

EXISTE-T-IL UN PACEMAKER BULBAIRE RESPONSABLE DU RYTHME ULTRADIEN DU SOMMEIL PARADOXAL?

M. JOUVET, C. BUDA ET J. P. SASTRE

Département de Médecine Expérimentale, Université Claude Bernard, 8 Avenue Rockefeller, 69373 Lyon Cedex 08, France

INTRODUCTION

Si les rapports entre "l'horloge circadienne endogène" située au niveau des noyaux suprachiasmatiques et le cycle veille-sommeil sont bien établis, les mécanismes - et surtout les structures nerveuses - responsables du rythme ultradien du sommeil paradoxal sont encore mal connus.

Le but de cette revue est de résumer les arguments indirects qui sont en faveur de l'existence d'un oscillateur ou pacemaker bulbaire responsable du rythme ultradien du sommeil paradoxal (que nous appellerons τ'). Par τ' nous désignons la durée qui sépare le début d'une phase de sommeil paradoxal (SP) du début de la suivante. Si l'on calcule le τ' pendant les phases de sommeil lent, chez le chat, en éliminant les intervalles inférieurs à 3 min et supérieurs à 60 min, la plupart des données de la littérature sont similaires (42). Ainsi, chez le chat normal, on admet que le τ' est de 24 min.

Nous appellerons rapport cyclique (RC) le rapport entre le τ' et la durée moyenne du SP (qui est de 6 min chez le chat). Ainsi le RC du chat est de $24/6 = 4$. Celui de l'homme est de $90/20 = 4.5$ (chez la plupart des mammifères, le RC est compris entre 3.5 et 4.5 (31).

Chez l'animal normal, le τ' reste stable, et le seul Zeitgeber connu est l'alternance lumière-obscurité chez le rat (8). Dans les conditions de régulations "homéostasiques" (rebond de SP consécutif à sa privation), le τ' varie peu alors que le RC peut diminuer à 1.5 (ce qui représente un pourcentage de SP de 60% de la durée totale du sommeil).

L'existence de régulations facilitatrices et inhibitrices supra-pontiques du SP et du sommeil lent est bien établie (voir revue in 23). La régulation homéostasique du SP dépend également de structures suprapontiques puisque la privation instrumentale de SP chez l'animal pontique n'est pas suivie de rebond compensateur (22).

L'existence de ces régulations complexes rend plus difficile l'étude des mécanismes du τ' . Pour cette raison, nous nous limiterons à l'étude du τ' (et du RC) chez le chat pontique chronique.

I. *Le τ' du Sommeil Paradoxal chez le chat pontique.*

Chez une préparation pontique chronique, après ligature des deux carotides

primitives au niveau du cou, le tronc cérébral est sectionné en avant du pont (plan A2) et toutes les structures cérébrales situées en avant sont enlevées rapidement, y compris l'hypothalamus et l'hypophyse. Il ne reste en avant que les bulbes olfactifs isolés dont l'activité électrique permet de repérer facilement la respiration (voir détails in 24).

Ces préparations, ectothermes, sont placées dans des incubateurs et leur température centrale peut être contrôlée par un thermostat entre des limites fixées à l'avance (soit selon un plateau fixe, soit selon une périodicité ultradienne). Sans aucune thérapeutique substitutive (hormones hypophysaires) une préparation pontique peut survivre environ 100 h.

Cette préparation apparaît encore actuellement celle qui est la plus "simple" pour étudier le τ' du SP, car elle est dépourvue de tout système régulateur thermique ou hypothalamo-hypophysaire. Depuis Bard (4) (qui n'avait jamais pu garder en vie une telle préparation plus de quelques heures), nous ne connaissons aucun autre groupe qui ait publié des résultats obtenus sur cette préparation dans des conditions chroniques.

1. *Les rapports du τ' avec la température.* - Sur plus de 20 préparations pontiques observées dans les mêmes conditions (voir 24), les lois générales suivantes peuvent être établies:

i) *Le Zeitgeber thermique:* le seuil limite supérieur de la température centrale (T_c) au delà duquel le SP ne peut apparaître est de 36°C.

Si la T_c est maintenue entre 34.5°C et 35.5°C par le thermostat, les phénomènes suivants sont observés:

- dans des conditions de stabilité parfaite de la T_c à 35°C, réalisées en maintenant l'animal à une température ambiante (T_a) voisine de la neutralité thermique, soit 27°C, le SP apparaît avec un τ' circoral (60 \pm 5 min). La durée moyenne du SP est alors de 4.2 min (RC = 12)

- si le système de régulation thermique est oscillant (T_a variant de 23°C à 33°C), la T_c va osciller entre 34.5°C et 35.5°C. Dans de telles conditions, le τ' du SP est asservi par le Zeitgeber thermique (90% des épisodes de SP surviennent lorsque la T_c est la plus basse, ce qui correspond, vu l'hystérésis entre la T_a et la T_c à une T_a de 27°C). Ainsi il est possible de faire varier le τ' entre 50 et 80 min selon le τ' du système de régulation thermique (voir détail in 24).

ii) *Le τ' du Sommeil Paradoxal est indépendant de la température centrale en hypothermie entre 35°C et 25°C (Fig. 1).*

Si la température ambiante de l'incubateur est abaissée de 27°C à 23°C, la durée des phases de SP augmente progressivement (de 4.2 \pm 0.16 min à 35°C jusqu'à 43.3 \pm 3.4 min à 25°C), alors que le τ' reste dans des limites circorales (49 \pm 12.6 min à 35°C, 60 \pm 9.8 min à 30°C, 66 \pm 5 min à 25°C soit un Q10 = 0.74, voir définition du Q10 ci-dessous). Chaque épisode de SP s'accompagne d'une vasodilatation intense des échangeurs thermiques (oreilles, coussins plantaires, muqueuse nasale) si bien que la T_c décroît plus vite pendant le SP. Il existe ainsi une rétroaction positive qui peut s'exprimer ainsi: SP \rightarrow diminution tonus sympathique \rightarrow augmentation du

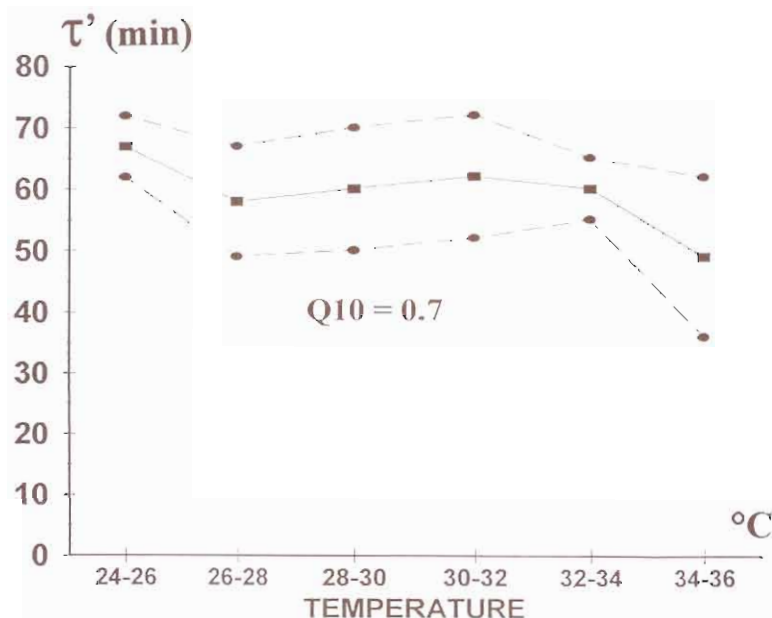


Fig. 1. - Evolution of the τ' during progressive hypothermia.

Progressive hypothermia during the third day after decerebration does not significantly alter the duration of τ' which corresponds to about 60 min (circhoral, $Q_{10} = 0.7$). Ordinate: duration of τ' in minutes; abscissa: temperature in °C. Mean \pm SD.

tonus parasympathique crânien \rightarrow vasodilatation \rightarrow perte de chaleur \rightarrow hypothermie \rightarrow SP.

iii) Le Q_{10} de la quantité de SP (ou du rapport cyclique) est voisin de 0.1 (Fig. 2).

Le Q_{10} (van't Hoff et Arrhenius) (voir 12) est exprimé par la formule suivante: $Q_{10} = (V_1/V_2)10/t_1-t_2$. En règle générale, la vitesse de toutes les réactions enzymatiques et les constantes biologiques diminuent de moitié quand la température s'abaisse de 10°C, c'est-à-dire que le Q_{10} est égal à 2. Dans le cas de la préparation pontique, le Q_{10} du rythme cardiaque (150 à 33°C, 75 à 25°C) est de 2, celui du rythme respiratoire (18 à 35°C, 9 à 25°C) est aussi égal à 2. Par contre le Q_{10} du RC (12 à 35°C, 1.2 à 25°C) est de 10 soit de 0.1 pour la quantité de SP.

II. *L'oscillateur ultradien: ses rapports avec le modèle de l'interaction réciproque, sa régulation thermique ou métabolique.*

Dans son livre "The wisdom of the body", Cannon (9) a introduit le concept "d'homéostasie" qui prolonge le concept bernardien de "fixité du milieu intérieur". On peut se demander alors quel est le "wisdom of the brainstem" déconnecté des régulations hypothalamiques, sinon d'évoluer vers un niveau de dépenses énergé-

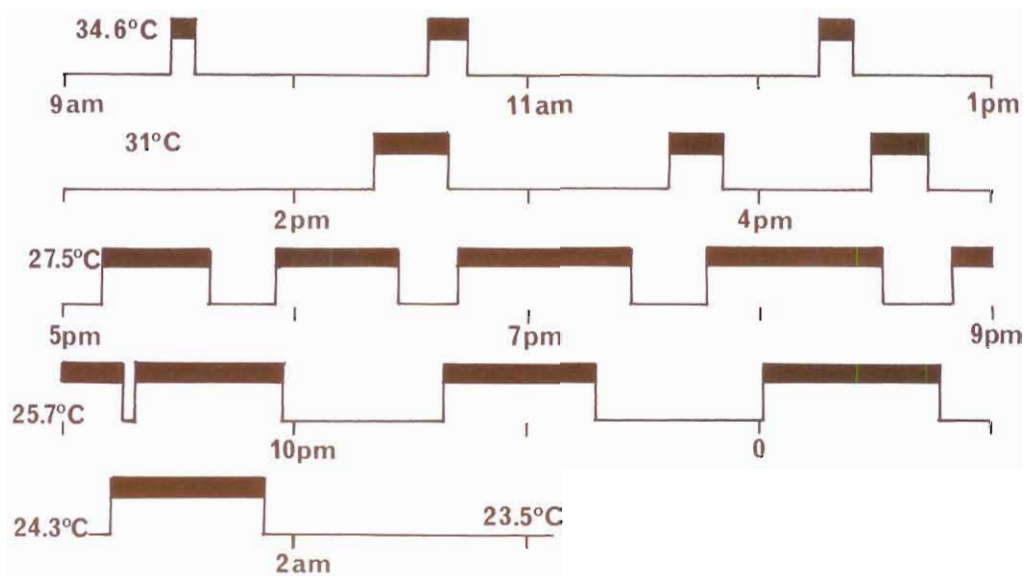


Fig. 2. - Hypnogram of PS in a pontine cat during progressive hypothermia.

Ambient temperature is lowered at 9 am from 27°C to 23°C. Central temperature is indicated on the hypnogram. Each black rectangle represents a PS episode. Note that the lower the body temperature is, the longer PS episodes are without altering the τ .

tiques minimum qui serait analogue à l'hibernation? Il est évident cependant que les deux phénomènes sont totalement différents. D'une part, chez l'hibernant soumis à l'hypothermie, l'entrée en hibernation se fait au dépend de l'augmentation du sommeil lent et d'une diminution parallèle du SP (5, 6, 17) (l'organisme de l'hibernant pouvant encore fonctionner à 1°C). D'autre part, l'augmentation du SP en hypothermie chez la préparation pontique chronique tend à refroidir plus rapidement l'organisme et donc à le conduire plus vite à la température létale de 18°C (où survient la fibrillation ventriculaire).

Il apparaît ainsi que les phénomènes insolites qui sont observés en hypothermie ne semblent pas traduire une régulation homéostatique (dans le sens téléologique du terme), mais qu'ils expriment certaines caractéristiques du "générateur" du τ dans des conditions particulières.

Selon certaines hypothèses, la périodicité du SP peut s'expliquer par le modèle d'interaction réciproque entre les systèmes dits permissifs ou inhibiteurs (ou "PS off", dont l'activité unitaire est augmentée pendant l'éveil et le sommeil lent et cesse pendant le SP) et les systèmes dits exécutifs (ou "SP on", dont l'activité unitaire augmente sélectivement pendant le SP). Il est également admis que les systèmes inhibiteurs sont monoaminergiques, alors que certains systèmes exécutifs sont cholinergiques (voir revue in 21, 34). Ainsi, la périodicité ultradienne du SP s'expliquerait soit par l'interaction inhibitrice entre les deux systèmes, selon une dynamique du type Lotka-Volterra (18) ou selon celle du cycle limite (voir 29).

Etant donné que les systèmes permissifs et exécutifs sont présents dans la préparation pontique, est-il possible d'expliquer les lois de la relation entre τ' et température selon l'hypothèse d'interaction réciproque?

1. *Hypothèse de la thermosensibilité différentielle.* - L'absence de SP au dessus de 36°C et son augmentation en hypothermie pourrait théoriquement rentrer dans le cadre de l'interaction réciproque, si, et seulement si, il pouvait être prouvé que les systèmes inhibiteurs sont excités par la chaleur, et que les systèmes exécutifs sont sensibles au froid (Fig. 3). Il a en effet été prouvé, par réchauffement ou refroidissement local, qu'il existait des neurones dont l'activité unitaire augmentait soit avec la chaleur soit avec le froid. Ces neurones ont été découverts dans le raphé in vitro (27) et dans le tronc cérébral (2), sans que leur nature histochimique ait été identifiée.

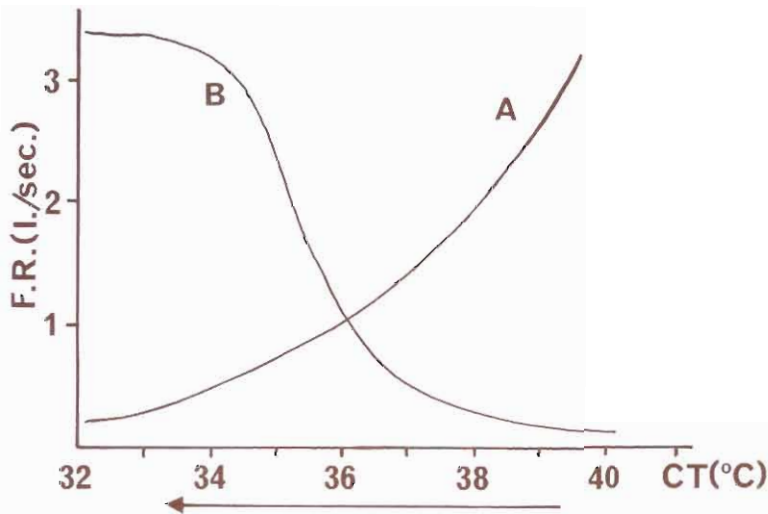


Fig. 3. - Schematic diagram illustrating a warm-sensitive neuron (A) and a cold-sensitive one (B) recorded in the brainstem.

Abscissa: temperature of the brainstem. Ordinate: firing rate (in arbitrary unit). The arrow signals an artificial hypothermia during which (A) permissive systems (warm-sensitive) would decrease their activity, whereas (B) executive systems (cold-sensitive) would increase their activity. This hypothesis might explain the increase in PS in hypothermia but it is not able to explain the fixity of τ' without the need of a temperature-compensated "pacemaker" or "clock". Adapted from Refs. 2 and 27.

Les données concernant la thermosensibilité des neurones aminergiques sont contradictoires. Le 5 HIAA cortical mesuré par la méthode polarographique augmente avec la température centrale (14), mais l'activité unitaire du raphé semble être insensible à l'augmentation de la Tc in vivo (10). Il n'existe pas non plus d'enregistrement unitaire démontrant que les neurones noradrénergiques sont excités par la chaleur et inhibés par le froid au niveau central.

Les rares enregistrements des neurones "SP on", exécutifs, et présumés ou prouvés cholinergiques au niveau du tegmentum pontique, ne permettent pas non plus de conclure que ces neurones sont inhibés par la chaleur et excités par le froid. Ainsi, bien que non totalement infirmée, l'hypothèse d'une thermosensitivité différentielle est peu plausible.

En supposant même que cette hypothèse puisse expliquer que le Q10 de la quantité de SP soit voisin de 0.1, cette hypothèse ne permet en aucun cas d'expliquer que le Q10 du τ' soit égal à 1, c'est-à-dire indépendant de la température centrale (Fig. 4).

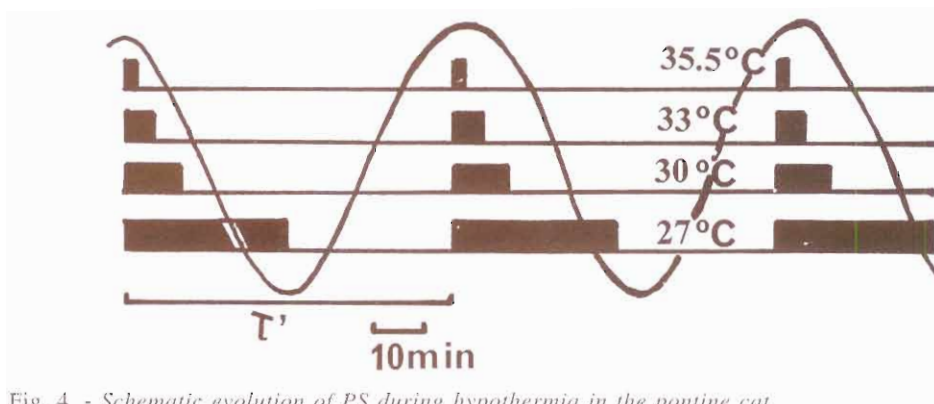


Fig. 4. - Schematic evolution of PS during hypothermia in the pontine cat.

Although a reciprocal interaction between gating and executive systems of PS might explain its increase during hypothermia either by a differential thermosensibility or a differential dependence to oxidative phosphorylation, only the presence of a temperature-compensated pacemaker (sinusoidal line) can explain the striking fixity of τ' at different temperatures.

On est donc conduit à introduire le concept d'un "oscillateur" ou "pace maker" qui soit différent des structures exécutives et permissives. Les corrélations étroites entre le τ' et le métabolisme chez les différentes espèces de mammifères (15, 47) nous conduisent à étudier une autre hypothèse que nous appellerons l'hypothèse métabolique.

2. *Hypothèse métabolique.* i) *Effet de l'oxygène.* - Chez l'animal intact, le SP est sélectivement diminué ou supprimé au cours de l'hyperthermie (26) et surtout au cours de l'hypoxie (3, 20). Il apparaît donc possible que la dépendance du SP par rapport à la température centrale puisse impliquer certains mécanismes oxydatifs chez le chat pontique. Il est en effet admis que l'hypothermie, qui provoque une diminution du métabolisme cérébral, protège également le cerveau contre l'anoxie selon des mécanismes complexes (voir revue in 39). Or, le tronc cérébral d'une préparation pontique n'est vascularisé que par l'intermédiaire du tronc basilaire puisque la ligature des carotides primitives et de l'hexagone de Willis supprime

tout apport artériel rétrograde venu du système carotidien. Ainsi, un certain niveau limité d'hypoxie ischémique, sans retentissement respiratoire ou cardiaque, pourrait s'installer malgré la conservation d'une pression artérielle élevée (due à la ligature des carotides primitives) et d'une PAO_2 normale. Afin de vérifier que la correction de cette relative hypoxie puisse agir sur le SP, nous avons soumis périodiquement des préparations pontiques, *maintenues à la même Tc*, à une oxygénation. Les résultats que nous résumons ci-dessous démontrent que dans ces conditions, un apport accru d'oxygène augmente significativement le SP en diminuant sa périodicité ultradienne.

Ces expériences ont été réalisées chez 8 préparations pontiques identiques à celles qui ont servi pour les expériences en hypothermie (25). La ligature des carotides primitives en amont des chemorécepteurs carotidiens avait l'avantage dans ce type d'expérience de supprimer les régulations complexes en rapport avec la PAO_2 . Un cathéter, placé dans l'artère fémorale, permettait de retirer du sang pour l'analyse des gaz du sang.

Le premier jour post-opératoire permet d'obtenir les quantités de SP de contrôle. Les 2èmes et 3èmes jours, les animaux furent soumis à une oxygénation par l'intermédiaire d'un entonnoir fixé autour de la tête (débit de 1.5 l-2 l/min - concentration de O_2 inhalée de 60%). Les périodes d'oxygénation duraient 4 h ou 12 h et étaient séparées par des intervalles sans oxygène de 4 à 12 h.

Au cours du premier jour, les paramètres suivants furent obtenus: $Tc = 34 \pm 0.4^\circ C$ fréquence respiratoire $20 \pm 0.5/min$ - fréquence cardiaque: $150 \pm 2.5/min$ - quantité de SP/24h = $6 \pm 2\%$ - durée moyenne des épisodes = 4.2 ± 0.16 min périodicité ultradienne 60 ± 12.6 min. Ces paramètres sont similaires à ceux qui ont été obtenus chez la série de 20 préparations pontiques étudiées dans le chapitre précédent.

Pendant les deux jours suivants, les périodes d'oxygénation ont entraîné d'une part une augmentation immédiate de la PO_2 artérielle de 18% à 40% kPa. D'autre part, l'oxygénation s'est accompagnée d'une augmentation moyenne de la quantité de SP de 70%. Cette augmentation est due à une diminution du rythme ultradien de 60 min à 30 min alors que la durée moyenne des épisodes de SP est diminuée discrètement de 5.4 min à 4.7 min. (Fig. 5 et Fig. 6). A la fin de la période d'oxygénation, la PAO_2 revient immédiatement aux conditions de contrôle. Cependant, l'augmentation du SP peut persister pendant 4 à 6 heures après arrêt de l'oxygénation.

Nos résultats démontrent *qu'à la même Tc et dans des conditions d'environnement thermique identiques*, l'élévation de la PAO_2 peut augmenter de 70% la quantité de SP (en diminuant le rythme ultradien du SP de 50%). Ce résultat ne permet donc pas de retenir l'hypothèse de la mise en jeu exclusive de thermodétecteurs centraux sensibles au froid dans l'augmentation du sommeil paradoxal en hypothermie. Ils nous conduisent donc à discuter l'intervention du métabolisme cérébral de l' O_2 .

Il existe des données concordantes en faveur de l'existence de mécanismes cholinergiques responsables des mécanismes exécutifs ponto-bulbaires du SP (voir revue in 21, 34). Or, la synthèse de l'acétylcholine (ACH) dépend de la voie

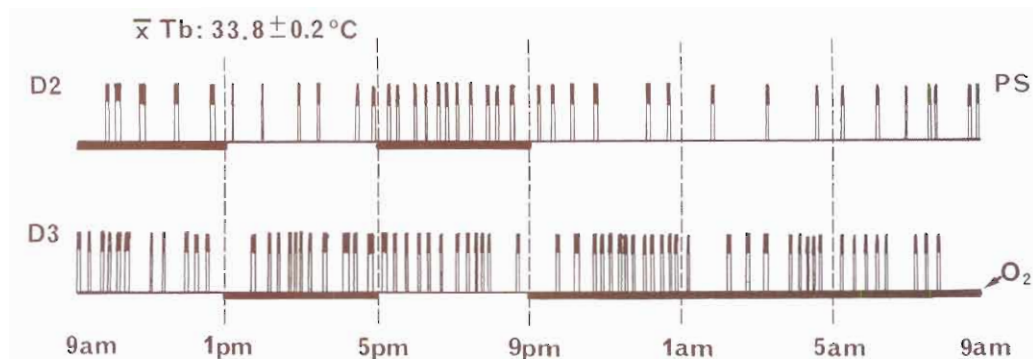


Fig. 5. - Hypnogram of a pontine cat during the second and the third days after decerebration.

Black rectangles represent PS episodes. The thick black horizontal line indicates the period when O_2 is delivered (see text for details). Note an acceleration of the τ' during this period. From Ref. 31.

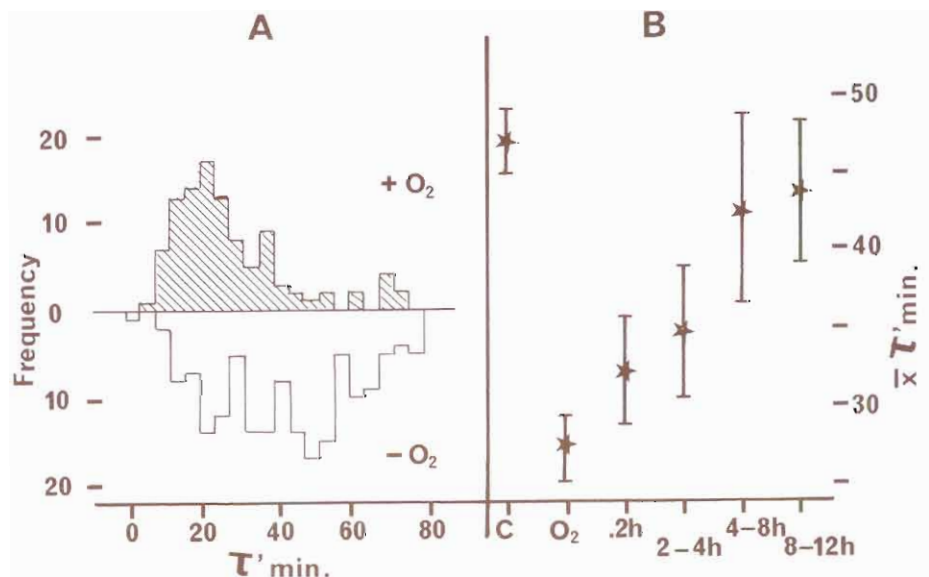


Fig. 6. - PS τ' with and without O_2 .

Top left: relative frequency histogram of τ' with O_2 . Bottom left: relative frequency histogram without O_2 . Right: evolution of PS τ' after a 4 hour oxygenation period. The τ' returns progressively to a circadian rhythm 4-8 h after the end of the oxygenation period. C: control without O_2 .

oxydative (cycle de Krebs) par l'intermédiaire de la pyruvate deshydrogénase (PDH), une enzyme dont l'activation dépend d'une phosphatase et l'inactivation d'une kinasé (46). Cette enzyme est responsable de la synthèse de l'acétyl CoA qui intervient dans la synthèse de l'ACH (41). De récentes données immuno-histochimiques

ont révélé que la PDH était présente au niveau de certains systèmes cholinergiques ponto-bulbaires (30).

Il a été démontré, d'une part, dans des expériences *in vitro* (28) et *in vivo* (7) que la synthèse d'ACH dépendait du potentiel redox soit mitochondrial, soit cytoplasmique. Il est très probable également que l'effet inhibiteur du chloramphénicol sur le SP (33) soit dû à l'inhibition du potentiel redox mitochondrial comme le démontrent certains résultats récents (1) et l'on peut supposer que *l'oscillateur ultradien du SP soit particulièrement sensible à l'inhibition du cycle de Krebs*. D'autre part, l'hypoxie peut entraîner une diminution de la synthèse du "compartiment fonctionnel" de l'ACH (13). Ainsi, les mécanismes cholinergiques du SP sont étroitement liés au métabolisme oxydatif du pyruvate. Cette dépendance pourrait expliquer pourquoi le SP diminue ou disparaît chez l'animal intact dans des conditions d'hypoxie (20, 3). Ce phénomène est d'autant plus remarquable que dans ces conditions le sommeil lent n'est pas altéré ou même augmenté.

Inversement, l'éveil "actif" peut s'accompagner d'un découplage entre l'augmentation de la consommation cérébrale de glucose et celle de l'oxygène (11). Dans ces conditions, le pyruvate est alors métabolisé en lactate par la lactate deshydrogénase (LDH). Il faut noter que le système catécholaminergique du locus coeruleus (l'un des systèmes inhibiteurs du SP) est riche en LDH.

Ces données nous conduisent à émettre l'hypothèse suivante pour expliquer les relations étroites entre le SP et la Tc chez la préparation pontique dont la vascularisation du tronc cérébral ne dépend que du tronc basilaire: au-dessus d'une Tc seuil de 36°C, il y aurait un découplage entre la consommation cérébrale de glucose accrue (effet Q10) et celle d'oxygène du fait de la relative hypoxie ischémique. Dans ces conditions, l'utilisation de pyruvate se ferait par la voie des lactates au niveau des systèmes disposant de la lactate deshydrogénase. Il en résulterait alors un "éveil" continu.

La diminution périodique de 1°C de la Tc au-dessous de 36°C entraîne une diminution d'environ 5% du métabolisme cérébral (39). A cette température, le niveau d'oxygénation serait alors suffisant pour permettre transitoirement l'activation de la PDH et l'utilisation du pyruvate vers la voie oxydative et donc la synthèse d'un compartiment fonctionnel d'ACH, ce qui permettrait au générateur ultradien d'entrer en jeu. L'administration d'oxygène, en augmentant la PAO₂ cérébrale, permettrait alors de faciliter la synthèse de ce compartiment et donc de diminuer la période du SP. Enfin, au fur et à mesure que l'hypothermie s'installe (au-dessous de 34°C), il est possible qu'un ensemble de phénomènes coopèrent pour orienter le pyruvate vers la voie oxydative en activant la PDH.

ii) Effet de la prolactine. Comme cela est souvent le cas en physiologie, c'est le hasard qui nous a conduit à découvrir le rôle de la prolactine sur le τ' du générateur ultradien. En effet, chez une préparation pontique chez qui nous pensions avoir enlevé totalement l'hypothalamo-hypophyse (Fig. 7), l'allure du τ' (de l'ordre de 20 min) et la quantité considérable de SP (plus de 1330 min à une température moyenne de 35°C au lieu de 300 min au cours des 80 heures de survie chez une préparation pontique vraie) devait attirer notre attention. D'une part, il

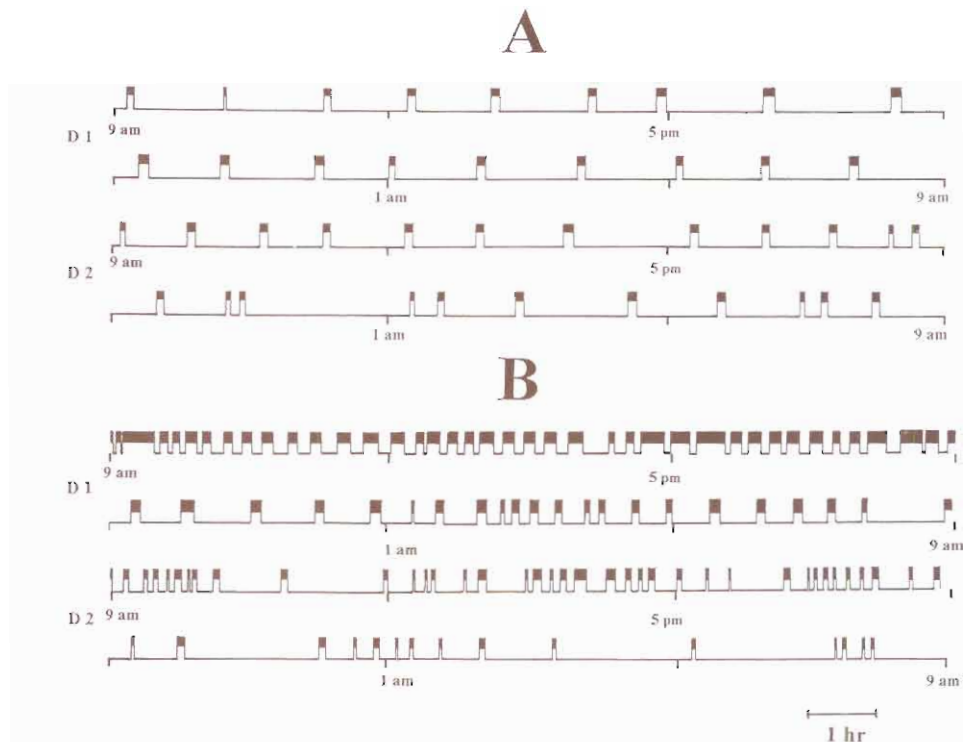


Fig. 7. - Hypnogram during the first two post-operative days (D1-D2).

A: in a pontine cat without an hypothalamo-hypophysis (note the circorhythmic τ').
 B: in a pontine cat with an isolated hypophysis (note the striking decrease in τ').
 Black rectangles represent paradoxical sleep.

fut établi que cette chatte avait accouché récemment et qu'elle allaitait des chatons avant son entrée au laboratoire (comme le démontrait l'état de ses mamelles). D'autre part, une vérification post-mortem permit de retrouver l'hypophyse intacte dans la selle, alors qu'il ne persistait aucune structure hypothalamique.

Ces constatations devaient nous conduire à étudier le rôle de la prolactine, car il est bien connu que "l'hypophyse isolée" (sans contrôle du système dopaminergique tubero-infundibulaire peut libérer des quantités importantes de prolactine dans le sang (hyperprolactinémie).

Deux séries d'expériences furent alors entreprises: d'une part, une série de préparations pontiques ($n = 11$) chez qui nous avons conservé l'hypophyse intacte en veillant à enlever sous microscope binoculaire tout tissu hypothalamique. A cette époque (1985-1987), il était encore impossible de mesurer par dosage radioimmunologique la prolactine du chat.

Pour cette raison, une deuxième série de préparations pontiques (sans hypophyse) reçut des injections bi-quotidiennes (à 9h et à 17h) de 150 unités internationales de prolactine ovine. Les résultats (non publiés) peuvent être résumés de la façon suivante:

a) L'hyperprolactinémie de la préparation pontique avec hypophyse isolée entraîne une accélération (diminution) du τ' de l'ordre de 50%, c'est-à-dire que le τ' peut être similaire à celui du chat normal (24 min) ou bien à son harmonique inférieure (12 min) (Fig. 7).

Par contre, la durée moyenne du SP n'est pas augmentée. Dans ce cas, contrairement à ce que l'on observe chez le chat pontique en hypothermie, l'augmentation du SP est due à l'accélération du générateur du SP.

b) L'injection de prolactine ovine chez des préparations pontiques sans hypophyse entraîne des résultats intermédiaires à ceux qui sont recueillis chez la préparation hypophyse isolée (Fig. 8). C'est-à-dire qu'il persiste à la fois le τ' de 60 min traduisant l'action du générateur ultradien, et un τ' à 24-12 min dont la proportion augmente progressivement sous l'action de la prolactine. Il est certain que l'injection de prolactine féline aurait sans doute été suivie d'effets plus nets. Il faut regretter que le chat, qui fut l'animal de base de l'électrophysiologie, n'ait fait l'objet que de très peu d'études au niveau de la neuroendocrinologie et que la prolactine féline ne soit pas disponible.

Ces résultats démontrent que l'hypothèse métabolique est beaucoup plus plausible que l'hypothèse de thermosensibilité différentielle. En effet, l'hyperoxie ou l'injection de prolactine sont capables de modifier considérablement le τ' du générateur (de 60 min à 30, 24 ou 12 min). Il est évident que la prolactine doit

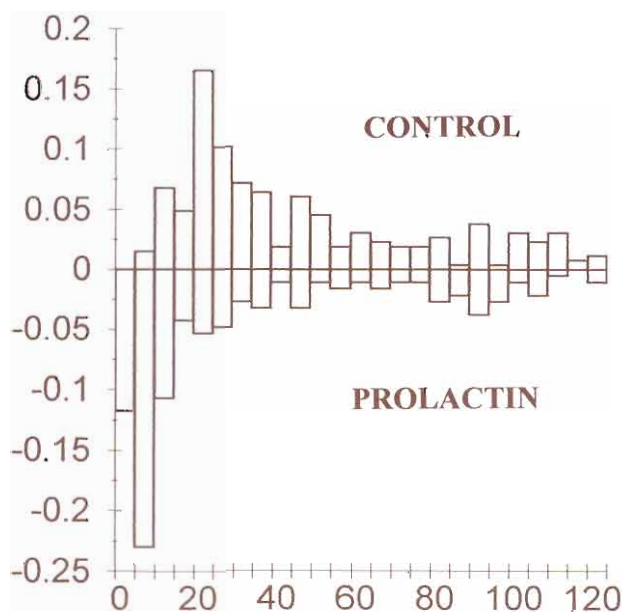


Fig. 8. - Comparison of the relative frequency histogram of the τ' of PS between a control pontine cat and a pontine cat treated with subcutaneous injections of prolactine.

Abscissa: 5 min/bins.

traverser la barrière hémato-encéphalique pour agir sur le pacemaker ultradien. Cette éventualité est très possible puisque l'on admet que 10 à 20% de la prolactine injectée dans la circulation sanguine est capable d'être retrouvée dans le LCR (40). Le modèle du chat pontique chronique ne permet pas de deviner les effets physiologiques de la prolactine chez l'animal intact. Il suffit de rappeler qu'un hypothétique générateur ultradien peut être à la fois soumis à l'effet de la prolactine circulante (après son passage à travers la barrière hémato-encéphalique) *et* à l'action du système neuronal à prolactine issu des perikaryas de l'hypothalamus latéral (32) dont les projections ascendantes et descendantes ont été récemment décrites. Le pacemaker ultradien du SP est ainsi une cible possible de la prolactine, une hormone aux multiples fonctions qui est mise en jeu au cours du stress.

La prolactine est également capable (comme l'hyperoxie) d'activer la pyruvate deshydrogénase (46). Il est évident que des recherches complémentaires sont nécessaires afin de comprendre les mécanismes de l'accélération du τ' par l'hyperoxie et la prolactine chez la préparation pontique.

Il convient enfin de signaler que l'effet de la prolactine ne se limite pas à l'accélération du τ' (et l'augmentation du SP). L'injection de prolactine ovine est en effet capable de prolonger de façon significative (+100%), la survie des préparations pontiques (alors que l'injection d'ACTH, de cortisol ne modifie ni le τ' , ni la durée de survie).

III. *Quelle est la localisation du pacemaker ultradien?*

Nous avons revu brièvement les éléments qui permettent de penser que le modèle d'interaction réciproque monoamine-acétylcholine ne pouvait expliquer les résultats de l'hypothermie (Q_{10} du $\tau' = 1 - Q_{10}$ du RC = 10). Il faut donc supposer qu'il existe dans le tronc cérébral inférieur un ou des systèmes capables d'imposer leur rythme (pacemaker) aux systèmes exécutifs du SP (et peut-être en même temps inhiber les systèmes permissifs).

Les arguments indirects suivants sont en faveur de la localisation du générateur ultradien du SP au niveau de la région ventro-latérale du bulbe.

a) Il est bien connu que la transection en arrière du pont supprime le SP (37, 44). De plus dans ces mêmes conditions l'injection locale de carbachol au niveau des structures exécutives du SP n'induit pas le SP (43). Il semble donc évident qu'un système majeur soit localisé au niveau du bulbe. Ce système pourrait être le générateur ultradien.

b) Des lésions médianes de la formation réticulée bulbaire intéressant le noyau magno-cellulaire ne supprime pas le SP (35, 45). Il est donc exclu que le pacemaker soit situé dans les régions médianes du bulbe.

c) Par contre, des lésions par coagulation intéressant la partie ventrolatérale des noyaux pontis oralis et caudalis suppriment complètement le SP pendant plus de 5 semaines, alors que les structures exécutives de la partie dorsolatérale du tegmentum pontique sont intactes (voir Fig. 2 in 35). On peut donc supposer que ces lésions

ont interrompu les voies ascendantes unissant le pacemaker bulbaire aux structures exécutives pontiques.

d) Chez l'animal pontique en hypothermie profonde (entre 25°C et 23°C), le dernier témoin ultradien circhoral du générateur est l'augmentation de la température de la muqueuse nasale (19). Cet indice, (l'aiguille de l'horloge ultradienne), dépend du parasympathique crânien localisé dans la région du noyau lacrymo-nasal (16).

e) Chez l'animal rendu complètement insomniaque par la P-chlorophénylalanine, l'injection in situ d'extrait hypophysaire (qui contient de la prolactine) au niveau de la région ventro-latérale du bulbe, est capable de faire "repartir" l'horloge ultradienne pendant 2 ou 3 heures (36) (voir Fig. 9).

f) Enfin, les travaux de Siegel *et al.* (38) ont montré que l'on pouvait enregistrer, après section rétropontique, des cellules nerveuses situées au niveau du bulbe dont

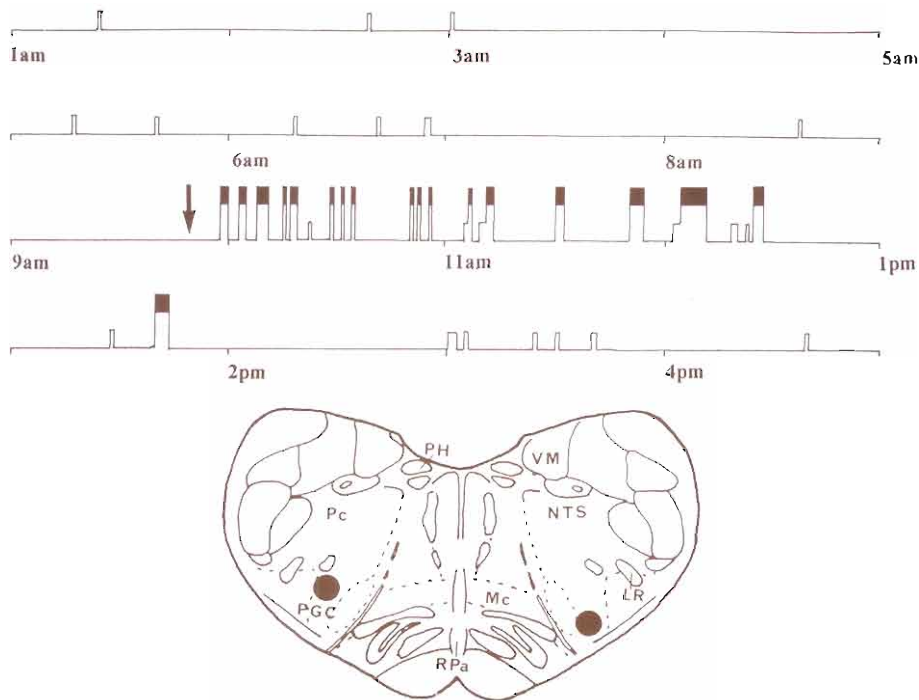


Fig. 9. - Restoration of paradoxical sleep by bilateral injections of 1.3 mU of bovine pituitary extract (Choay) in the nucleus paragigantocellularis (arrow) in a PCPA pretreated insomniac cat.

Abscissa: time in hours. Ordinate: horizontal line: waking; white rectangles: stage I sleep; black rectangles: paradoxical sleep. Bottom: schematic drawing of a coronal section of the medulla (at the P11 level) showing the injection site of the extract in the nucleus paragigantocellularis. In this case, the injection was followed by PS after a 21 min latency. Adapted from Ref. 36.

LR: lateral reticular nucleus; Mc: nucleus reticularis magnocellularis; NTS: nucleus of the solitary tract; Pc: nucleus reticularis parvocellularis; PGC: nucleus paragigantocellularis lateralis; PH: nucleus praepositus hypoglossi; RPa: nucleus raphe pallidus; VM: medial vestibular nucleus.

l'augmentation d'activité périodique (entre 30-60 min) pourrait représenter le reflet direct ou indirect de la mise en jeu d'un "pacemaker".

Pour toutes ces raisons, nous concluons cette revue en proposant l'hypothèse suivante:

Le rythme ultradien du SP ne peut pas être expliqué seulement par l'interaction réciproque entre systèmes monoaminergiques permissifs (ou inhibiteurs) et systèmes cholinergiques (exécutifs) au niveau du tegmentum pontique.

Le concept d'un système (pacemaker - oscillateur - horloge) ultradien situé au niveau du bulbe et commandant à la fois les réseaux exécutifs et inhibiteurs pontiques permet de mieux expliquer les résultats obtenus chez l'animal pontique chronique.

L'oscillateur bulbaire ultradien semble réglé avant tout par des processus énergétiques. Il est particulièrement sensible à l'inhibition de la voie oxydative mitochondriale et peut être accéléré par la prolactine. Il pourrait être cholinergique.

SUMMARY

Since there are complex regulations of paradoxical sleep at the supra-pontine level, the chronic pontine preparation appears to be the best model for studying the mechanisms of the ultradian rhythm of PS (τ').

In these preparations, which are ectothermic, τ' is considerably dependent upon temperature conditions.

a) PS never occurs above a central temperature (T_c) of 36°C which constitutes the absolute threshold for PS.

b) If T_c is regulated at a plateau between 34.5°C and 35.5°C, the duration of τ' corresponds to about 60 min (circchoral) whereas the duration of PS is 5 min, thus the cyclic ratio: τ' /duration of PS is 12. During deep hypothermia (from 35°C to 25°C), τ' of PS is temperature-compensated. It remains close to 60 min, so that its Q10 is about 1.

c) However, in the same conditions, the duration of PS episodes increases from 5 min to 55 min, so that the Q10 of PS is 0.1 (8% at 35°C - 80% at 25°C).

These data are discussed in the light of the present theories explaining τ' (i.e., the reciprocal inhibition between monoaminergic permissive systems and cholinergic executive systems).

An increase in PS during hypothermia might be possible provided that it should be proved that permissive mechanisms are excited by heat while executive mechanisms would be cold-sensitive. But there are no data on this point. However, even this "differential thermosensitivity hypothesis" would not explain the striking fixity of τ' between 35°C and 25°C.

For this reason, one should hypothesize that there is a temperature-compensated oscillator or pacemaker which would act upon both executive and permissive mechanisms. This oscillator would also be controlled by metabolic factors as shown by the effect of O_2 and prolactin.

1. Increase in O_2 availability.

In normal animals, PS is selectively suppressed both by hyperthermia and hypoxia. In pontine cats, at 36°C, it is likely that the utilization of glucose is oriented toward the lactate pathway, due to the poor vascularisation of the brain. On the other hand, hypothermia, which decreases cerebral metabolic rate and protects the brain against hypoxic alteration, might facilitate the aerobic glycolysis: this leads to the synthesis of Acetyl CoA, which is the precursor moiety of acetylcholine, one of the main transmitters involved in PS executive mechanisms.

In order to test this last hypothesis, eight pontine cats were kept at the same central temperature, for 72 hours. Afterwards, they were submitted alternatively to four-hour periods of room air (control blood gases: $PaO_2 = 17.2 \text{ KPa} \pm 2$, $SaO_2 = 98.1\%$) or hyperoxygenation with 60% O_2 ($PaO_2 = 51.8 \text{ KPa} \pm 9.6$, $SaO_2 = 99.7\%$).

This arterial hyperoxia enhanced PS quantity by 170%. This increase was due to a decrease in PS ultradian period from 60 min with air down to 34 min under hyperoxia. After hyperoxia, PS periods increased gradually in the following 4 to 8 hours and returned to control values.

These findings suggest that the genesis of PS involves oxidative glycolysis, whereas "waking" may occur during anaerobic glycolysis.

2. Effect of Prolactin.

In pontine cats in which an isolated hypophysis was left in the sella, there was a very significant increase in PS (up to 400%) with a decrease in τ' to 24-12 min.

Since the isolated hypophysis is known to release prolactin (PRL), this effect could have been obtained through hyperprolactinemia. However, there is no radioimmunoassay to measure PRL in the cat.

In order to test this hypothesis, ovine PRL (150 UI) was injected twice a day to pontine cats. This led also to the same decrease in τ' (from 60 min down to 24-12 min).

The following indirect evidence leads to the hypothesis that there might be an oscillator responsible for the ultradian rhythm located in the ventrolateral medulla which would control the executive mechanisms of PS located in the pons.

a) Transection of the brainstem at the junction of the medulla suppresses PS, which indicates that some bulbar structures may be very important.

b) Lesion of the medial bulbar reticular formation does not suppress PS, while lesion destroying the ventrolateral bulbar reticular formation may suppress PS for 5 weeks, even if the dorsolateral tegmentum where are located executive PS structures is intact.

c) In a PCPA insomniac cat, the injection of pituitary extract (containing PRL) in the ventrolateral medulla, is able to restore the ultradian clock for some hours.

d) Finally, after a total pontobulbar transection, there are electrophysiological evidence for the persistence of an ultradian rhythm of unitary activity in the medulla with a τ' between 30-60 min.

Acknowledgement. - This study was supported by CNRS (URA 1195) and INSERM (U52).

BIBLIOGRAPHIE

1. ABOU-KHALIL, S., ABOU-KHALIL, W. H. and YUNIS, A. A. Differential effects of chloramphenicol and its nitrosoanalogue on protein synthesis and oxidative phosphorylation in rat liver mitochondria. *Biochem. Pharmacol.*, **29**: 2605-2609, 1980.
2. ASAMI, T., HORI, T., KIYOHARA, T. and NAKASHIMA, T. Convergence of thermal signals on the reticulospinal neurons in the midbrain, pons and medulla oblongata. *Brain Res. Bull.*, **20**: 581-596, 1988.
3. BAKER, T. L., MCGINTY, D. J. Sleep-waking patterns in hypoxic kittens. *Dev. Psychobiol.*, **12**: 561-575, 1979.
4. BARD, P. and MACHT, M. B. The behavior of chronically decerebrate cats. Pp. 55-71. In: WOHLSTENHOLME, G. E. W. and O'CONNOR, C. M., (Eds.), *CIBA Foundation Symposium on the Neurological Basis of Behavior*. Little Brown, London, 1958.
5. BERGER, R. J. and PHILLIPS, N. H. Comparative aspects of energy metabolism, body temperature and sleep. *Acta Physiol. Scand.*, **133**, Suppl. 574: 21-27, 1988.
6. BERGER, R. J. Slow wave sleep, shallow torpor and hibernation: homologous states of diminished metabolism and body temperature. *Biol. Psychol.*, **19**: 305-326, 1984.
7. BLASS, J. P. and GIBSON, G. E. Consequences of mild, graded hypoxia. *Adv. Neurol.*, **26**: 229-253, 1979.
8. BORBELY, A. A. Sleep and motor activity of the rat during ultra-short light-dark cycles. *Brain Res.*, **114**: 305-317, 1976.
9. CANNON, W. B. *The Wisdom of the Body*. The Norton Library, New York, pp. 312, 1932.
10. FORMAL, C. A., LITTO, W. J., MORILAK, D. A. and JACOBS, B. L. Single-unit responses of serotonergic dorsal raphe nucleus neurons to environmental heating and pyrogen administration in freely moving cats. *Exp. Neurol.*, **98**: 388-403, 1987.
11. FOX, P. T., RAICHEL, M. E., MINTUN, M. A. and DENCE, C. Non oxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity. *Science*, **241**: 462-464, 1988.
12. FREDERICQ, H. *Principes de Physiologie Générale* (3^e édition). Masson, Paris, pp. 202-207, 1943.
13. GIBSON, G. E. and SHIMADA, M. Studies on the metabolic pathway of the acetyl group for acetylcholine synthesis. *Biochem. Pharmacol.*, **29**: 167-174, 1980.
14. HAHN, Z., CESPUGLIO, R., FARADJI, H. and JOUVET, M. Temperature-dependent variations of 5-hydroxyindols in ventricular cerebrospinal fluid. An in vivo voltammetric study. *Brain Res.*, **289**: 215-222, 1983.
15. HARTMANN, E. The 90- minute sleep-dream cycle. *Arch. Gen. Psychiat.*, **18**: 280-286, 1968.
16. HAXHIU, M. A., STROHL, K. P., NORCIA, M. P., VAN LUNTEREN, E., DEAL, E. C. and CHERNIACK, N. Q. A role for the ventral surface of the medulla in regulation of nasal resistance. *Amer. J. Physiol.*, **253**: 494-500, 1987.
17. HELLER, H. C. Sleep and hypometabolism. *Can. J. Zool.*, **66**: 61-69, 1988.
18. HOBSON, J. A., LYDIC, R. and BAGHDOYAN, H. A. Evolving concepts of sleep cycle generation: from brain centers to neuronal populations. *Behav. Brain Sci.*, **9**: 371-448, 1986.
19. HOMEYER, P., SASTRE, J. P., BUDA, C. and JOUVET, M. Suppression of Ottoson waves in the isolated olfactory bulb during sleep in the pontine cat. *NeuroReport*, **6**: 773-776, 1995.
20. HUERTAS, J. and McMILLIN, J. K. Paradoxical sleep: effect of low partial pressure of atmospheric oxygen. *Science*, **159**: 745-746, 1968.
21. JONES, B. E. Paradoxical sleep and its chemical/structural substrates in the brain. *Neuroscience*, **40**: 637-656, 1991.

22. JOUVET, M. Etude de la dualité des états de sommeil et des mécanismes de la phase paradoxale. Pp. 393-442. In: JOUVET, M. (Ed.), *Aspects Anatomo-fonctionnels de la Physiologie du Sommeil*. Centre Nat. Rech. Sci., Paris, 1965.
23. JOUVET, M. The regulation of paradoxical sleep by the hypothalamo-hypophysis. *Arch. Ital. Biol.*, **126**: 259-274, 1988.
24. JOUVET, M., BUDA, C., SASTRE, J. P. Hypothermia induces a quasi permanent paradoxical sleep state in pontine cats. Pp. 487-497. In: MALAN, A. and CANGUILHEM, B. (Eds.), *Living in the Cold II*. Colloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd, London, Paris, 1989.
25. JOUVET, M., BUDA, C., ARNULF, I. and SASTRE, J. P. Evolution of the ultradian rhythm of paradoxical sleep in pontine cats during hypothermia. *Sleep Res.*, p. 579, 1991.
26. KARACAN, I., WOLFF, S., WILLIAMS, R. L., HURSCHE, C. J. and WEBB, W. B. The effects of fever on sleep and dream patterns. *Psychosomatics*, **9**: 331-339, 1968.
27. KEENAN, C. L. and CHU, N-S. Thermo-sensitivity of dorsal raphe neurons in vitro. *Brain Res.*, **410**: 189-194, 1987.
28. LEFRESNE, P., BEAUJOUAN, J. C. and GLOWINSKI, J. Origin of the acetyl moiety of acetylcholine in rat striatal synaptosomes: a specific pyruvate deshydrogenase involved in ACh synthesis? *Biochimie*, **60**: 479-487, 1978.
29. MC CARLEY, R. W. and MASSAQUOI, S. G. A limit cycle mathematical model of the REM sleep oscillator system. *Amer. J. Physiol.*, **251**: R1011-R1029, 1986.
30. MILNER, T. A., AOKI, C., REX SHEU, K. F., BLASS, J. P., PICKEL, V. M. Light microscopic immunocytochemical localization of pyruvate deshydrogenase complex in rat brain: topographical distribution and relation to cholinergic and catecholaminergic nuclei. *J. Neurosci.*, **7**: 3171-3190, 1987.
31. PATURLE-ARNULF, I. *Métabolisme Energétique et Sommeil Paradoxal*. Thèse de Doctorat en Médecine, Faculté de Médecine de Grenoble, pp. 183, 1992.
32. PAUT-PAGANO, L., ROKY, R., VALATX, J. L., KITAHAMA, K. and JOUVET, M. Anatomical distribution of prolactin-like immunoreactivity in the rat brain. *Neuroendocrinol.*, **58**: 682-695, 1993.
33. PETITJEAN, F., BUDA, C., JANIN, M., DAVID, M. et JOUVET, M. Effets du chloramphénicol sur le sommeil du chat - Comparaison avec le thiamphénicol, l'érythromycine et l'oxytétracycline. *Psychopharmacol.*, **66**: 147-153, 1979.
34. SAKAI, K. Executive mechanisms of paradoxical sleep. *Arch. Ital. Biol.*, **479**: 225-240, 1988.
35. SASTRE, J. P., SAKAI, K. and JOUVET, M. Are the gigantocellular tegmental field neurons responsible for paradoxical sleep? *Brain Res.*, **229**: 147-161, 1981.
36. SASTRE, J. P., BUDA, C., JANIN, M., SEGUIN, S., SALLANON, M. et JOUVET, M. Neurophysiologie - L'injection systémique ou intracérébrale d'extraits de lobe neuro-intermédiaire de boeuf peut induire le sommeil paradoxal au cours de l'insomnie provoquée par la P. chlorophénylalanine chez le chat. *C. R. Acad. Sci.*, **300**, III: 13-17, 1985.
37. SIEGEL, J. M., NIENHUIS, R. and TOMASZEWSKI, K. S. REM sleep signs rostral to chronic transections at the pontomedullary junction. *Neurosci. Lett.*, **45**: 241-246, 1984.
38. SIEGEL, J. M., TOMASZEWSKI, K. S. and NIENHUIS, R. Behavioral states in the chronic medullary and mid-pontine cat. *EEG Clin. Neurophysiol.*, **63**: 279-288, 1986.
39. SIESJÖ, B. K. *Brain Energy Metabolism*. J. Wiley and Sons, New York, pp. 101-110, 1978.
40. SIMPKINS, J. W. Effects of haloperidol and prolactin secreting tumors on cerebrospinal fluid concentration on prolactin in the female rat. *Life Sci.*, **51**: 295-301, 1992.
41. TÜCEK, S. Problems in the organization and control of acetylcholine synthesis in brain neurons. *Progr. Biophys. Mol. Biol.*, **44**: 1-46, 1984.

42. URSIN, R. Sleep stage relations within the sleep cycle of the cat. *Brain Res.*, **20**: 91-97, 1970.
43. VANNI-MERCIER, G., SAKAI, K., LIN, J. S. and JOUVET, M. Mapping of cholinceptive brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. *Arch. Ital. Biol.*, **127**: 133-164, 1989.
44. WEBSTER, H. H., FRIEDMAN, L. and JONES, B. E. Modification of paradoxical sleep following transections of the reticular formation at the pontomedullary junction. *Sleep*, **9**: 1-23, 1986.
45. WEBSTER, H. H. and JONES, B. E. Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. II. Effects upon sleep-waking states. *Brain Res.*, **458**: 285-302, 1988.
46. WIELAND, O. H. The mammalian pyruvate deshydrogenase complex: structure and function. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **96**: 123-170, 1983.
47. ZEPELIN, H. and RECHTSCHAFFEN, A. Mammalian sleep, longevity and energy metabolism. *Brain Behav. Evol.*, **10**: 425-470, 1974.