

## 2

## Approche moléculaire des rythmes circadiens

L'approche moléculaire des rythmes biologiques la mieux connue concerne les rythmes circadiens. Le cycle activité-repos est le rythme dont l'étude a permis de progresser dans la compréhension des mécanismes moléculaires responsables du fonctionnement de l'horloge circadienne (Rosato et coll., 1997).

En effet, l'alternance d'activité et de repos au cours des 24 heures, ou cycle activité-repos, est observée dans des espèces animales aussi diverses que la drosophile, le rat, la souris, le hamster et l'homme. D'abord baptisé « nycthé-méral », en raison de ses relations avec l'alternance du jour et de la nuit, le cycle activité-repos est considéré comme un rythme circadien, car il persiste dans des conditions constantes d'environnement chez toutes les espèces précitées.

Chez les rongeurs, le cycle activité-repos est généré par deux groupes neuro-naux situés au plancher de l'hypothalamus, les noyaux suprachiasmatiques (NSC). Leur destruction supprime le cycle activité-repos chez le rat, la souris et le hamster. La transplantation de NSC restaure ce rythme. Chez l'homme, les noyaux suprachiasmatiques ont été identifiés, mais leur rôle exact demeure inconnu (Klein et coll., 1991 ; LeSauter et Silver, 1998 ; Weaver, 1998).

Le cycle activité-repos est commode pour évaluer la fonction circadienne. Ainsi, ce rythme sert de référence pour définir l'heure optimale d'administration des médicaments (chronopharmacologie) (Lemmer et Redfern, 1997). Chez l'homme, une telle approche a été notamment validée pour l'administration de corticoïdes, moins toxiques et plus efficaces peu après le début de la phase d'activité (petit matin), ou d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, tels que l'indométacine ou le kétoprofène, moins toxiques et au moins aussi actifs après prise vespérale, peu avant le début de la phase de repos (Lemmer et Redfern, 1997 ; Lévi et coll., 1985 ; Perpoint et coll., 1994). Une chronopharmacologie caractérise aussi les médicaments anticancéreux (Lévi, 1999). En effet, l'ajustement du débit de perfusion de la chimiothérapie à un cycle activité-repos « de groupe » a fait l'objet de plusieurs essais cliniques de phase I, II et III multicentriques portant sur environ 1 500 patients atteints de métastases de cancer colorectal. Ces essais ont démontré qu'une perfusion chronomodulée de fluorouracile et d'oxaliplatine, avec des débits maximaux

respectivement à 4 heures et à 16 heures, était jusqu'à 5 fois moins toxique et près de 2 fois plus efficace qu'une perfusion constante ou qu'une perfusion chronomodulée décalée de 12 heures (Lévi et coll., 1994, 1997, 2000).

Le cycle activité-repos de l'homme peut être enregistré de façon non invasive à l'aide d'un bracelet d'actométrie, dont plusieurs modèles sont commercialisés. On dispose ainsi d'un outil permettant une estimation de la fonction circadienne individuelle. L'utilisation de cette méthode fait apparaître qu'environ un tiers des patients cancéreux présentent des perturbations importantes de leur fonction circadienne, et que celles-ci sont prédictives de leur durée de vie, indépendamment des facteurs cliniques (Mormont et Lévi, 1997 ; Mormont et coll., 1999). Ces résultats parmi d'autres illustrent la pertinence clinique du cycle activité-repos et de ses mécanismes.

## Gènes du rythme circadien

La drosophile ou mouche du vinaigre est un insecte qui s'active en début et en fin de journée. Ce rythme, qui persiste en obscurité ou en lumière continue, peut être enregistré aisément à l'aide de cellules photoélectriques. Dès 1971, un « *screening* » après mutagenèse chimique a permis d'isoler des mutants dont le rythme de l'activité locomotrice était supprimé, conduisant ainsi à identifier puis à cloner le gène *per*, le premier gène connu responsable d'un rythme circadien. Celui-ci est situé sur le chromosome X de la drosophile (Konopka et Bentzer, 1971). Les recherches ultérieures ont successivement permis de caractériser et de cloner le gène *tim*, également impliqué dans le rythme circadien (Ederly et coll., 1994 ; Sehgal et coll., 1994 ; Gekakis et coll., 1995 ; Myers et coll., 1996).

Chez le hamster syrien, l'étude du cycle activité-repos a permis d'identifier une mutation spontanée caractérisée par un raccourcissement du rythme circadien (mutation *tau*), et le gène vient d'être cloné (Ralph et Menaker, 1988 ; Lowrey et coll., 2000).

Mais c'est chez la souris qu'ont rapidement progressé les connaissances sur les mécanismes moléculaires du rythme circadien des mammifères au cours de ces cinq dernières années. La mutagenèse chimique a permis d'obtenir des animaux dont le cycle activité-repos était significativement allongé (Vitaterna et coll., 1994). Le gène *clock*, dont la mutation était responsable de cette altération a ensuite été caractérisé, puis cloné en 1997. Ce gène est situé sur le chromosome 5. En obscurité constante, la période du cycle activité-repos de la souris C57Bl6 est de 23,7 heures chez les animaux normaux (*clock + / +*), de 25 heures pour les hétérozygotes (*clock + / -*) et de 27 heures pour les homozygotes (*clock - / -*), chez qui le rythme disparaît après 2 semaines d'obscurité (Antoch et coll., 1997 ; King et coll., 1997 ; Herzog et coll., 1998). Un autre gène, *bmal-1*, est un partenaire de *clock* dans la régulation circadienne de la souris.

À l'aide d'un *screening* du cycle activité-repos après mutagenèse chimique, *dclock* (*jrj*) homologue de *clock*, et *dbmal-1* (*cyc*), homologue de *bmal-1*, ont été identifiés depuis chez la drosophile (Allada et coll., 1998 ; Rutila et coll., 1998).

Trois homologues de *per* ont été aussi caractérisés et clonés chez la souris : *per-1*, *per-2* et *per-3* (Tei et coll., 1997 ; Shearman et coll., 1997 ; Zylka et coll., 1998 ; Takumi et coll., 1998a, 1998b). Un homologue de *tim* a également été isolé chez la souris (Takumi et coll., 1999). Enfin, deux gènes codant pour les cryptochromes, protéines initialement impliquées dans la réception de la lumière bleue, *cry-1* et *cry-2*, jouent un rôle important dans la périodicité circadienne et ont été clonés chez la souris, de même que leurs homologues chez la drosophile (Kume et coll., 1999).

Les homologues de *per-1*, *per-2*, *clock* et *bmal-1* ont aussi été caractérisés chez le rat (Oishi et coll., 1998).

Chez l'homme, les homologues de *per*, *tim*, *bmal-1*, *cry* et *clock* ont été identifiés. Le gène *clock*, qui vient d'être cloné, est situé sur le chromosome 4 (Steeves et coll., 1999).

La figure 2.1 schématise les gènes du rythme circadien identifiés, chez l'animal, à partir d'une altération du cycle activité-repos observée dans des conditions constantes d'environnement.

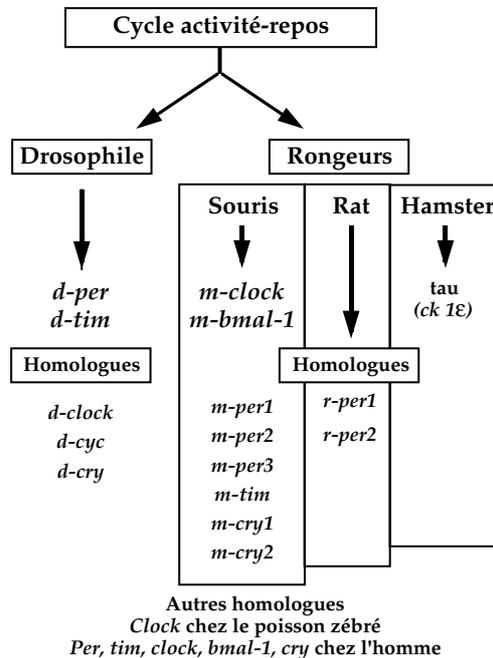


Figure 2.1 : Identification des gènes du rythme circadien à partir de mutants chimio-induits ou spontanés du cycle activité-repos

Il est à noter que des gènes de l'horloge circadienne ont aussi été caractérisés et pour certains d'entre eux clonés non seulement chez les plantes, telles qu'*Arabidopsis* et chez les eucaryotes les plus primitifs, tels que *Neurospora*, mais aussi récemment chez les cyanobactéries, qui appartiennent au domaine des procaryotes. Ces faits soulignent l'ubiquité des mécanismes moléculaires qui régissent l'organisation des fonctions cellulaires au cours des 24 heures (Hall, 1995 ; Dunlap, 1999).

### **Expression des gènes du rythme circadien chez l'animal et l'homme**

Chez la drosophile, le gène *per* s'exprime non seulement dans la tête (yeux, cerveau), mais aussi dans le reste du système nerveux, dans les glandes salivaires et dans le tube digestif (Hall, 1995). Des études consistant en l'insertion d'un gène codant pour une protéine fluorescente (GFP) dans la région du promoteur du gène *per* ont récemment permis de montrer l'expression rythmique de ce gène dans toutes les parties du corps de la drosophile, y compris les ailes. Des cultures de segments de cette mouche maintenues pendant plusieurs jours en obscurité constante ont confirmé l'expression rythmique de ce gène *in vitro*, et donc la capacité d'autonomie de celle-ci (Plautz et coll., 1997).

Chez la souris, l'expression de *clock*, *per-1*, *per-2*, *per-3*, *bmal-1*, et *tim* a d'abord été étudiée dans les noyaux suprachiasmatiques, générateurs du cycle activité-repos de ce rongeur. Dans les conditions d'une alternance de 12 heures de lumière et de 12 heures d'obscurité, tout comme en obscurité constante, la transcription des 3 homologues de *per* est rythmique, avec un maximum pendant la phase de lumière (repos) et un creux durant la première moitié de la phase d'activité nocturne (Tei et coll., 1997 ; Zylka et coll., 1998 ; Herzog et coll., 1998 ; Zheng et coll., 1999). L'expression de *bmal-1* est maximale 12 heures plus tard, alors que la transcription de *clock* et de *tim* varie peu au cours des 24 heures (Dunlap, 1999).

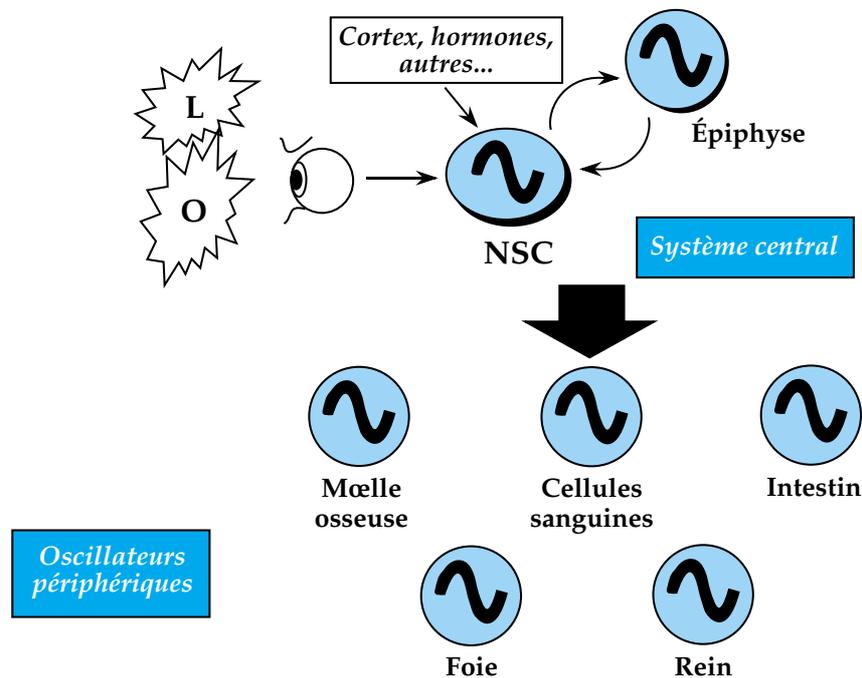
Dans les noyaux suprachiasmatiques du rat, on retrouve un rythme de l'expression de *per-1* et de *per-2* et, décalé de 12 heures, un rythme de l'expression de *bmal-1*. Cependant, les pics de ces rythmes ont lieu respectivement en début de phase d'activité nocturne et en début de phase de repos diurne (Honma et coll., 1998 ; Oishi et coll., 1998). Les relations de phase entre les rythmes de transcription de *per* et de *bmal-1* et le cycle activité-repos pourraient donc différer d'une espèce à l'autre.

Dans la quasi-totalité des tissus périphériques de la souris et/ou du rat, on retrouve une expression de *per*, *bmal-1*, *clock*, *tim*, *cry-1* et *cry-2* (Albrecht et coll., 1997 ; Sun et coll., 1997 ; Shearman et coll., 1997 ; Oishi et coll., 1998 ; Takumi et coll., 1999 ; Miyamoto et Sancar 1999). Un rythme caractérise la transcription de *per-1*, *per-2*, *per-3* et, *bmal-1* dans plusieurs zones cérébrales,

l'œil, le cœur, les poumons, le foie, le rein (Zylka et coll., 1998 ; Oishi et coll., 1998). La persistance du rythme circadien de la transcription de *per-1* et de *per-2* a été montrée dans des cultures de fibroblastes et d'hépatome de Rat (Balsalobre et coll., 1998).

Ainsi, les résultats récents obtenus en chronobiologie moléculaire ont démontré l'existence d'horloges cellulaires dans les tissus périphériques. Les noyaux suprachiasmatiques ne sont donc plus les générateurs de tous les rythmes circadiens, mais jouent vraisemblablement un rôle essentiel dans leur coordination, illustré par le schéma d'organisation circadienne présenté figure 2.2.

Chez l'homme, l'expression de *clock*, seul gène du rythme circadien cloné, est ubiquitaire. On la retrouve certes en grande abondance dans les noyaux suprachiasmatiques, mais aussi dans toutes les zones cérébrales et dans le cervelet, dans la rate, le thymus, l'intestin, les testicules et les ovaires, le cœur, les muscles, le rein, le pancréas. Les niveaux les plus bas d'expression se situent dans le poumon et le foie (Steeves et coll., 1999). Un rythme d'expression de *per-1* et de *bmal-1* vient d'être rapporté dans la muqueuse buccale humaine, avec des pics respectifs en début de phase d'activité et en début de phase de repos, confirmant ainsi le décalage de 12 heures entre ces rythmes observé



**Figure 2.2 : Schéma d'organisation du système circadien des mammifères**  
 L et O : alternance régulière de lumière et d'obscurité sur 24 heures ; NSC : noyaux suprachiasmatiques

chez les rongeurs. Au contraire, l'expression de *clock* et de *tim* n'a pas montré de variation circadienne significative, confirmant les données disponibles chez la souris (Bjarnason et coll., 1999a et b).

## Fonctionnement moléculaire de l'horloge circadienne cellulaire

Les mécanismes moléculaires à l'origine du rythme circadien présentent une grande similarité quelle que soit l'espèce considérée. Ils font intervenir des éléments activateurs, des éléments répresseurs et des boucles de régulation impliquant des réactions de phosphorylation-déphosphorylation et la dimérisation de protéines spécifiques (Hardin, 1998 ; Dunlap, 1999). Les éléments activateurs régulent aussi d'autres gènes, dits gènes contrôlés par l'horloge. Chez les mammifères, ceux-ci comprennent en particulier des facteurs de transcription tels que *dbp* (*albumin D-box binding protein*) et deux enzymes de type cytochromes P450 et, dans les NSC, le gène de la vasopressine (Foulkes et coll., 1997 ; Kako et Ishida, 1998 ; Jin et coll., 1999 ; Dunlap, 1999 ; Brown et Schibler, 1999). Les protéines du rythme circadien appartiennent à la classe des protéines « *basic helix loop helix* » (bHLH). Elles possèdent un domaine caractéristique, dit PAS, grâce auquel elles vont former des dimères ou des hétérodimères (Whitmore et coll., 1998 ; Dunlap, 1999 ; Brown et Schibler, 1999).

Chez la souris, les gènes *clock* et *bmal-1* codent pour des éléments activateurs de la transcription, alors que *per* et vraisemblablement *tim* et *cry* codent pour des éléments inhibiteurs de la transcription de *clock* et de *bmal-1* (Darlington et coll., 1998). Dans le noyau, les protéines CLOCK et BMAL-1 viennent s'attacher sur une adresse (*E-box*) située dans la région des promoteurs des gènes *per* et *tim*, déclenchant ainsi leur transcription, puis leur traduction. Les protéines PER, TIM ou CRY vont, dans le cytoplasme, former des hétérodimères PER-TIM ou PER-CRY par l'intermédiaire d'une liaison entre leurs domaines PAS respectifs. Il est vraisemblable que, comme chez la drosophile, la dimérisation PER-PER, PER-TIM ou PER-CRY nécessite plusieurs phosphorylations intracytoplasmiques préalables (Leloup et Goldbeter, 1998 ; Lee et coll., 1999). Les hétérodimères PER-TIM et PER-CRY peuvent alors pénétrer dans le noyau et exercer leur rétrocontrôle négatif sur leur propre transcription en modifiant l'interaction de CLOCK-BMAL-1 avec leurs *E-box* respectifs (figure 2.3) (Gekakis et coll., 1998 ; Shearman et coll., 2000).

Cependant une étude réalisée chez la drosophile indique qu'il existe aussi des boucles de régulation post-transcriptionnelles, beaucoup moins connues (Cheng et Hardin, 1998).

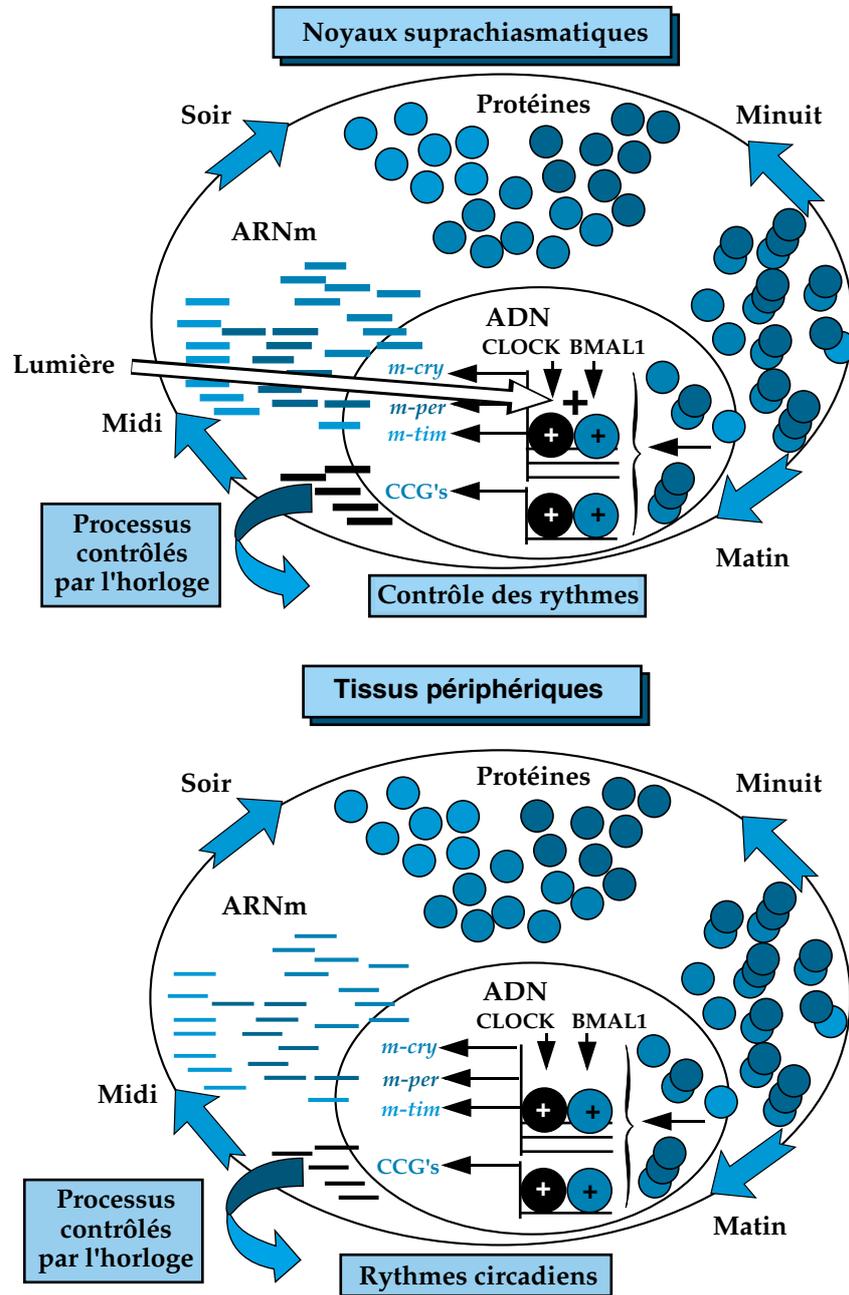


Figure 2.3 : Organisation moléculaire de l'horloge circadienne dans les noyaux suprachiasmatiques (NSC) et dans les tissus périphériques des mammifères, ajustée à l'alternance cyclique de lumière et d'obscurité sur 24 heures  
 CCG : clock-controlled genes

## Rôle de la lumière et des signaux non photiques

La lumière joue un rôle essentiel dans l'ajustement des rythmes circadiens à l'environnement photopériodique. Si l'on soumet à une exposition lumineuse brève (30 minutes à 1 heure) des souris maintenues en obscurité continue, leur cycle activité-repos va se décaler dans un sens qui dépend du moment d'application. Ainsi, la phase de ce rythme avance, c'est-à-dire a lieu plusieurs heures plus tôt que prévu, si l'exposition lumineuse se produit vers le milieu de la phase d'activité (milieu de la nuit subjective). Au contraire, la phase est retardée de quelques heures si l'exposition lumineuse a lieu en fin de phase d'activité. Ce phénomène de réponse de phase est une propriété du système circadien quelle que soit l'espèce considérée. Il s'explique pour partie par la stimulation de la transcription de *per* par la lumière (Dunlap, 1999). Celle-ci a été mise en évidence chez la drosophile pour *dper*, puis chez la souris pour *mper-1* et *mper-2*, mais non pour *mper-3* et chez le rat pour *rper-1* et *rper-2* (Takumi et coll., 1998a). L'action de la lumière sur les gènes *per* des noyaux suprachiasmatiques pourrait être véhiculée par la voie glutamatergique et médiée dans les NSC par l'induction du système MAP-kinase et/ou de gènes précoces – *fos*, *jun-B*... (Ding et coll., 1997 ; Obrietan et coll., 1998 ; Morris et coll., 1998 ; Guido et coll., 1999 ; Nunez et coll., 1999). La lumière agirait aussi sur l'expression de *clock* et de *bmal-1* chez le rat (Namihira et coll., 1999).

D'autre part, les gènes *cry-1* et *cry-2* s'expriment de façon rythmique dans les NSC et semblent essentiels pour le maintien du rythme circadien activité-repos de la souris. Le mode d'action de ces cryptochromes dans l'organisation circadienne pourrait différer selon l'espèce (Thresher et coll., 1998 ; Van der Horst et coll., 1999 ; Miyamoto et Sancar, 1998, 1999). Enfin, des signaux non photiques pourraient aussi moduler l'horloge circadienne, selon des mécanismes qui restent à préciser (Harrington et coll., 1999 ; Hastings et coll., 1997, 1998).

**En conclusion**, plusieurs gènes responsables de rythmes circadiens ou leurs homologues ont été identifiés et clonés chez les procaryotes et les eucaryotes. Les progrès rapides des connaissances sur les mécanismes moléculaires des rythmes circadiens montrent la similitude du fonctionnement de l'horlogerie moléculaire, qui fait intervenir des éléments activateurs, des éléments répresseurs et des boucles de régulation dans la plupart des êtres vivants. Chez les mammifères, ce système circadien moléculaire existe tant dans l'horloge centrale hypothalamique, les noyaux suprachiasmatiques, que dans les cellules des tissus périphériques. L'effet qu'exerce la lumière sur la transcription de certains gènes du rythme circadien dans l'horloge centrale rend compte de la capacité de l'organisme à s'ajuster à une modification du cycle de l'environnement photopériodique. Les mécanismes par lesquels cette horloge centrale synchronise les multiples oscillateurs circadiens périphériques sont inconnus de même

que les mécanismes non photiques qui semblent aussi jouer un rôle important dans la synchronisation des horloges biologiques.

## BIBLIOGRAPHIE

- ALBRECHT U, SUN Z, EICHELE G, LEE C. A differential response of two putative mammalian circadian regulators, *mper1* and *mper2* to light. *Cell* 1997, **91** : 1055-1064
- ALLADA R, WHITE NE, SO WV, HALL JC, ROSBASH M. A mutant *Drosophila* homolog of mammalian Clock disrupts circadian rhythms and transcription of period and timeless. *Cell* 1998, **93** : 791-804
- ANTOCH MP, SONG EJ, CHANG AM, VITATERNA MH, ZHAO Y et coll. Functional identification of the mouse circadian *clock* gene by transgenic BAC rescue. *Cell* 1997, **89** : 655-667
- BALSALOBRE A, DAMIOLA F, SCHIBLER U. A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell* 1998, **93** : 929-937
- BJARNASON GA, JORDAN RCK, SOTHERN RB. Circadian variation in the expression of cell-cycle proteins in human oral epithelium. *Am J Pathol* 1999a, **154** : 613-622
- BJARNASON GA, JORDAN RCK, LI Q, SOTHERN RB, BEN-DAVID Y. Circadian proliferation and expression of clock genes in human oral epithelium over 24 hours : clinical implications. *Chronobiol Int* 1999b, **16** : 14
- BROWN SA, SCHIBLER U. The ins and outs of circadian timekeeping. *Curr Opin Genet Dev* 1999, **9** : 588-594
- CHENG Y, HARDIN PE. *Drosophila* photoreceptors contain an autonomous circadian oscillator that can function without period mRNA cycling. *J Neurosci* 1998, **18** : 741-750
- DARLINGTON TK, WAGER-SMITH K, CERIANI MF, STAKNIS D, GEKAKIS N et coll. Closing the circadian loop : CLOCK-induced transcription of its own inhibitors per and tim. *Science* 1998, **280** : 1599-1603
- DING JM, FAIMAN LE, HURST WJ, KURIASHKINA LR, GILLETTE MU. Resetting the biological clock : mediation of nocturnal CREB phosphorylation *via* light, glutamate, and nitric oxide. *J Neurosci* 1997, **17** : 667-675
- DUNLAP JC. Molecular bases for circadian clocks. *Cell* 1999, **96** : 271-290
- EDERY I, RUTILA JE, ROSBASH M. Phase shifting of the circadian clock by induction of the *Drosophila* period protein. *Science* 1994, **263** : 237-240
- FOULKES NS, WHITMORE D, SASSONE-CORSI P. Rhythmic transcription : the molecular basis of circadian melatonin synthesis. *Biol Cell* 1997, **89** : 487-494
- GEKAKIS N, SAEZ L, DELAHAYE-BROWN AM, MYERS MP, SEHGAL A et coll. Isolation of timeless by PER protein interaction : defection interaction between timeless protein and long-period mutant per1. *Science* 1995, **270** : 811-815
- GEKAKIS N, STAKNIS D, NGUYEN HB, DAVIS FC, WILSBACHER LD et coll. Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science* 1998, **280** : 1564-1569

- GUIDO ME, DE GUIDO LB, GOGUEN D, ROBERTSON HA, RUSAK B. Daily rhythm of spontaneous immediate-early gene expression in the rat suprachiasmatic nucleus. *J Biol Rhythms* 1999, **14** : 275-280
- HALL J. Tripping along the trail to the molecular mechanisms of biological clock. *Trends Neurosci* 1995, **18** : 230-240
- HARDIN PE. Activating inhibitors and inhibiting activators : a day in the life of a fly. *Curr Opin Neurobiol* 1998, **8** : 642-647
- HARRINGTON ME, HOQUE S, HALL A, GOLOMBEK D, BIELLO S. Pituitary adenylate cyclase activating peptide phase shifts circadian rhythms in a manner similar to light. *J Neurosci* 1999, **19** : 6637-6642
- HASTINGS MH, DUFFIELD GE, EBLING FJ, KIDD A, MAYWOOD ES, SCHUROV I. Non-photoc signalling in the suprachiasmatic nucleus. *Biol Cell* 1997, **89** : 495-503
- HASTINGS MH, DUFFIELD GE, SMITH EJ, MAYWOOD ES, EBLING FJ. Entrainment of the circadian system of mammals by nonphotoc cues. *Chronobiol Int* 1998, **15** : 425-445
- HERZOG ED, TAKAHASHI JS, BLOCK GD. Clock controls circadian period in isolated suprachiasmatic nucleus neurons. *Nat Neurosci* 1998, **1** : 708-713
- HONMA S, IKEDA M, ABE H, TANAHASHI Y, NAMIHIRA M et coll. Circadian oscillation of BMAL1, a partner of a mammalian clock gene Clock, in rat suprachiasmatic nucleus. *Biochem Biophys Res Commun* 1998, **250** : 83-87
- JIN X, SHEARMAN LP, WEAVER DR, ZYLKA MJ, DE VRIES GJ, REPPERT SM. A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock. *Cell* 1999, **96** : 57-68
- KAKO K, ISHIDA N. The role of transcription factors in circadian gene expression. *Neurosci Res* 1998, **31** : 257-264
- KING DP, ZAHO Y, SANGORAM AM, WILLSBACHER LD, TANAKA M et coll. Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell* 1997, **89** : 641-653
- KLEIN DC, MOORE RY, REPPERT SM. *Suprachiasmatic nucleus, the mind's clock*. Oxford University Press, Oxford, 1991, 467 p
- KONOPKA RJ, BENZER S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci* 1971, **58** : 2112-2116
- KUME K, ZYLKA MJ, SRIRAM S, SHEARMAN LP, WEAVER DR et coll. mCRY1 and mCRY2 are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop. *Cell* 1999, **98** : 193-205
- LEE C, BAE K, EDERY I. PER and TIM inhibit the DNA binding activity of a *Drosophila* CLOCK-CYC/dBMAL1 heterodimer without disrupting formation of the heterodimer : a basis for circadian transcription. *Mol Cell Biol* 1999, **19** : 5316-5325
- LELOUP JC, GOLDBETER A. A model for circadian rhythms in *Drosophila* incorporating the formation of a complex between the PER and TIM proteins. *J Biol Rhythms* 1998, **13** : 70-87
- LEMMER B, REDFERN PH. Physiology and pharmacology of biological rhythms. In : *Handbook of experimental pharmacology*. Vol. **125** : Springer-Verlag, Berlin, 1997, 668 p

- LESAUTER J, SILVER R. Output signals of the SCN. *Chronobiol Int* 1998, **15** : 535-550
- LÉVI F, LE LOUARN C, REINBERG A. Timing optimizes sustained-release indomethacin treatment of osteoarthritis. *Clin Pharmacol Ther* 1985, **37** : 77-84
- LÉVI F, ZIDANI R, VANNETZEL JM, PERPOINT B, FOCAN C et coll. Chronomodulated versus fixed infusion rate delivery of ambulatory chemotherapy with oxaliplatin, 5-fluorouracil and folinic acid in patients with colorectal cancer metastases. A randomized multiinstitutional trial. *J Natl Cancer Inst* 1994, **86** : 1608-1617
- LÉVI F, ZIDANI R, MISSET JL for the International organization for cancer chronotherapy. Randomized multicentre trial of chronotherapy with oxaliplatin, fluorouracil, and folinic acid in metastatic colorectal cancer. *Lancet* 1997, **350** : 681-686
- LÉVI F, METZGER G, MASSARI C, MILANO G. Oxaliplatin. Pharmacokinetics and chronopharmacological aspects. *Clinical Pharmacokinetics* 2000, **36** : 1-21
- LÉVI F. Cancer chronotherapy. *J Pharmacy Pharmacol* 1999, **51** : 891-898
- LOWREY PL, SHIMOMURA K, ANTOCH MP, YAMAZAKI S, ZEMENIDES PD et coll. Positional syntenic cloning and functional characterization of the mammalian circadian mutation tau. *Science* 2000, **288** : 483-492
- MORMONT MC, LÉVI F. Circadian-system alterations during cancer processes : a review. *Int J Cancer* 1997, **70** : 241-247
- MORMONT MC, CLAUSTRAT B, LANGOUËT AM, GIACCHETTI S, MASSARI C et coll. Circadian rhythms alterations in patients with metastatic colorectal cancer and good performance status. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999, **18** : 253a
- MIYAMOTO Y, SANCAR A. Vitamin B2-based blue-light photoreceptors in the retino-hypothalamic tract as the photoactive pigments for setting the circadian clock in mammals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, **95** : 6097-6102
- MIYAMOTO Y, SANCAR A. Circadian regulation of cryptochrome genes in the mouse. *Brain Res Mol Brain Res* 1999, **71** : 238-243
- MORRIS ME, VISWANATHAN N, KUHLMAN S, DAVIS FC, WEITZ CJ. A screen for genes induced in the suprachiasmatic nucleus by light. *Science*. 1998, **279** : 1544-1547
- MYERS M, WAGER-SMITH K, ROTHENFLUH-HILFIKER A, YOUNG M. Light-induced degradation of TIMELESS and entrainment of the *Drosophila* circadian clock. *Science* 1996, **271** : 1736-1740
- NAMIHIRA M, HONMA S, ABE H, TANAHASHI Y, IKEDA M, HONMA K. Daily variation and light responsiveness of mammalian clock gene, Clock and BMAL1, transcripts in the pineal body and different areas of brain in rats. *Neurosci Lett* 1999, **267** : 69-72
- NUNEZ AA, BULT A, MCELHINNY TL, SMALE L. Daily rhythms of Fos expression in hypothalamic targets of the suprachiasmatic nucleus in diurnal and nocturnal rodents. *J Biol Rhythms* 1999, **14** : 300-306
- OBRIETAN K, IMPEY S, STORM DR. Light and circadian rhythmicity regulate MAP kinase activation in the suprachiasmatic nuclei. *Nat Neurosci* 1998, **1** : 693-700
- OISHI K, SAKAMOTO K, OKADA T, NAGASE T, ISHIDA N. Antiphase circadian expression between BMAL1 and period homologue mRNA in the suprachiasmatic nucleus and peripheral tissues of rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1998, **253** : 199-203

PLAUTZ JD, KANEKO M, HALL JC, KAY SA. Independent photoreceptive circadian clocks throughout *Drosophila*. *Science* 1997, **278** : 1632-1635

PERPOINT B, MISMETTI P, LAPORTE-SIMITSIDIS S, BOISSIER C, HOCQUART J et coll. Timing optimizes sustained-release ketoprofen treatment of osteoarthritis. *Chronobiol Int* 1994, **11** : 119-125

RALPH MR, MENAKER M. A mutation of the circadian system in golden hamsters. *Science* 1988, **241** : 1225-1227

ROSATO E, PICCIN A, KYRIACOU CP. Circadian rhythms : from behaviour to molecules. *Bioessays* 1997, **19** : 1075-1082

RUTILA JE, SURI V, LE M, SO WV, ROSBASH M, HALL JC. CYCLE is a second bHLH-PAS clock protein essential for circadian rhythmicity and transcription of *Drosophila* period and timeless. *Cell* 1998, **93** : 805-813

SEHGAL A, PRICE JL, MAN B, YOUNG MW. Loss of circadian behavioral rhythms and per RNA oscillations in the *Drosophila* mutant timeless. *Science* 1994, **263** : 1603-1606

SUN S, ALSBRECHT U, ZHUCHENKO O, BAILEY J, EICHELE G, LEE C. RIGUI, a putative mammalian ortholog of the *Drosophila* period gene. *Cell* 1997, **90** : 1003-1011

SHEARMAN LP, ZYLKA MJ, WEAVER DR, KOLAKOWSKI LF JR, REPPERT SM. Two period homologs : circadian expression and photic regulation in the suprachiasmatic nuclei. *Neuron* 1997, **19** : 1261-1269

SHEARMAN LP, SRIRAM S, WEAVER DR, MAYWOOD ES, CHAVES I et coll. Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock. *Science* 2000, **288** : 1013-1019

STEEVES TD, KING DP, ZHAO Y, SANGORAM AM, DU F et coll. Molecular cloning and characterization of the human CLOCK gene : expression in the suprachiasmatic nuclei. *Genomics* 1999, **57** : 189-200

TAKUMI T, TAGUCHI K, MIYAKE S, SAKAKIDA Y, TAKASHIMA N et coll. A light-independent oscillatory gene *mPer3* in mouse SCN and OVLT. *EMBO J* 1998a, **17** : 4753-4759

TAKUMI T, MATSUBARA C, SHIGEYOSHI Y, TAGUCHI K, YAGITA K et coll. A new mammalian period gene predominantly expressed in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Cells* 1998b, **3** : 167-176

TAKUMI T, NAGAMINE Y, MIYAKE S, MATSUBARA C, TAGUCHI K et coll. A mammalian ortholog of *Drosophila* timeless, highly expressed in SCN and retina, forms a complex with mPER1. *Genes Cells* 1999, **4** : 67-75

TEI H, OKAMURA H, SHIGEYOSHI Y, FUKUHARA C, OZAWA R et coll. Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila* period gene. *Nature* 1997, **389** : 512-516

THRESHER RJ, VITATERNA MH, MIYAMOTO Y, KAZANTSEV A, HSU DS et coll. Role of mouse cryptochrome blue-light photoreceptor in circadian photoresponses. *Science* 1998, **282** : 1490-1494

VAN DER HORST GT, MUIJTJENS M, KOBAYASHI K, TAKANO R, KANNO S et coll. Mammalian Cry1 and Cry2 are essential for maintenance of circadian rhythms. *Nature* 1999, **398** : 627-630

VITATERNA MH, KING DP, CHANG AM, KORNHAUSER JM, LOWREY JD et coll. Mutagenesis and mapping of a mouse gene, Clock, essential for circadian behavior. *Science* 1994, **264** : 719-725

WEAVER DR. The suprachiasmatic nucleus : a 25-year retrospective. *J Biol Rhythms* 1998, **13** : 100-112

WHITMORE D, SASSONE-CORSI P, FOULKES NS. PASTing together the mammalian clock. *Curr Opin Neurobiol* 1998, **8** : 635-641

ZHENG B, LARKIN DW, ALBRECHT U, SUN ZS, SAGE M et coll. The mPer2 gene encodes a functional component of the mammalian circadian clock. *Nature* 1999, **400** : 169-173

ZYLKA MJ, SHEARMAN LP, WEAVER DR, REPPERT SM. Three period homologs in mammals : differential light responses in the suprachiasmatic circadian clock and oscillating transcripts outside of brain. *Neuron* 1998, **20** : 1103-1110