

Contrôle photopériodique de la synthèse de mélatonine par la rétine et l'épiphyse de poisson

par Laurence Besseau*, Robin Vuilleumier, Sandrine Sauzet, Gilles Boeuf & Jack Falcón

Laboratoire Arago, UPMC & CNRS, UMR 7628/GDR2821, Banyuls-sur-mer, France.

* Correspondance : Laboratoire Arago, avenue du Fontaulé, BP44, 66651 Banyuls sur mer cédex, France.
Tél. : 04-68-88-73-17. Fax : 04-68-88-73-98. Courriel : besseau@obs-banyuls.fr

Reçu le 30 mars 2007

RÉSUMÉ

La mélatonine est l'hormone donneuse de temps chez les Vertébrés. Par la dynamique de sa production nyctémérale et saisonnière, elle assure la synchronisation de fonctions physiologiques et de comportements sur des périodicités naturelles. Chez les poissons, la mélatonine est synthétisée principalement par les cellules photoréceptrices de l'organe pinéal et de la rétine. La voie de synthèse de la mélatonine est également activée au niveau de certains types cellulaires des couches « nucléaire interne » et « ganglionnaire » de la rétine. Chez une majorité d'espèces, la

synthèse de mélatonine est maximale de nuit (*high-at-night*), assujettie aux variations circadiennes de l'avant-dernière enzyme de la voie de sa synthèse, l'arylalkylamine *N*-acétyltransférase (AANAT). Chez d'autres, le profil de mélatonine rétinienne présente un maximum le jour (*high-at-day*), ou aux interphases. Les données de la littérature résumées ici concernent les mécanismes moléculaires et cellulaires mis en jeu dans le contrôle de la production de cet important messager du système circadien, soulignant en particulier leur plasticité.

SUMMARY Photoperiodic control of melatonin synthesis in fish pineal and retina

Melatonin is the time-keeping molecule of vertebrates. The daily and annual variations of its rhythmic production allow synchronizing physiological functions and behaviours to the variations of the environment. In fish, melatonin is produced by the photoreceptor cells of the retina and pineal organ. It is also synthesized by other retinal cell types of the inner nuclear and ganglion cell layers. In most of the species investigated, the melatonin rhythm displays a *high-at-night* profile, resulting from the circadian

control of the arylalkylamine *N*-acetyltransferase (AANAT) activity; AANAT is the penultimate enzyme in the melatonin biosynthesis pathway. Some fish species escape the *high-at-night* rule in the retina, and the rhythm displays a *high-at-day* profile, intermediate situations being sometimes observed. This review summarizes our current knowledge on the molecular and cellular mechanisms of the rhythmic control of production of an important circadian clock messenger, underlying their plasticity.

INTRODUCTION

L'adaptation au milieu et la survie supposent, chez les êtres vivants, la coordination de fonctions complexes et en particulier une harmonie rigoureuse avec l'environnement. Les organismes doivent faire face aux fluctuations journalières et saisonnières du milieu et la synchronisation de fonctions physiologiques et de comportements sur des périodicités naturelles semble vitale pour de nombreuses espèces. Par exemple, la naissance et la croissance de la progéniture doivent se réaliser aux périodes les plus propices de l'année, afin d'assurer une survie optimale. Dans la grande majorité des cas, les êtres vivants possèdent des horloges biologiques qui présentent une activité rythmique autonome avec une périodi-

cité proche de 24 h (circadienne¹) ou d'une année (circannuelle). Synchronisées par la photopériode, les horloges circadiennes produisent des messages rythmiques, journaliers et annuels, qui informent l'organisme sur le moment du jour et de l'année. Un tel système permet d'anticiper les variations périodiques de l'environnement et ainsi de mieux s'y préparer.

Chez les vertébrés, la mélatonine est une aiguille hormonale des horloges biologiques, le « donneur de temps » interne de l'organisme. Elle est produite par la glande pinéale et la rétine. Chez les mammaliens et les ophiidiens, les trois composantes du système circadien, les unités photoréceptrices, circadiennes et productrices de

¹ Circa = approximativement ; dien = jour.

mélatonine sont localisées dans des sites distincts, respectivement la rétine, les noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus et l'organe pinéal (Moore, 1995); ce dernier n'est pas directement photosensible. Chez les vertébrés non mammaliens, poissons et sauropsiens (sauf les ophidiens), les cellules photoréceptrices de la rétine et de l'organe pinéal concentrent les trois éléments et assurent la fonction circadienne (Falcón, 1999; Falcón *et al.*, 2007). Quelles sont les modalités de la capture de l'information lumineuse et comment cette information est-elle traduite en un message mélatoninergique? Telles sont les questions abordées ici chez les poissons².

LA MÉLATONINE : VOIE DE SYNTHÈSE ET SITES DE PRODUCTION

La voie de synthèse de la mélatonine à partir du tryptophane consiste en quatre étapes enzymatiques consécutives (Fig. 1) (Klein *et al.*, 1981; Falcón, 1999; Ganguly *et al.*, 2002). La tryptophane hydroxylase (TpOH) catalyse la conversion du tryptophane en 5-hydroxytryptophane (5HTP), lequel est ensuite décarboxylé par l'acide aminé aromatique décarboxylase, produisant la sérotonine (5HT). A partir de la sérotonine, deux étapes sont encore nécessaires à la production de mélatonine : l'arylalkylamine *N*-acétyltransférase (AANAT) convertit la sérotonine en *N*-acétylsérotonine (NAS), laquelle est ensuite méthylée par l'hydroxyindole-*O*-méthyltransférase (HIOMT) conduisant à la mélatonine. C'est une molécule lipophile et sa sécrétion suit immédiatement sa production. Chez les poissons, comme chez l'ensemble des vertébrés, la production de mélatonine est rythmique, sous contrôle circadien et photopériodique. L'élévation nocturne de la production de mélatonine résulte d'une augmentation de l'activité AANAT (Fig. 1), qui est inhibée par la lumière (Klein *et al.*, 1997; Falcón, 1999; Falcón *et al.*, 2007). Pour cette raison, un intérêt particulier est porté à cette enzyme.

Chez les téléostéens, deux gènes AANAT ont été identifiés, principalement exprimés, l'un (AANAT1) dans la rétine et l'autre (AANAT2) dans l'organe pinéal. Ce dernier n'a pas d'équivalent chez les autres représentants de vertébrés, chez lesquels un seul gène AANAT existe, proche des AANAT de type 1 (Bégay *et al.*, 1998; Coon *et al.*, 1999; Besseau *et al.*, 2006). Une duplication du génome, apparue à la base de l'embranchement des téléostéens, pourrait être à l'origine de cette situation. Par ailleurs, sur la base d'analyses comparatives des génomes séquencés de trois téléostéens et des séquences AANAT actuellement disponibles, il ressort que certains téléostéens (deux espèces de tétraodontidés, *Takifugu rubripes* et *Tetraodon nigroviridis* et le medaka, *Oryzias latipes*) possèdent deux AANAT1 (1a et 1b) alors que d'autres (poisson zèbre, *Danio rerio*) n'en possèdent qu'une (Coon & Klein, 2006). Paradoxalement, alors que les téléostéens expriment plusieurs gènes codant les

² Dans ce manuscrit, le terme « poissons », commun et usuel, fait référence aux actinoptérygiens.

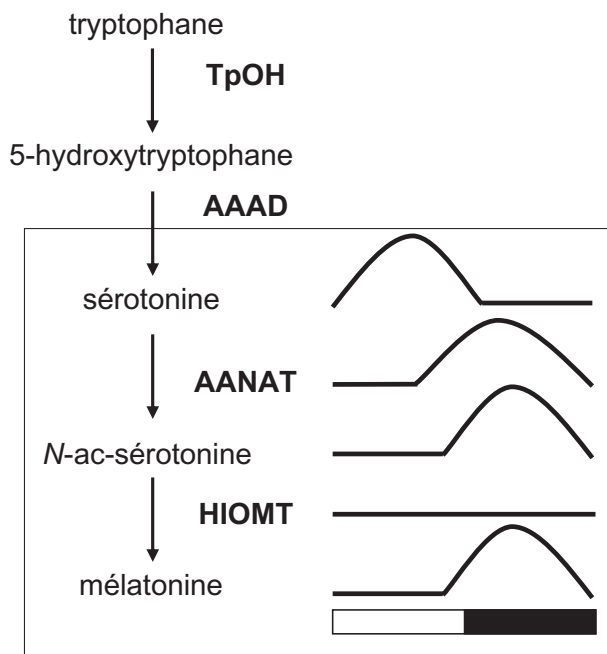


FIG. 1. – Représentation schématique de la voie de synthèse de la mélatonine. Dans l'encadré : A partir de sérotonine, deux étapes enzymatiques impliquant l'AANAT puis l'HIOMT sont nécessaires à la synthèse de mélatonine. La production de mélatonine, maximale la nuit, est rythmée par l'activité de l'AANAT, tandis que celle de l'HIOMT ne varie pas (barre blanche : jour, barre noire : nuit).

AANAT ou les protéines de la phototransduction, une seule copie du gène codant l'HIOMT est rapportée à ce jour (Vuilleumier *et al.* soumis). Les questions de la localisation et de la signification fonctionnelle de ces différentes AANAT sont posées.

Dans la pinéale, la voie de synthèse de la mélatonine à partir du tryptophane a lieu dans les cellules photoréceptrices, comme en témoignent les études portant sur la capture de composés indoliques radioactifs (³H-Tp, ³H-5HTP, ³H-5HT; ³H-mélatonine), sur la localisation (immuno)cytochimique de certains d'entre eux (5HT, mélatonine) ou de l'HIOMT (Falcón *et al.*, 1994a), ou encore de l'expression du gène *Aanat* (Fig. 2a) (Isorna *et al.*, 2006). Enfin, la mélatonine est présente dans des surnageants de cultures de photorécepteurs de type cône, isolés d'épiphyse de brochet (*Esox lucius*) et il a été montré que chaque photorécepteur concentre les trois unités d'un système circadien fonctionnel (photoréception, horloge circadienne, production de mélatonine) (Bolliet *et al.*, 1996). Dans la rétine, la production de mélatonine a lieu dans les photorécepteurs rétiniens où l'expression conjointe de l'AANAT1 et de l'HIOMT est détectée (Fig. 3) (Besseau *et al.*, 2006). En outre, plusieurs autres types cellulaires de la rétine sont capables de synthétiser la mélatonine, tels les cellules ganglionnaires et différents types cellulaires de la couche nucléaire interne non encore identifiés (Fig. 3) (Besseau *et al.*, 2006). La distribution cellulaire de l'expression de l'AANAT1 et de l'HIOMT dans la rétine de truite arc-

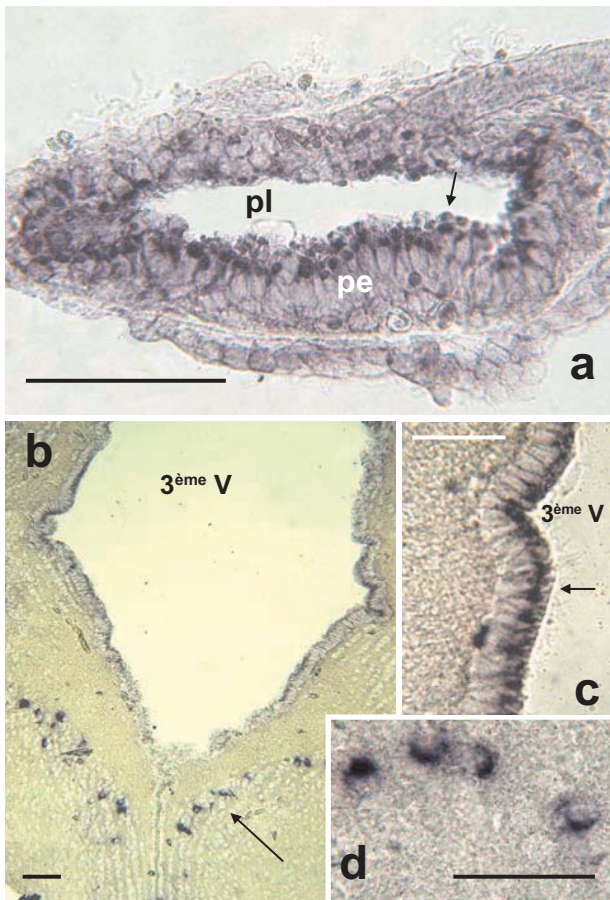


FIG. 2. – Localisation des ARN messagers de l'AANAT1 chez la grenouille *Rana perezi*. (a) dans l'organe pinéal, le signal se localise dans le segment interne des photorécepteurs, en contact avec le fluide cérébrospinal dans la lumière de la glande. (b) : dans l'aire suprachiasmatique, deux groupes de cellules sont marqués. (c) : les cellules bordant le 3^{ème} ventricule dans le thalamus median et (d) quelques cellules éparses en région basale du diencéphale. D'après Isorna *et al.* (2006) et avec l'autorisation requise.

en-ciel (*Onchorhynchus mykiss*) est similaire à celle concernant l'HIOMT observée dans la rétine de turbot *Psetta maxima* (Vuilleumier *et al.* soumis). La présence conjointe de transcrits d'AANAT1 et d'HIOMT dans des cellules de la rétine autres que les cellules photoréceptrices témoigne de l'activation de la voie de synthèse de la mélatonine à partir de la sérotonine dans ces différents types cellulaires (Besseau *et al.*, 2006). Ces observations sont à mettre en relation avec des résultats antérieurs (Falcón & Collin, 1991) qui mettent en évidence, par immunocytochimie, la présence d'un composé apparenté à la mélatonine dans les cellules de la couche interne de la rétine de brochet. Ainsi, la mélatonine rétinienne est produite par des cellules photoréceptrices et, à un degré moindre, par des cellules jusqu'à présent considérées comme non photoréceptrices. Ces données sont peut être à mettre en rapport avec la mise en évidence d'un "pool" de cellules ganglionnaires photosensibles dans la rétine de mammifère (Berson, 2007). Enfin, une expression extra-épiphysaire et extra-rétinienne de l'AANAT1 est repérée en région apicale de cellules épendymaires bordant la lumière du troisième ventricule du diencéphale de grenouille *Rana perezi*

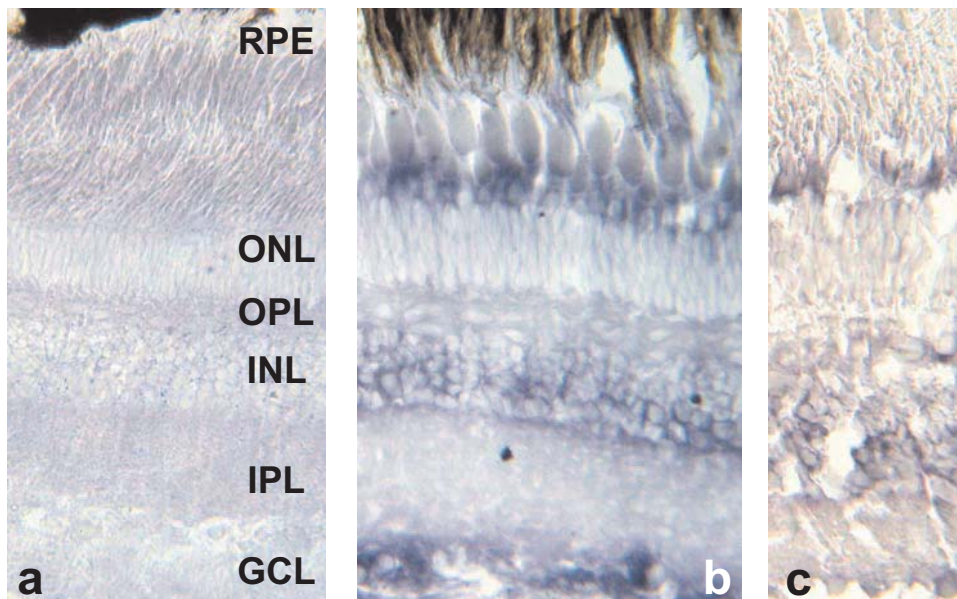


FIG. 3. – Expression des gènes de l'AANAT1 et de l'HIOMT dans la rétine de truite arc-en-ciel par hybridation *in situ*. (a) : sonde sens, aucun signal n'est détectable. (b) : avec la sonde AANAT1 antisens, des transcrits sont détectés dans la région apicale des photorécepteurs dans la couche nucléaire externe, ainsi que dans différents types cellulaires de la couche nucléaire interne, et dans les cellules ganglionnaires. (c) : le pattern d'expression de l'HIOMT dans les couches cellulaires de la rétine est identique. D'après Besseau *et al.* (2006) et avec l'autorisation requise.

(Fig. 2) (Isorna *et al.*, 2006). Un signal est également détectable dans des cellules éparses, situées dans la partie basale du diencéphale au dessus du chiasma optique, appartenant donc aux noyaux suprachiasmatiques. De façon analogue, des transcrits AANAT1 ont été recherchés dans le cerveau du loup de mer *Dicentrarchus labrax* et observés au niveau de l'épithélium du 3^{ème} ventricule du diencéphale, ainsi qu'en région interne du toit optique et du cervelet (Besseau *et al.*, résultats non publiés). Aucun transcrit d'AANAT n'a été détecté par hybridation *in situ* dans le cerveau chez le singe *Macaca mulatta* (Coon *et al.*, 2002). Il convient désormais de préciser le rôle joué par l'enzyme AANAT dans ces cellules cérébrales, et juger de l'éventuel rôle photorécepteur de ces dernières. Présentent-elles une expression de l'HIOMT et donc sont-elles capables de synthétiser de la mélatonine ? Possèdent-elles des photopigments ? Ces cellules pourraient correspondre à des photorécepteurs diencéphaliques profonds, dont la présence est soupçonnée depuis déjà de nombreuses années (Benoit & Assenmacher, 1953).

L'ensemble de ces résultats suggère que la synthèse de mélatonine n'est pas le seul fait des photorécepteurs et que la photoréception n'est pas une spécificité des cellules photoréceptrices de la couche nucléaire externe (Foster *et al.*, 2003 ; Falcón *et al.*, 2007). Toutefois, les données publiées à ce jour indiquent que la principale production de mélatonine est le fait des photorécepteurs. Ceux de la pinéale libèrent l'hormone dans la circulation sanguine, constituant ainsi le signal photopériodique hormonal. A l'inverse, la mélatonine rétinienne est sécrétée et métabolisée localement et joue donc un rôle de type auto/paracrine. Il est intéressant de noter que les cellules qui produisent la mélatonine dans la rétine expriment également ses récepteurs (Sauzet *et al.*, 2006).

RYTHMES DE SÉCRÉTION : DIFFÉRENTES MODALITÉS DANS L'ÉPIPHYSE ET LA RÉTINE

La dynamique de sécrétion de mélatonine est un critère fondamental pour la transmission de diverses informations environnementales vers l'organisme et la synchronisation de nombreuses fonctions cycliques avec les variations journalières et saisonnières de son biotope (Fig. 4). La synthèse journalière de mélatonine est associée aux variations circadiennes de l'activité enzymatique de l'AANAT. Chez les poissons, l'existence des deux gènes AANAT pose la question des modalités de régulation dans les deux organes photorécepteurs.

La pinéale

L'élévation nocturne de la sécrétion de mélatonine (Fig. 4a) est étroitement liée au contrôle de l'activité AANAT2 par la photopériode, lequel s'effectue à différents niveaux. Chez une majorité de téléostéens, l'horloge circadienne entraîne un rythme d'expression du gène *Aanat2* (Bégay *et al.*, 1998 ; Coon *et al.*, 1999) car la zone régulatrice de ce dernier possède des sites de fixation pour les facteurs de transcriptions BMAL/ CLOCK qui sont des composantes intrinsèques de la mécanique horlogère moléculaire (Appelbaum & Gothilf, 2006). Ainsi, la quantité d'ARNm de l'AANAT2 augmente dès la fin du jour (brochet) ou le début de la nuit (poisson-zèbre), pour atteindre un maximum vers minuit. Ce rythme est suivi, quelques heures plus tard, par celui de l'accumulation de protéine AANAT2 phosphorylée, qui est étroitement corrélé à celui de l'activité AANAT2 (Falcón *et al.*, 2001). La photopériode agit à deux niveaux : 1) elle synchronise l'activité des horloges, donc l'expression du gène *Aanat2* ;

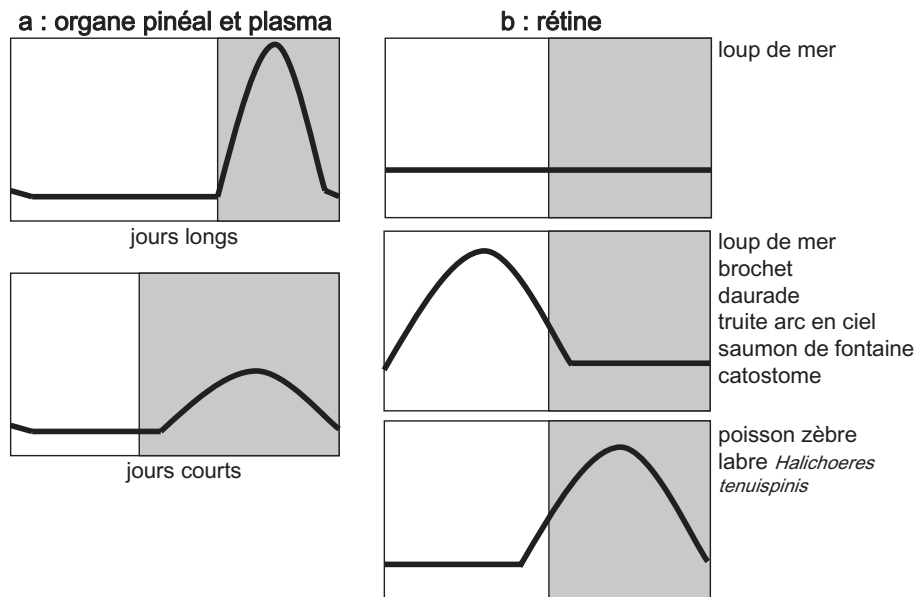


FIG. 4. – Variations des profils journaliers de la quantité de mélatonine au cours du cycle de 24 h, dans la glande pinéale, le plasma et la rétine. (a) organe pinéal et plasma présentent un profil identique avec des maxima nocturnes chez toutes les espèces étudiées. (b) dans la rétine, le profil varie selon l'espèce (fond blanc : jour, fond gris : nuit).

2) elle contrôle la quantité de protéine AANAT2 et donc l'activité enzymatique. En effet, la lumière induit la déphosphorylation de l'enzyme qui entraîne sa dégradation *via* le protéasome (Falcón *et al.*, 2001). Chez quelques espèces de salmonidés, l'horloge circadienne n'est pas fonctionnelle et la quantité de messagers reste constante tout au long du cycle de 24 h. Seul le contrôle photopériodique de la quantité de protéine entre en jeu.

La rétine

Les rythmes de sécrétion de la mélatonine rétinienne peuvent présenter des profils bien différents selon les espèces étudiées (Fig. 4b). Chez certaines espèces (le poisson-zèbre, le labre *Halicoeres tenuispinis*), le profil rétinien présente un pic nocturne, analogue à celui de la mélatonine d'origine pinéale (Cahill, 1996; Iigo *et al.*, 2003), mais chez la plupart, le pic de production n'est pas nécessairement corrélé à la nuit et il peut même être totalement inversé par rapport à celui de l'épiphyse, *i.e.*, le pic est diurne (Falcón & Collin, 1991; Garcia-Allegue *et al.*, 2001). Chez le loup de Méditerranée, le profil de production de mélatonine varie au cours de l'année : il est arythmique et faible au printemps et en été ; il est rythmique et le pic est diurne en automne et en hiver (Garcia-Allegue *et al.*, 2001; Bayarri *et al.*, 2002).

Comme pour l'épiphyse, le contrôle photopériodique de la production de mélatonine fait (brochet, poisson zèbre) ou non (truite arc-en-ciel) intervenir une horloge circadienne contrôlant l'expression de l'*Aanat1* (Gern & Greenhouse, 1988; Thibault *et al.*, 1993b; Coon *et al.*, 1999; Mizusawa *et al.*, 2000). Dans tous les cas, la régulation passe par le contrôle de la quantité de protéine AANAT1. Chez la truite arc-en-ciel, nous avons montré que la photopériode contrôle directement l'expression du gène *Aanat1*, car les messagers correspondants sont plus abondants de nuit que de jour (Besseau *et al.*, 2006). Ce contrôle ne fait pas intervenir d'horloge circadienne car les niveaux d'ARNm sont constamment élevés en nuit continue, et constamment faibles en jour continu. Paradoxalement, la quantité de protéine AANAT1 détectée sur western blot, ainsi que l'activité enzymatique sont plus élevées de jour que de nuit. A l'inverse de ce qui a été démontré pour l'AANAT2 dans la glande pinéale de poissons, dont la truite arc-en-ciel (Falcón *et al.*, 2001), c'est l'obscurité qui induit la dégradation, *via* le protéasome, de la protéine AANAT1. A ce jour, il est difficile de savoir pourquoi la production de mélatonine rétinienne de truite arc-en-ciel présente un profil avec un maximum de jour, "high-at-day", inverse de celui de la mélatonine épiphysaire, "high-at-night".

MODULATION DU CONTRÔLE PHOTOPÉRIODIQUE PAR LA TEMPÉRATURE

Le cycle nyctéméral n'est que l'un des nombreux paramètres qui influencent la physiologie et le comportement des vertébrés. En raison de leur ectothermie, les

poissons sont directement influencés par la température du milieu environnant. De la même façon que l'éclairement environnant, la température présente des fluctuations journalières et saisonnières, traduites entre autres par l'organisme au niveau du signal mélatoninergique produit par les photorécepteurs de la glande pinéale. Les effets de la température varient d'une espèce à l'autre. La température agit directement sur l'organe pinéal en modulant la sécrétion de mélatonine, au niveau de l'activité enzymatique de l'AANAT2 (Thibault *et al.*, 1993a; Thibault *et al.*, 1993b). En culture, les variations de cette activité en fonction de la température suivent une courbe en cloche dans des pinéales de brochet et de truite arc-en-ciel, et il existe une bonne corrélation entre le maximum de la réponse et le preferendum physiologique de l'espèce considérée (12-15° C chez la truite arc-en-ciel, 18-25° C chez le brochet et 27° C chez la daurade, *Sparus aurata*). Pour ce qui concerne l'AANAT1, l'activité enzymatique montre une grande tolérance aux températures élevées et l'activité augmente linéairement jusqu'à 25° C chez la truite et jusqu'à 37° C chez le brochet et la daurade (Falcón *et al.*, 1996; Coon *et al.*, 1999; Benyassi *et al.*, 2000). La réponse à la température semble être une propriété intrinsèque des enzymes elles-mêmes, car les activités mesurées à partir d'homogénats d'organes et d'enzymes recombinantes montrent le même profil de réponse (Falcón *et al.*, 1996; Coon *et al.*, 1999; Benyassi *et al.*, 2000; Zilberman-Peled *et al.*, 2004).

Ainsi, l'organe pinéal intègre les données environnementales à partir de deux paramètres : la photopériode et la température (Zachmann *et al.*, 1992; Falcón *et al.*, 1994b). Aux latitudes moyennes, ces deux facteurs ne varient pas de manière indépendante. En obscurité continue, le cycle de température seul est capable de synchroniser la sécrétion de mélatonine *in vitro*, et l'amplitude des oscillations dépend alors de l'amplitude du thermocycle imposé. Cependant, dans le cas où un oscillateur circadien conduit le rythme de mélatonine, les cycles de température ne sont pas en mesure d'entraîner les horloges circadiennes, pas plus que les « pulses » de température ne peuvent changer la phase des horloges (Falcón *et al.*, 1994b). Quant à la période des cycles circadiens qui gouvernent les oscillations de la sécrétion de mélatonine, elle est insensible à la température ; seule l'amplitude du rythme varie avec la température en obscurité continue (Bolliet *et al.*, 1994).

En bref, le signal mélatoninergique d'origine pinéale reflète à la fois les variations de la photopériode (durée) et celles de la température (amplitude) du milieu environnant. Cette réponse concerne seulement la mélatonine d'origine pinéale et plasmatique, et non celle d'origine rétinienne. Ceci a des conséquences importantes sur la forme des oscillations au cours des saisons, plus particulièrement en régions tempérées et arctiques. Ce fait peut être important également au cours du cycle journalier, bien que les variations de température soient moins importantes à l'échelle journalière qu'annuelle. Les poissons montrent des variations journalières dans leurs preferendums thermique et bathymétrique et l'organe pinéal semble impliqué dans ces processus (Zachmann *et al.*, 1992).

MISE EN PLACE DE LA FONCTION PHOTO-NEUROENDOCRINE

L'organe pinéal se développe avant la rétine

Les données de la littérature indiquent que l'organe pinéal se développe et est fonctionnel avant la rétine. Chez le poisson-zèbre, les premiers neurones et leurs projections cérébrales sont observables dès 19-20 h après la fécondation et sont d'origine pinéale. L'observation ultrastructurale des quelques cellules de la zone présomptive de l'épiphysse révèle, dès 22 h post-fécondation (hpf), des critères cytologiques typiques de photorécepteurs, tels que des mitochondries larges et denses aux électrons ou des structures ciliaires, mais d'autres critères, tels l'organisation segmentaire et polarisée, les segments externes ou encore les rubans synaptiques, sont encore absents (Vuilleumier *et al.*, 2006). A ce stade, les cellules de la rétine montrent toutes des caractères indifférenciés. Si à 48 hpf les photorécepteurs pinéaux ont achevé leur différenciation, ceux de la rétine sont encore embryonnaires bien que les différentes couches rétinien-nes, y compris l'épithélium pigmentaire, soient en place. (Vuilleumier *et al.*, 2006). Les tout premiers caractères structuraux de photorécepteurs rétinien-ns apparaissent à 60 hpf (Schmitt & Dowling, 1999), et l'organisation définitive est obtenue à 72 hpf (Vuilleumier *et al.*, 2006).

Les données fonctionnelles concernent l'apparition des molécules de la phototransduction d'une part, et celles de la voie de synthèse de la mélatonine d'autre part. D'une façon générale, il a été observé que les protéines de la phototransduction, ou l'expression des gènes qui les codent, apparaissent d'abord dans la pinéale puis dans la rétine (Forsell *et al.*, 1997). Par exemple, l'expression du gène codant l'IRBP (*Inter Photoreceptor Binding Protein*) est détectable à 26 hpf dans l'épiphysse et 53 hpf dans la rétine ventrale de poisson-zèbre (Stenkamp *et al.*, 1998). Chez la même espèce, l'expression de l'exorhodopsine (ExR) pinéale qui débute à 18 hpf, précède de deux jours celle de la rhodopsine rétinienne, laquelle débute toujours dans les photorécepteurs de la partie ventrale ; elle est étendue à l'ensemble des photorécepteurs après seulement 17 jours pf (Kennedy *et al.*, 2001). De même, les protéines rhodopsine, transducine et arrestine sont détectables avant l'éclosion dans la pinéale et après éclosion dans la rétine de hareng (*Clupea harengus*), morue (*Gadus morhua*), saumon atlantique (*Salmo salar*) et épinoche (*Gasterosteus aculeatus*) (Ostholm *et al.*, 1987 ; Ostholm *et al.*, 1988 ; Forsell *et al.*, 2001). Le flétan (*Hippoglossus hippoglossus*), le seul pleuronectiforme étudié à ce jour pour ces questions, montre les différences les plus prononcées ; les marqueurs de la photoréception sont identifiables dans l'épiphysse avant (14 jours pf), et dans la rétine après la métamorphose (30 jours pf) (Forsell *et al.*, 1997). En ce qui concerne le métabolisme des indolamines, il semble que l'apparition de 5HT, précurseur de la mélatonine, détecté par immunocytochimie, est concomitante de celle des protéines de la phototransduction dans la pinéale des poissons étudiés. Malheureusement, la cinétique de son apparition dans les

photorécepteurs rétinien-ns n'est pas disponible. Par contre, les messagers du gène codant l'AANAT2 (5HT → NAS), lequel gène s'exprime principalement dans l'épiphysse et, à un degré moindre, dans la rétine, sont quantifiables dès 18 hpf chez le poisson-zèbre (comme les transcrits de l'ExR) et seulement à partir de 96 hpf dans la zone ventrale de la rétine, au niveau de la couche des photorécepteurs (Gothilf *et al.*, 1999). Une cinétique de développement analogue est observée avec l'expression de l'HIOMT chez le turbot (Vuilleumier *et al.*, soumis).

Photopériode et développement de la fonction pinéale

La photopériode joue un rôle primordial dans la mise en place du rythme de production de la mélatonine. Chez le poisson-zèbre, l'expression rythmique de l'*Aanat2* est observée dès le deuxième jour après la fécondation en conditions d'alternance jour nuit (LD) (Fig. 5). Ce rythme n'est plus détectable en conditions continues (LL ou DD). Par contre, une simple transition de phase, LL → DD ou DD → LL, déclenche des oscillations circadiennes à la condition qu'elle ait lieu 18 h après la fécondation (Vuilleumier *et al.*, 2006). Il est encore difficile de déterminer si cette transition de phase met en route les oscillateurs circadiens ou si elle synchronise une population d'oscillateurs déjà fonctionnels. Mais il est clair que c'est la lumière, et non l'obscurité, qui détermine la phase de ce rythme.

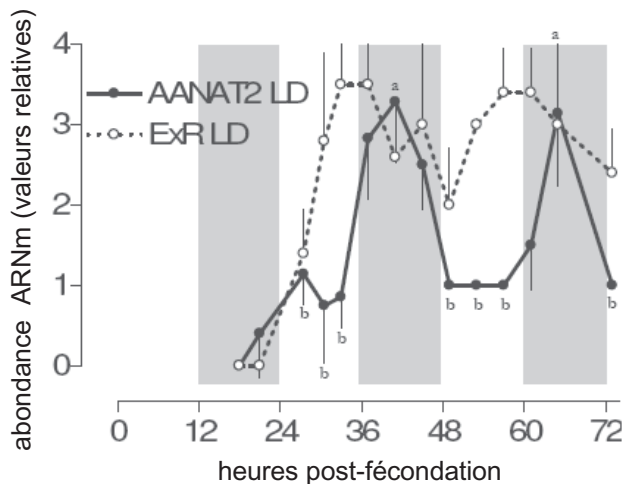


FIG. 5. – Variations de l'abondance des transcrits de l'exorhodopsine et de l'AANAT2 dans la glande pinéale d'embryons de poisson-zèbre, au cours des trois premiers jours de vie en cycles lumière-obscurité 12:12. Les barres grises indiquent les phases d'obscurité. D'après Vuilleumier *et al.* (2006) et avec l'autorisation requise.

CONCLUSION

L'ensemble des données concernant la production de la mélatonine rapportées dans ce travail témoignent d'une grande plasticité du système circadien et mélatoninergique chez les poissons. Celle-ci s'exprime au niveau cellulaire. Ce sont les cellules photoréceptrices de

l'organe pinéal et de la rétine qui produisent la mélatonine. Si les photorécepteurs constituent le type cellulaire majeur de la production de mélatonine, d'autres cellules sont concernées dans la rétine. Un rôle autocrine de la mélatonine rétinienne est suggéré – d'autant que l'expression des récepteurs à la mélatonine est détectée dans les mêmes types cellulaires – mais quel est-il exactement? Par ailleurs, la question est posée du rôle de l'AANAT dans certaines régions du cerveau.

La plasticité du système s'exprime également au niveau fonctionnel. La synthèse et la libération de mélatonine épiphysaire sont rythmiques, contrôlées par le cycle nyctéméral environnemental de telle façon que la production est maximale à l'obscurité et diminue avec la lumière. Il en va différemment de la mélatonine rétinienne laquelle présente des profils journaliers de synthèse variables selon la saison et les espèces de téléostéens considérées. L'AANAT joue le rôle majeur dans la régulation de la dynamique de production de mélatonine et sur ce point, différentes modalités régulatrices sont mises en évidence. Lorsqu'une horloge est présente, comme chez le brochet, les AANAT épiphysaire et rétinienne sont régulées au niveau transcriptionnel. Lorsque l'horloge est absente, comme c'est le cas chez la truite arc-en-ciel, seule l'AANAT rétinienne est régulée au niveau transcriptionnel. Le changement de phase agit sur la protéine AANAT produite, dans le cadre d'une régulation post-traductionnelle, en activant sa dégradation *via* le protéasome. Les horloges de l'épiphysse et de la rétine montrent alors un décalage de phase et la voie du protéasome est activée par la lumière dans la glande pinéale et par l'obscurité dans la rétine.

Les différences notées entre pinéale et rétine témoignent des différents rôles joués par ces deux organes dans la production de mélatonine. La mélatonine rétinienne, synthétisée, libérée et métabolisée localement, possède des propriétés autocrine/paracrine qui restent à préciser. L'expression conjointe des enzymes de la voie de synthèse de la mélatonine et de ses récepteurs, suggère l'implication de l'hormone dans le contrôle de la sensibilité rétinienne (mouvements rétinomoteurs en l'absence de pupille; modulation de la production de neurotransmetteurs,...). La mélatonine d'origine pinéale agit, quant à elle, selon le mode hormonal, indiquant le moment du jour et de l'année. En régions tempérées, la phase et l'amplitude des rythmes de la mélatonine épiphysaire et plasmatique varient avec la saison. Si la photopériode est le facteur majeur du contrôle de la durée et de la phase de ce rythme, la température joue également un rôle essentiel chez ces organismes ectothermes, car elle en contrôle l'amplitude. En d'autres termes, l'organe pinéal intègre des informations des cycles photopériodique et thermique environnementaux. Dès lors, les données rapportées dans ce travail suggèrent qu'un effort devrait être porté à une meilleure connaissance des mécanismes moléculaires et cellulaires à la base de ces régulations, et plus encore à la plasticité physiologique qu'ils génèrent. Ces questions se posent aujourd'hui de manière cruciale dans le contexte alarmant du réchauffement climatique global, face auquel les organismes pour sur-

vivre, s'ils ne peuvent plus migrer vers des environnements adéquats à leur physiologie, devront développer des mécanismes adaptatifs.

BIBLIOGRAPHIE

- Appelbaum L. & Gothilf Y., Mechanism of pineal-specific gene expression: the role of E-box and photoreceptor conserved elements. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2006, 252, 27-33.
- Bayarri M. J., Madrid J. A. & Sanchez-Vazquez F. J., Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. *J. Pineal Res.*, 2002, 32, 34-40.
- Bégay V., Falcón J., Cahill G. M., Klein D. C. & Coon S. L., Transcripts encoding two melatonin synthesis enzymes in the teleost pineal organ: circadian regulation in pike and zebrafish, but not in trout. *Endocrinology*, 1998, 139, 905-912.
- Benoit J. & Assenmacher I., Role of superficial and deep photoreceptors in photostimulation of gonads in birds. *J. Physiol. (Paris)*, 1953, 45, 34-37.
- Benyassi A., Schwartz C., Coon S. L., Klein D. C. & Falcón J., Melatonin synthesis: arylalkylamine N-acetyltransferases in trout retina and pineal organ are different. *Neuroreport*, 2000, 11, 255-258.
- Berson D. M., Phototransduction in ganglion-cell photoreceptors. *Pflugers Arch.*, 2007 (sous presse).
- Besseau L., Benyassi A., Moller M., Coon S. L., Weller J. L., Boeuf G., Klein D. C. & Falcón J., Melatonin pathway: breaking the 'high-at-night' rule in trout retina. *Exp. Eye Res.*, 2006, 82, 620-627.
- Bolliet V., Ali M. A., Lapointe F. J. & Falcón J., Rhythmic melatonin secretion in different teleost species: an *in vitro* study. *J. Comp. Physiol. [B]*, 1996, 165, 677-683.
- Bolliet V., Bégay V., Ravault J. P., Ali M. A., Collin J. P. & Falcón J., Multiple circadian oscillators in the photosensitive pike pineal gland: a study using organ and cell culture. *J. Pineal Res.*, 1994, 16, 77-84.
- Cahill G. M., Circadian regulation of melatonin production in cultured zebrafish pineal and retina. *Brain Res.*, 1996, 708, 177-181.
- Coon S. L., Bégay V., Deurloo D., Falcón J. & Klein D. C., Two arylalkylamine N-acetyltransferase genes mediate melatonin synthesis in fish. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 9076-9082.
- Coon S. L., Del Olmo E., Young W. S. 3rd & Klein D. C., Melatonin synthesis enzymes in *Macaca mulatta*: focus on arylalkylamine N-acetyltransferase (EC 2.3.1.87). *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, 87, 4699-4706.
- Coon S. L. & Klein D. C., Evolution of arylalkylamine N-acetyltransferase: Emergence and divergence. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2006, 252, 2-10.
- Falcón J., Cellular circadian clocks in the pineal. *Prog. Neurobiol.*, 1999, 58, 121-162.
- Falcón J., Bégay V., Goujon J. M., Voisin P., Guerlotte J. & Collin J. P., Immunocytochemical localisation of hydroxyindole-O-methyltransferase in pineal photoreceptor cells of several fish species. *Journal of Comparative Neurology*, 1994a, 341, 559-566.
- Falcón J., Besseau L. & Boeuf G., Molecular and cellular regulation of pineal organ responses. In: *Sensory systems neuroscience – Fish physiology*, vol. 25. Hara T. & Zielinski B. (ed.), pp. 243-306. Elsevier, 2007.
- Falcón J., Bolliet V. & Collin J. P., Partial characterization of serotonin N-acetyltransferases from northern pike (*Esox lucius*, L.) pineal organ and retina: effects of temperature. *Pflugers Arch.*, 1996, 432, 386-393.
- Falcón J., Bolliet V., Ravault J. P., Chesneau D., Ali M. A. & Collin J. P., Rhythmic secretion of melatonin by the superfused

- pike pineal organ: thermo- and photoperiod interaction. *Neuroendocrinology*, 1994b, 60, 535-543.
- Falcón J. & Collin J. P., Pineal-retinal relationships: rhythmic biosynthesis and immunocytochemical localization of melatonin in the retina of the pike (*Esox lucius*, L.). *Cell Tissue Res.*, 1991, 265, 601-609.
- Falcón J., Galarneau K. M., Weller J. L., Ron B., Chen G., Coon S. L. & Klein D. C., Regulation of arylalkylamine N-acetyltransferase-2 (AANAT2, EC 2.3.1.87) in the fish pineal organ: evidence for a role of proteasomal proteolysis. *Endocrinology*, 2001, 142, 1804-1813.
- Forsell J., Ekstrom P., Flammarique I. N. & Holmqvist B., Expression of pineal ultraviolet- and green-like opsins in the pineal organ and retina of teleosts. *J. Exp. Biol.*, 2001, 204, 2517-2525.
- Forsell J., Holmqvist B., Helvik J. V. & Ekström P., Role of the pineal organ in the photoregulated hatching of the Atlantic halibut. *Int. J. Dev. Biol.*, 1997, 41, 591-595.
- Foster R. G., Hankins M., Lucas R. J., Jenkins A., Munoz M., Thompson S., Appleford J. M. & Bellingham J., Non-rod, non-cone photoreception in rodents and teleost fish. *Novartis Found Symp.*, 2003, 253, 3-23; discussion 23-30, 52-25, 102-109.
- Ganguly S., Coon S. L. & Klein D. C., Control of melatonin synthesis in the mammalian pineal gland: the critical role of serotonin acetylation. *Cell. Tissue Res.*, 2002, 309, 127-137.
- Garcia-Allegue R., Madrid J. A. & Sanchez-Vazquez F. J., Melatonin rhythms in European sea bass plasma and eye: influence of seasonal photoperiod and water temperature. *J. Pineal Res.*, 2001, 31, 68-75.
- Gern W. A. & Greenhouse S. S., Examination of *in vitro* melatonin secretion from superfused trout (*Salmo gairdneri*) pineal organs maintained under diel illumination or continuous darkness. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1988, 71, 163-174.
- Gothilf Y., Coon S. L., Toyama R., Chitnis A., Namboodiri M. A., & Klein D. C., Zebrafish serotonin N-acetyltransferase-2: marker for development of pineal photoreceptors and circadian clock function. *Endocrinology*, 1999, 140, 4895-4903.
- Iigo M., Sato M., Ikeda E., Kawasaki S., Noguchi F. & Nishi G., Effects of photic environment on ocular melatonin contents in a labrid teleost, the wrasse *Halichoeres tenuispinnis*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2003, 133, 252-259.
- Isorna E., Besseau L., Boeuf G., Desdevises Y., Vuilleumier R., Alonso-Gomez A. L., Delgado M. J. & Falcon J., Retinal, pineal and diencephalic expression of frog arylalkylamine N-acetyltransferase-1. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2006, 252, 11-18.
- Kennedy B. N., Vihtelic T. S., Checkley L., Vaughan K. T. & Hyde D. R., Isolation of a zebrafish rod opsin promoter to generate a transgenic zebrafish line expressing enhanced green fluorescent protein in rod photoreceptors. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 14037-14043.
- Klein D. C., Auerbach D. A., Namboodiri M. A. & Wheler G. H. T., Indole metabolism in the mammalian pineal gland. In: *The pineal gland*, vol. 1. Reiter R. J. (ed.), pp. 199-227. CRC press, Boca Raton, 1981.
- Klein D. C., Coon S. L., Roseboom P. H., Weller J. L., Bernard M., Gastel J. A., Zatz M., Iuvone P. M., Rodriguez I. R., Bégay V., Falcón J., Cahill G. M., Cassone V. M. & Baler R., The melatonin rhythm-generating enzyme: molecular regulation of serotonin N-acetyltransferase in the pineal gland. *Recent Prog. Horm. Res.*, 1997, 52, 307-357.
- Mizusawa K., Iigo M., Masuda T. & Aida K., Photic regulation of arylalkylamine N-acetyltransferase 1 mRNA in trout retina. *Neuroreport*, 2000, 11, 3473-3477.
- Moore R. Y., Organization of the mammalian circadian system. *Ciba. Found. Symp.*, 1995, 183, 88-99.
- Ostholm T., Brannas E. & van Veen T., The pineal organ is the first differentiated light receptor in the embryonic salmon, *Salmo salar* L. *Cell. Tissue Res.*, 1987, 249, 641-646.
- Ostholm T., Ekstrom P., Bruun A. & van Veen T., Temporal disparity in pineal and retinal ontogeny. *Brain Res.*, 1988, 470, 1-13.
- Sauzet S., Herrera-Perez P., Besseau L., Fuentes M., Peyric E., Boeuf G., Mnoz-Cuieto J. A. & Falcon J., Récepteurs de la mélatonine chez le loup, *Dicentrarchus labrax*. I : Clonage, expression et localisation rétinienne. In: *2nd Mediterranean Conference of Neurosciences*, 2007, pp. 115, Marrakesh.
- Schmitt E. A. & Dowling J. E., Early retinal development in the zebrafish, *Danio rerio*: light and electron microscopic analyses. *J. Comp. Neurol.*, 1999, 404, 515-536.
- Stenkamp D. L., Cunningham L. L., Raymond P. A. & Gonzalez-Fernandez F., (1998). Novel expression pattern of interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) in the adult and developing zebrafish retina and RPE. *Mol. Vis.*, 1998, 4, 26.
- Thibault C., Collin J. P. & Falcón J., Intrapineal circadian oscillator(s), cyclic nucleotides and melatonin production in pike pineal photoreceptor cells. In: *Melatonin and the pineal gland: from basic science to clinical application*. Touitou Y. (ed.), pp. 11-18. Elsevier, Amsterdam, 1993a.
- Thibault C., Falcón J., Greenhouse S. S., Lowery C. A., Gern W. A. & Collin J. P., Regulation of melatonin production by pineal photoreceptor cells: role of cyclic nucleotides in the trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Neurochem.*, 1993b, 61, 332-339.
- Vuilleumier R., Besseau L., Boeuf G., Piparelli A., Gothilf Y., Gehring W. G., Klein D. C. & Falcón J., Starting the zebrafish pineal circadian clock with a single photic transition. *Endocrinology*, 2006, 147, 2273-2279.
- Vuilleumier R., Boeuf G., Fuentes M., Gehring W. J. & Falcon J., Cloning and early expression pattern of two melatonin biosynthesis enzymes in the turbot (*Scophthalmus maximus*). *Eur. J. Neurosci.*, soumis.
- Zachmann A., Falcón J., Knijff S. C., Bolliet V. & Ali M. A., Effects of photoperiod and temperature on rhythmic melatonin secretion from the pineal organ of the white sucker (*Catostomus commersoni*) *in vitro*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1992, 86, 26-33.
- Zilberman-Peled B., Benhar I., Coon S. L., Ron B. & Gothilf Y., Duality of serotonin-N-acetyltransferase in the gilthead seabream (*Sparus aurata*): molecular cloning and characterization of recombinant enzymes. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2004, 138, 139-147.