warwick.ac.uk/staff/amillar/andrewM/Jo%20Selwood%20site/INDEX.HTM>
- | A. Goldbeter & J.C Leloup (2003) « La modélisation des rythmes du vivant », *Pour la science*, 314, décembre 2003.

© Vivant Editions – <http://www.vivantinfo.com/>