



# ACADÉMIE NATIONALE DE PHARMACIE

SANTÉ PUBLIQUE - MÉDICAMENT - PRODUITS DE SANTÉ - BIOLOGIE - SANTÉ ET ENVIRONNEMENT

Fondée le 3 août 1803 sous le nom de Société de Pharmacie de Paris

Reconnue d'utilité publique le 5 octobre 1877

## VEILLE SCIENTIFIQUE

### LETTRE n° 69

éditée sous l'égide de la *Commission Prospective Scientifique et Programmation*

*Ce document résulte d'une veille prospective de l'Académie nationale de Pharmacie réalisée périodiquement dans le domaine de la santé et de l'innovation thérapeutique, ainsi que dans le domaine de l'environnement – santé. Elle cherche également à mettre en relief les start-ups ou « Biotechs » impliquées dans ces mêmes domaines.*

*Pour faciliter la lecture, les informations sont signalées par des lettres : F pour recherche fondamentale ; P pour recherche préclinique ; C pour recherche clinique.*

### SOMMAIRE

#### Mise au point

1. **Axe microbiote – tractus digestif – cerveau (1/5)**

#### Innovations scientifiques et thérapeutiques

2. **Les « nanoblades » : nouveaux vecteurs du système CRISPR/Cas 9 (F)**
3. **Le firibastat : une innovation dans le traitement de l'hypertension artérielle (C)**
4. **Émergence d'une antibiorésistance avec les glycyliclines (C)**
5. **Le darapladib, un marqueur de la rupture des plaques d'athérome ? (P)**

#### Santé et environnement

6. **Dosage de contaminants dans les émissions de cigarettes électroniques.**

#### Les « Biotechs » dans le domaine de la santé

*ONCODIAG*

## Mise au point

### 1. Axe microbiote – tractus digestif – cerveau (1<sup>re</sup> partie sur cinq)

#### A. Rappels sur le microbiote

1 — Chaque individu possède un **microbiote** intestinal, dont le profil est unique, et qui joue un rôle fonctionnel important dans le métabolisme des aliments, dans le maintien de l'intégrité structurale de la barrière muqueuse, dans l'**immunomodulation**, et dans la protection contre des agents pathogènes.

2 — La composition de ce microbiote commence à être mieux connue depuis l'apport des techniques de séquençage appliquées au **métagénome** microbien. C'est ainsi qu'il a été possible d'identifier, par la connaissance des génomes séquencés, de nouvelles espèces bactériennes inconnues jusqu'à présent, car non cultivables par les techniques classiques de la bactériologie. Ces connaissances ont permis de faire de grands progrès dans l'aspect fonctionnel de l'écosystème microbien intestinal.

3 — Chaque microbiote est façonné dès la jeune enfance et évolue au cours des 2 à 3 premières années de la vie (naissance par les voies naturelles ou par césarienne, allaitement maternel ou non, période de sevrage... sans oublier d'autres facteurs externes comme l'utilisation de médicaments, surtout des antibiotiques). On considère qu'à partir de 3 ans, le microbiote est établi et qu'il se maintient pendant toute la vie adulte avec des variations plus ou moins importantes en fonction de l'entérotipe, de l'indice de masse corporelle, de la pratique d'un sport, du style de vie, des habitudes alimentaires, des médicaments... sans oublier l'âge qui, dans la phase terminale de la vie, est responsable d'une modification très progressive du microbiote (diminution de la biodiversité, diminution du nombre de gènes bactériens et donc d'espèces).

4 — Ceci nous fait comprendre deux points importants :

- il n'est pas possible de définir un microbiote normal ou de référence pour pouvoir faire des comparaisons ;
- le fond du problème est de savoir si les variations du microbiote ne l'empêchent pas d'assurer ses fonctions métaboliques et immunologiques. Si tel était le cas, ces variations, qu'elles soient d'origine interne ou externe, nous informent qu'il a perdu ses capacités fonctionnelles. On est alors dans un état de **dysbiose intestinale**, qui se caractérise par une diminution de la biodiversité bactérienne et du nombre de gènes bactériens réduisant ses capacités de défense face à des pathogènes externes ou permettant la prolifération d'espèces normalement présentes en quantité réduite, car inhibées par le microbiote original.

5 — Les mécanismes aboutissant à la dysbiose ne sont pas encore très bien connus, car la composition du microbiote est complexe, et les interactions au sein de l'écosystème sont difficiles à connaître et à évaluer. L'apparition d'un état de dysbiose entraîne toute une série de cascades métaboliques difficiles à prévoir. On sait néanmoins que l'utilisation d'antibiotiques, le stress oxydant, la présence de bactériophages, la sécrétion de métabolites toxiques ainsi que le vieillissement peuvent entraîner l'apparition d'une dysbiose.

7 — Actuellement un grand nombre de pathologies sont associées à une dysbiose, sans qu'on soit capable de dire s'il s'agit de la cause ou de la conséquence de la maladie. Parmi celles qui commencent à être étudiées, on doit citer les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), comme la maladie de Crohn ou la rectocolite hémorragique, l'obésité et le syndrome métabolique, le diabète de type II et, surtout après la découverte de l'axe « intestin – microbiote – cerveau », les maladies neurologiques très actuelles : dépression, maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, autisme et épilepsie.

Références :

Bourlioux P. Actualité du microbiote intestinal. Ann Pharm.Fr 2014 ; 72 : 15–21. doi: [10.1016/j.pharma.2013.09.001](https://doi.org/10.1016/j.pharma.2013.09.001)

Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD, Gasbarrini A, Mele MC: What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. Microorganisms. 2019 Jan 10; 7(1). pii: E14. doi: [10.3390/microorganisms7010014](https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014)

Weiss GA, Hennet T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. Cell Mol Life Sci. 2017; 74(16): 2959–2977. doi: [10.1007/s00018-017-2509-x](https://doi.org/10.1007/s00018-017-2509-x)

## B. La communication bidirectionnelle intestin — cerveau : notre microbiote intestinal parle à notre cerveau

Le tractus gastro-intestinal possède un système nerveux entérique comprenant un réseau interconnecté de neurones en nombre équivalent à ceux que l'on trouve au niveau du cordon médullaire. C'est ce qu'on appelle le deuxième cerveau.

Le cerveau envoie des messages au tractus digestif qui agissent sur les fonctions sécrétrices et sensorielles intestinales. En retour, le cerveau reçoit des informations viscérales en provenance du tractus digestif. Cette communication peut se faire selon quatre voies possibles : la voie sanguine, la voie immunitaire, la voie endocrinienne et la voie nerveuse.

Cette communication bidirectionnelle entre tractus digestif et cerveau va être influencée par le microbiote intestinal et pouvoir être, en cas de dysbiose, impliquée dans des pathologies neurologiques comme la dépression, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, l'autisme, l'épilepsie...

Il faut ajouter qu'un travail récent sur la **pyridostigmine**, médicament donné aux soldats américains, pendant la guerre du Golfe en cas d'utilisation du **soman** (gaz neurotoxique organophosphoré), a permis de montrer que cette molécule altérait la fonction intestinale en perturbant les systèmes nerveux et immunitaires de l'intestin avec, comme conséquence, l'apparition de perturbations majeures concernant non seulement le contrôle nerveux des fonctions intestinales mais aussi l'immunité intestinale et la communication immune entre intestin et cerveau.

Références :

Dinan TG, Cryan JF The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2017; 46(1): 77–89. doi: [10.1016/j.gtc.2016.09.007](https://doi.org/10.1016/j.gtc.2016.09.007)

Forsythe P, Bienenstock J, Kunze WA. Vagal pathways for microbiome-brain-gut axis communication (Abstract). *Adv Med Biol* 2014; 817: 115–33. doi: [10.1007/978-1-4939-0897-4\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4_5)

Hernandez S, Fried DE, Grubišić V, McClain JL, Gulbransen B. Gastrointestinal neuroimmune disruption in a mouse model of Gulf War illness. *FASEB J.* 2019 Feb 21. <https://doi.org/10.1096/fj.201802572R>

## Innovations scientifiques et thérapeutiques

### 2. Les « *nanoblades* » : nouveaux vecteurs du système CRISPR/Cas 9

Tout le monde connaît aujourd'hui la technologie **CRISPR/Cas 9** de réécriture génomique, comme outil capable de couper en un endroit précis l'ADN au sein d'une cellule. Le problème, qui reste cependant entier, est d'amener ces « ciseaux génétiques » jusqu'à leur cible cellulaire, notamment le génome de certaines cellules souches.

Pour résoudre ce défi technique, une équipe de chercheurs de Lyon a eu l'idée d'encapsuler le système CRISPR/Cas9 dans des structures ressemblant beaucoup à des virus et assurer ainsi sa livraison au sein d'une cellule cible, en fusionnant avec la membrane de cette dernière. Pour concevoir ce système, qu'ils ont appelé « *nanoblades* », les chercheurs ont exploité les propriétés de la protéine rétrovirale GAG, qui a la capacité de produire des particules virales non infectieuses, car dénuées de génome. Ils ont ainsi fusionné la protéine GAG d'un rétrovirus de souris avec la protéine CAS9 — le « ciseau » du système CRISPR —, rendant immédiatement fonctionnel le système CRISPR/Cas 9 au sein de la cellule. Grâce à une combinaison originale de deux protéines d'enveloppe virales à la surface des *nanoblades*, le système a pu être étendu à une large gamme de cellules cibles, y compris des cellules souches humaines.

Source :

Mangeot PE, Risson V, Fusil F, Marnet A, Laurent E, Blin J, et al. Genome editing in primary cells and in vivo using viral-derived 'Nanoblades' loaded with Cas9/sgRNA ribonucleoproteins. *Nature Communications.* <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07845-z>.

### 3. Le firibastat : une innovation dans le traitement de l'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle (HTA), la maladie chronique la plus fréquente, en France, semble anodine, car elle est généralement silencieuse. Elle constitue pourtant, lorsqu'elle n'est pas contrôlée, l'une des principales causes de complications cardiovasculaires, cérébrovasculaires ou neurodégénératives.

Malgré des mesures hygiéno-diététiques associées à un traitement médicamenteux pourtant déjà abondant et varié, 30 % des patients ne répondent pas, ou insuffisamment, aux traitements actuellement disponibles. Pour y remédier, de nouvelles cibles pharmacologiques, liées à la physiopathologie de la maladie, sont encore à l'étude. Parmi celles-ci, le firibastat (RB 150) est une réelle innovation pharmacologique à rapporter, car, en inhibant l'aminopeptidase A, l'enzyme qui génère l'angiotensine III active dans le cerveau (et non l'angiotensine II comme au niveau périphérique), la molécule diminue les résistances périphériques et la pression artérielle par action centrale.

Découverte au sein du laboratoire Inserm, dirigé au Collège de France par le Dr Catherine Llorens Cortes, et en partenariat avec la Société Quantum Genomics, la sécurité d'emploi du firibastat a déjà été testée chez des sujets sains dans deux études cliniques de phase I. Les résultats de l'étude de phase IIa qui viennent de paraître confirment les données de sécurité et apportent les premiers éléments d'efficacité. Cette étude a inclus 34 patients ayant une pression artérielle ambulatoire diurne comprise entre 135/85 mm Hg et 170/105 mm Hg. Ils étaient âgés en moyenne de 57 ans (73 % d'hommes) et non obèses. La moitié d'entre eux a reçu le firibastat pendant 4 semaines, puis le placebo pendant 4 autres semaines, et l'autre moitié a reçu le traitement dans l'ordre inverse : placebo, puis firibastat. Les résultats attestent d'un meilleur contrôle de la pression artérielle systolique sous firibastat après 4 semaines avec une baisse systolique de moins 4,7 mm Hg en moyenne contre plus 0,1 mm Hg sous placebo. Plus la pression artérielle de base est élevée, plus la molécule est active (sans jamais être hypotensive). Plus récemment, lors du dernier Congrès de l'*American Heart Association*, ces résultats ont été confirmés chez 254 patients hypertendus en surpoids et à haut risque cardiovasculaire, traités pendant 2 mois, y compris chez les patients afro-américains qui ont le plus souvent une hypertension artérielle résistante aux traitements actuellement disponibles.

Source:

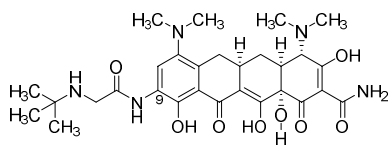
Azizi M, Courand PY, Denolleg T, Delsarth P, Zhygalina V, Amara L et al. A pilot double-blind randomized placebo-controlled crossover pharmacodynamic study of the centrally active aminopeptidaseA inhibitor, firibastat, in hypertension. *The Journal of Hypertension*. <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0000000000002092>

### 4. Émergence d'une antibiorésistance avec les glycyglycines

Les glycyglycines sont des agents bactériostatiques — d'une nouvelle classe thérapeutique — dérivés de la **minocycline**. Leur chef de file fut la **tigécycline**, qui possède, en position 9, un radical *t*-butylglycylamido permettant à la molécule de résister aux pompes à efflux exprimées par de nombreuses bactéries et d'avoir une grande affinité pour la sous-unité 30S ribosomale, pour bloquer l'entrée de l'ARN de transfert (ARNt) aminoacyle dans le site A du ribosome. Ce mécanisme empêche l'incorporation des résidus acides aminés dans les chaînes peptidiques en formation.

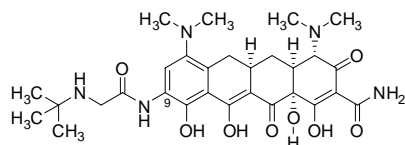
La molécule fut mise sur le marché, en 2005 aux États-Unis, puis en 2006 en Europe, après avoir montré une activité bactéricide sur des souches de *Streptococcus pneumoniae* et de *Legionella pneumophila* résistantes à la **méticilline**. En administration intraveineuse stricte, la tigécycline est indiquée chez l'adulte et l'enfant âgé de 8 ans et plus, dans le traitement des infections suivantes : les infections compliquées de la peau et des tissus mous, à l'exclusion des infections du pied chez les patients diabétiques, et les infections intra-abdominales compliquées.

Après la mise sur le marché de l'**éravacycline** en août 2018, puis de l'**omadacycline** en octobre 2018, les mécanismes des premières antibiorésistances ont été élucidés et viennent d'être publiés, en 2019 ! Les auteurs de la publication [1] rapportent le rôle de deux gènes mobiles *tet(X3)* et *tet(X4)* qui encodent une monooxygénase flavine-dépendante, chez *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Acinetobacter baumannii* — *tet(X3)* et *tet(X4)* sont adjacents à une séquence d'insertion *ISVsa3* (IS pour *insertion sequence*; Vs, pour *Vibrio salmonicida*) sur leurs plasmides conjugués. Cela rappelle les travaux sur l'antibiorésistance aux tétracyclines [2] où il a été montré que la monooxygénase flavine-dépendante, en présence de dioxygène et du cofacteur nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, sous sa forme réduite NADPH oxydait les tétracyclines. Par exemple, ci-dessous, la réaction d'oxydation de l'**oxytétracycline** conduit à des produits qui sont dénués d'activité antibiotique (le schéma est adapté de la référence [2]).

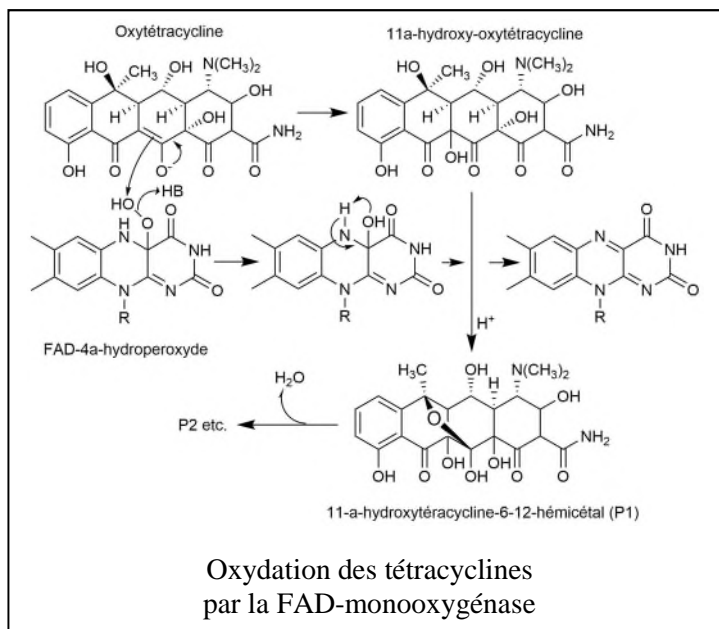


**Tigécycline**

**Éravacycline**



**Omadacycline**



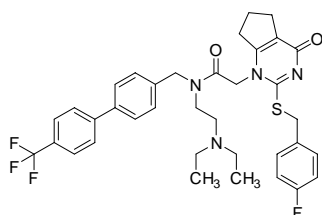
Sources:

[1] He T, Wang R, Liu D, Walsh TR, Zhang E, et al. Emergence of plasmid-mediated high-level tigecycline resistance genes in animals and humans. *Nature Microbiology* 2019. [doi.org/10.1038/s41564-019-0445-2](https://doi.org/10.1038/s41564-019-0445-2)

[2] Yang W, Moore IF, Koteva KP, Bareich DC, Hughes DW, Wright GD. TetX is a flavin-dependent monooxygenase conferring resistance to tetracycline antibiotics. *J Biol Chem* 2004; 279(50): 52346–52. [doi: 10.1074/jbc.M409573200](https://doi.org/10.1074/jbc.M409573200)

## 5. Le darapladib, un marqueur de la rupture des plaques d'athérome ?

La rupture des plaques d'athérome représente un risque majeur d'accident cardiovasculaire (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral, etc.). Le dépistage de ces plaques se fait actuellement par échographie. Le plus souvent, si l'artère est obstruée à plus de 70 %, le patient est généralement opéré pour retirer le segment obstrué. Néanmoins, ce critère a des limites, car il s'agit d'un diagnostic de nature « anatomique », basé sur le degré d'obstruction, et non sur un diagnostic « fonctionnel », à savoir le potentiel de rupture des plaques (qui sont souvent diffuses et non strictement circonscrites). Développer de nouveaux « outils diagnostics » est donc un réel enjeu pour les cliniciens. Dans cette optique, des chercheurs de l'Inserm et de l'Université de La Réunion viennent de montrer que le darapladib, une molécule qui avait été initialement développée pour réduire le risque d'infarctus du myocarde (une indication qui fut un échec thérapeutique), avait aussi la capacité de reconnaître spécifiquement l'enzyme Lp-PLA<sub>2</sub> (inhibitrice de phospholipase A2 associée aux lipoprotéines) fortement surexprimée dans les plaques d'athéromes instables. En marquant la molécule au fluor-18 [<sup>18</sup>F], l'équipe de recherche en a fait un traceur visible par imagerie nucléaire (tomographie par émission de positons ou TEP) pour détecter les plaques d'athérome instables. Pour le moment, ils ont comparé le <sup>18</sup>F-darapladib au fluorodésoxyglucose radioactif (<sup>18</sup>F-FDG) utilisé en routine pour suivre les cellules cancéreuses. Ils ont injecté l'un ou l'autre de ces produits par voie sanguine chez des souris atteintes d'athérosclérose, puis ont observé les vaisseaux touchés au moyen de la TEP. Ils ont constaté une concentration importante de darapladib au niveau des plaques, alors que le signal du <sup>18</sup>F-FDG était faible. La prochaine étape sera de confirmer l'intérêt de diagnostic clinique du darapladib et de vérifier si la concentration de sa cible, la Lp-PLA<sub>2</sub>, au niveau de certaines plaques est véritablement associée au risque de rupture.



Structure du darapladib

Source : GuibbaGuil F, Menerol V, Ait-Arsa I, Diotel N, Patché J, Veeren B, et al. Synthesis and Automated Labeling of [<sup>18</sup>F]-Darapladib, a Lp-PLA<sub>2</sub> ligand, as potential PET Imaging tool of Atherosclerosis. *ACS Medicinal Chemistry Letters*: <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.8b00643>



### 6. Dosage de contaminants dans les émissions de cigarettes électroniques.

Les e-cigarettes, perçues moins toxiques que les cigarettes classiques, nécessitent une approche analytique permettant la récupération, l'identification et le dosage de quatre contaminants à problème pour la santé. L'utilisation d'un robot vapoteur automatique permet de récupérer et de dériver les contaminants de faible masse molaire. Le **formaldéhyde**, l'**éthanal** et l'**acroléine** sont dosés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. L'analyse du diacétyl (butane-2,3-dione) est faite en GC-MS avec dérivation par la PFBHA — *O*-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamine — en amont de l'injection. Les méthodes mises au point et validées par le laboratoire EXPERTOX permettent d'identifier et de quantifier en routine ces contaminants.

Source : de Vaugelade S, Archambaut M, Largitte A. Dosage de contaminants dans les émissions de cigarettes électroniques. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique*, 2018, 989, 31–36.

## « Biotechs » dans le domaine de la santé

### ONCODIAG

OncoDiag est une société basée en Normandie, spécialisée dans le développement de solutions innovantes pour le diagnostic précoce et la surveillance des cancers. Les premiers tests concernent le cancer de la vessie et le cancer colorectal.

En effet, Lauréate du Concours mondial de l'Innovation, cette société développe, depuis plusieurs années, un test urinaire permettant de diagnostiquer et de suivre des patients ayant un cancer de la vessie. Ce test, nommé Urodiag [1], est désormais validé et dispose du marquage CE-IVD. Avec les cancers de la vessie, inscrite comme maladie professionnelle, OncoDiag s'adresse à un véritable problème de santé publique. Les tumeurs de la vessie, dont 75 % des tumeurs sont superficielles et 25 % sont invasives, représentent en fréquence le 7<sup>e</sup> cancer général et le 2<sup>e</sup> cancer urologique. Elles sont responsables de 3 % des décès par cancer. Les tumeurs superficielles ont, comme risque principal, la récurrence dans 70 % des cas, dont 20 % progressent et évoluent vers des métastases. Elles font partie des maladies fréquentes et coûteuses qui relèvent d'une action de dépistage ciblé (fumeurs, exposition professionnelle). Urotest est un outil moléculaire donnant des performances très élevées en termes de sensibilité et de spécificité : 98 % de sensibilité pour le diagnostic et la surveillance des récurrences, avec une bonne spécificité de 67 % et 97 % de spécificité pour le dépistage ciblé (population à risque) avec une sensibilité élevée, de 80 %. Parmi les meilleurs marqueurs épigénétiques de cette pathologie, les chercheurs ont identifié les 18 gènes qui subissent une hyperméthylation. Ce sont les *COL1A2*, *DDR1*, *DIRAS3*, *DNASE1L*, *EYA4*, *FASTK*, *HS3ST2*, *NPY*, *NTRK3*, *PENK*, *SEMA3B*, *SEPTIN5*, *SEPTIN9*, *SLIT2*, *SYNE1*, *TGFβ 1*, *TWIST1*, et *WIF1*. Pour mettre au point ce test diagnostic, ils ont mesuré plus spécifiquement les pourcentages de méthylation de *HS3ST2*, *SEPTIN9*, *SLIT2* et le statut de *FGFR3* chez 167 patients atteints de cancer de la vessie n'infiltrant pas le muscle. *FGFR3* est un récepteur transmembranaire de tyrosine kinase, qui se lie au facteur de croissance de fibroblastes. Oncodiag développe également un second test du nom de Colodiag [2] destiné à une détection précoce du cancer colorectal.

Sources:

[1] Roperch JP, Grandchamp B, Desgrandschamps F, Mongiat-Artus P, Ravery V, et al. Promoter hypermethylation of *HS3ST2*, *SEPTIN9* and *SLIT2* combined with *FGFR3* mutations as a sensitive/specific urinary assay for diagnosis and surveillance in patients with low or high-risk non-muscle-invasive bladder cancer. *BMC Cancer*. 2016; 16: 704. doi.org/10.1186/s12885-016-2748-5

[2] Peltier J, Roperch JP, Audebert S, Borg JP, Camoin. Activation peptide of the coagulation factor XIII (AP-F13A1) as a new biomarker for the screening of colorectal cancer. *Clin Proteomics*. 2018; 15: 15 doi: 10.1186/s12014-018-9191-3

---

Ont participé à la rédaction de cette Lettre n° 69 : Alain Berdeaux, Alain Gouyette, Claude Monneret, Pierre Bourlioux, Frédéric Bonté.