



Le milieu marin et la pharmacie : étude d'un milieu méconnu et fragile source d'innovations

Sylvain Morincome

► To cite this version:

Sylvain Morincome. Le milieu marin et la pharmacie : étude d'un milieu méconnu et fragile source d'innovations. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02162345

HAL Id: dumas-02162345

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02162345>

Submitted on 21 Jun 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

U.F.R DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année universitaire 2018/2019

Thèse n°36

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par MORINCOME Sylvain

Né le 29 aout 1993 à Fontenay-Aux-Roses

Le 13 mai 2019

Le milieu marin et la pharmacie :

Étude d'un milieu méconnu et fragile source d'innovations

Sous la direction d'Arnaud Courtois

Membres du jury

Mr QUIGNARD Jean François

Professeur

Président

Mr ROMA Nicolas

Docteur en Pharmacie

Examinateur

Mr COURTOIS Arnaud

Maître de conférences

Examinateur

Le milieu marin et la pharmacie :
Étude d'un milieu méconnu et fragile
source d'innovations

Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier mon directeur de thèse, Monsieur Arnaud Courtois, pour l'intérêt qu'il a porté à un sujet peu connu, pour ses relectures rapides, la pertinence de ses conseils et sa patience.

Mes remerciements vont ensuite à mon directeur de jury, Monsieur Jean-François Quignard, pour avoir accepté de présider mon jury, et pour avoir le premier évoqué cette vaste matière qu'est la pharmacologie marine.

J'aimerais également remercier Monsieur Nicolas Roma, pour le stage de 6^{ème} année qu'il m'a permis de faire, le temps qu'il m'a réservé pour la rédaction de ma thèse ainsi que pour son intérêt pour cette dernière. Je le remercie également pour avoir accepté de faire partie de mon jury.

Mes remerciements vont ensuite à ma famille et à Marie, pour leur relecture attentive, ainsi qu'à mon frère, sans qui l'axolotl n'aurait pas trouvé de place dans cette thèse.

Table des matières

I. Liste des abréviations.....	6
II. Introduction	7
III. Le milieu marin, un milieu à part entière	8
III.1. Caractéristiques du milieu marin	9
a) Part de l'océan sur terre	9
b) Composition de l'eau de mer	13
c) Pression et températures	19
d) Méthodes de mesure	20
III.2. Un milieu en mouvement constant... ..	22
a) Les courants marins.....	22
b) Les migrations	23
III.3. ...Et pourtant extrêmement conservé.....	23
III.4. Biodiversité marine :.....	24
a) La biodiversité	24
b) L'arbre du vivant :.....	25
c) Les êtres vivants présents dans les océans :	26
IV. Le monde marin, source d'information encore sous-exploitée.....	31
IV.1. Des modèles de recherche appartenant au monde marin :	31
a) L'axone de calmar géant :	31
b) L'Axolotl :	33
c) Les éponges de mer :	38
IV.2. Des connaissances encore lacunaires :	43
a) Des phylums encore peu connus :	43
b) Les bactéries marines, sources de molécules encore peu exploitées :	44
IV.3. Les méthodes de recherche employées :	45
a) L'observation	45
b) Le criblage	46
c) La génomique, nouvel outil de recherche :	50
d) La mise en place de « bibliothèques » :	52
V. Les biotechnologies bleues, un regain d'intérêt pour l'océan :	55
V.1. Définition :	55
V.2. L'utilisation actuelle des métabolites secondaires :	56

a)	Prialt [®] (Ziconotide) :	57
b)	Yondelis [®] (Trabectedine) :	62
c)	Halaven [®] (Eribuline) :	69
d)	Roscovitine	74
V.3.	Les outils de laboratoire issus de la mer :	77
a)	PCR :	77
b)	Les réactifs de laboratoire :	79
V.4.	Les biotechnologies et la cosmétologie :	82
VI.	<i>Une exploitation devant être raisonnée :</i>	84
VI.1.	Le cycle de l'eau :	84
a)	Répartition de l'eau sur Terre	84
b)	Le cycle naturel de l'eau	85
c)	Action de l'Homme sur le cycle de l'eau	87
VI.2.	La contamination et la pollution du milieu :	90
a)	Contamination médicamenteuse des eaux	90
b)	Les effets des perturbateurs endocriniens sur la faune marine.....	95
VI.3.	Les démarches de préservation du milieu	95
a)	Les crèmes solaires.....	95
b)	Utilisation de coproduits	97
c)	Le plastique et la mer :	98
VII.	<i>Conclusion.....</i>	100
VIII.	<i>Bibliographie.....</i>	101
IX.	<i>Table des illustrations</i>	106
X.	<i>Table des tableaux.....</i>	110

I. Liste des abréviations

Abréviations	Signification
IHO	International Hydrographic Organization
CIEM	Conseil International pour l'Exploration des Océans
CTD	Conductivité, température, pression
INPN	Institut National du Patrimoine Naturel
WoRMS	World Register of Marine Species
DORIS	Données d'Observations pour la Reconnaissance et l'Identification de la faune et de la flore Subaquatique
Ifremer	Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer
CNRS	Centre National de la Recherche Scientifique
ENS	École Normale Supérieure
UMR	Unité Mixte de Recherche
NAC	Nouveaux Animaux de Compagnie
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Économique
OGM	Organisme Génétiquement Modifiés
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSES	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
AFSSA	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
INSERM	Institut national de la santé et de la recherche médicale
NER	Nucleotide excision repair
GG-NER	Global Genome NER
TC-NER	Transcription Coupled NER
ADN	Acide Désoxyribonucléique

II. Introduction

Depuis toujours, les océans fascinent les hommes de par leur immensité, l'aventure et l'inconnu qu'ils représentent. Ces derniers se sont toujours placés au centre des diverses cultures qui ont régies les Hommes, à l'image des divinités représentant la mer vénérée au fil du temps : Poséidon (dieu grecs) et son attelage de bête mi-chevaux, mi-poissons, Ryujin (龍神) le dragon Dieu des mers japonaises, Chalchiutlicue déesse des cours d'eau aztèques... Toutes les civilisations ont vénéré les océans, en espérant attirer la clémence de ce milieu hostile. Malgré leur aspect dangereux, les océans sont aussi une source d'inspiration pour l'imaginaire de l'Homme. De nombreux récits ont vu le jour, parfois s'inspirant de la mer elle-même, comme le célèbre roman « 20 000 Lieux Sous Les Mers » de Jules Verne, ou « Le Monde Perdu Sous La Mer » de Sir Arthur Conan Doyle, parfois des créatures qui la peuple, comme « Moby Dick » d'Herman Melville ou le poème d'Alfred Tennyson « The Kraken ». La mer peut être une simple scène pour certaines histoires, comme celle de Sinbad le Marin ou d'Ulysse ou au contraire un élément central pour certains récits comme le récit biblique de l'arche de Noé mais elle se trouve souvent au cœur de l'imaginaire humain. Au contraire, la Pharmacie semble quant à elle s'être toujours intéressée à la terre et à ses plantes, à l'image des différentes pharmacopées recensées dans le monde, qui comportent presque exclusivement des plantes d'origine terrestre. Elle tire ses remèdes des différents composés qu'elle trouve dans la nature, mais semble laisser de côté ce milieu aquatique, pourtant majoritaire sur la planète. Comment expliquer une telle différence, entre l'imaginaire collectif plein de promesses représentant une mer mystérieuse et le monde pharmaceutique qui semble quant à lui préférer le milieu terrestre ? La mer est-elle dépourvue d'intérêt pharmaceutique ? Ou bien est-ce son inaccessibilité qui représente un frein à la recherche pharmaceutique ?

Pour répondre à cette problématique, il sera dans un premier temps nécessaire de comprendre le milieu marin, ses caractéristiques, son importance et sa place dans la biodiversité planétaire. Cette étude pluridisciplinaire du milieu marin nous permettra de mieux comprendre les particularités des océans ce qui nous permettra dans un second temps de traiter de l'étendue actuelle des connaissances scientifiques dans le domaine médical marin. De cette étude globale, nous nous intéresserons plus particulièrement à un domaine scientifique actuel, appliqué aux sciences pharmaceutiques, à savoir celui des biotechnologies. Nous envisagerons ensuite la relation entre la pharmacie et les océans d'un nouveau point de vue : après avoir défini l'intérêt de la mer pour la pharmacie, nous nous efforcerons de définir l'intérêt que pourrait revêtir la pharmacie dans le contexte actuel de sauvegarde de l'environnement, appliqué au domaine maritime.

III. Le milieu marin, un milieu à part entière

Pour aborder cette partie, il serait nécessaire de définir la nature exacte d'un océan. Le Larousse définit un océan comme une « vaste étendue du globe terrestre couverte par l'eau de mer ». Il précise également que l'océan mondial est partageable en régions (Atlantique, Pacifique, Indiens, Austral et Arctique). (1) Cependant, alors qu'il est aisé de comprendre les limites des continents, délimités par l'océan (en considérant l'Eurasie comme un continent unique), il n'existe aucun élément géographique permettant la distinction de l'océan en plusieurs parties. De ce fait, l'océan a au départ été considéré par l'Homme comme une seule entité toute puissante, comme le montre par exemple la mappemonde médiévale « T dans O », représentant la Terre comme une île entourée d'un océan (Figure 1). L'étymologie même du mot océan, qui provient de latin « oceanus », emprunté au grec « Okeanos » signifiant « Dieu de la Mer » ou « Atlantique », tend à montrer cette unicité. (2)



Figure 1, *Encyclopédie médiévale, Les propriétés de l'eau*

C'est au fil des explorations que l'océan unique se divise, permettant aux explorateurs de caractériser et de donner un nom aux étendues maritimes qu'ils parcourent. A cette division empirique vient s'opposer celle des cartographes, qui découpent l'Océan de manière plus formelle et le rendent pluriel. Il faut cependant attendre le XIX^{ème} pour qu'émerge la triade océanique actuelle, à savoir Pacifique, Atlantique et Indien, triade popularisée par la scolarisation massive des Européens à cette

période. Cette triade océanique devient progressivement quintet, avec l'apparition des deux océans Arctique et Antarctique, explorés respectivement par Robert Peary en 1909 et Roald Amundsen en 1911. La division de l'Océan en cinq océans différents ne sera officialisée qu'en 1928 par le Bureau Hydrographique International (qui deviendra l'Organisation Hydrographique Internationale ou OHI en 1970).

Nous allons maintenant aborder les limites précises et la place occupée par chaque océan sur Terre.

III.1. Caractéristiques du milieu marin

Dans cette partie, nous nous attacherons à l'étude du milieu marin lui-même et de ce qui le compose, à savoir l'eau. Cette étude au sens scientifique du terme a débuté par la publication du livre « L'Histoire physique de la Mer », rédigé par Louis Ferdinand, comte de Marsilli, aujourd'hui considéré comme le fondateur de l'océanographie (étude du milieu marin), dans lequel il aborde la topographie des fonds marins, les températures marines... L'océanographie, comporte plusieurs spécialités : l'océanographie physique, l'océanographie chimique, géologique (qui ne sera pas abordée dans cette thèse) et biologique. La première partie de ce chapitre sera consacrée à une présentation globale des océans. L'océanographie chimique, ou étude de la composition des eaux océaniques, sera étudiée dans la deuxième partie de ce chapitre, tandis que l'océanographie chimique, qui s'attache à l'étude des marées et courants océaniques, sera abordée dans la troisième partie de ce chapitre. La dernière partie de ce chapitre s'attachera aux méthodes et moyens techniques permettant le développement des connaissances océanographiques.

a) Part de l'océan sur terre

La Terre est recouverte à environ 71% par les océans, avec un volume d'eau estimé à 1370.10^6 de kilomètre cube, avec une profondeur moyenne dépassant les 3800 mètres. (3)

Sur la planète Terre, on considère donc que cinq océans sont présents : les océans Pacifique, Atlantique et Indien sont les trois principaux en terme de superficie (avec 180, 106 et 75 millions de kilomètres carrés respectivement).

Ces trois océans majeurs sont bordés par l'océan Antarctique au sud (30 millions de kilomètres carrés) et Arctique au nord (14 millions de kilomètres carrés). (3)

Les superficies relatives des océans sont réparties comme montrées sur la figure 2 ci-dessous :

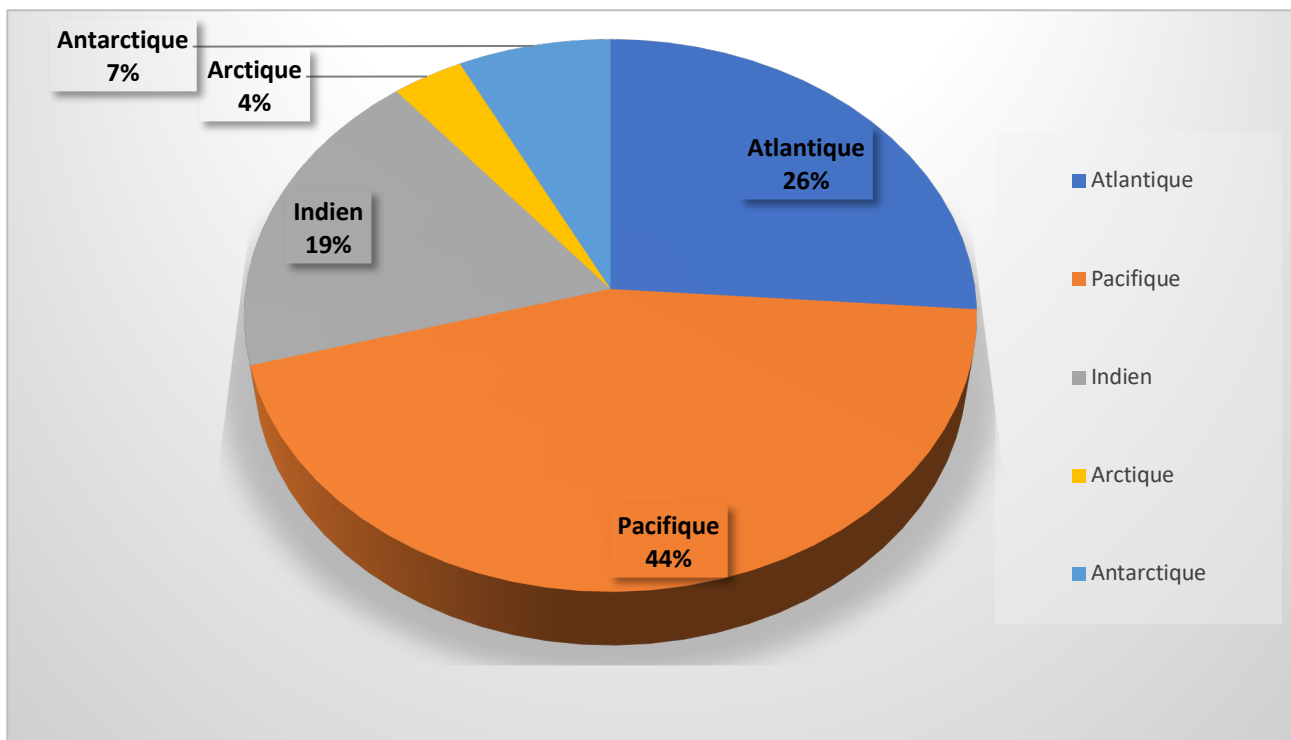


Figure 2, Superficie relative des différents océans

Les limites des océans, définies par l'IHO, sont les suivantes :

- le passage de Drake, ou méridien 67°16 OUEST (la longitude du cap Horn), est le point de frontière entre Pacifique et Atlantique
- le cap des Aiguilles, ou méridien 20° EST, marque la frontière entre océan Atlantique et Indien
- le cap South West, ou méridien 147°07 est la limite entre océan Indien et Pacifique
- l'océan Austral est compris à l'intérieur du 60° parallèle SUD. Cette frontière, à la différence des autres, est marquée par un courant glaciaire circumpolaire sud, responsable d'une forte différence thermique à cet endroit
- l'océan Arctique présente des frontières plus complexes, en fonction des îles présentes autour du parallèle 80° NORD.

Toutes ces limites définissent les cartes des frontières océaniques comme montrées ci-dessous: (4)



Limites de l'océan Pacifique



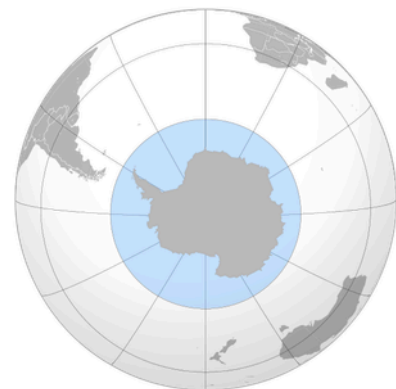
Limites de l'océan Indien



Limites de l'océan Atlantique



Limites de l'océan Arctique



Limites de l'océan Antarctique

Figure 3, Limite des océans

Bien que les termes de « mer » et « d'océan » soient proches, il existe bel et bien une différence entre les deux. Un océan représente un vaste étendu d'eau salée dont la constitution est ou paraît uniforme, au contraire des mers, qui sont de grandes étendues d'eau salée présentant une quelconque individualité.

Ainsi, les mers peuvent être considérées comme des fractions particulières des océans. Il existe plusieurs catégories de mers : les mers continentales communiquent avec les océans via un détroit (un bras de mer mettant en relation deux étendues d'eau), les mers fermées, qui peuvent être considérées comme de grands lacs salés... Le tableau 1 qui suit associe les différentes mers à leur océan.

Tableau 1, Mers du monde et océans dont elles dépendent

Océan Atlantique	(Au nord)	Mer du Nord. Manche. Mer Celtique, Mer d'Irlande. Mer de Norvège, Mer Baltique, Mer du Groenland (partie sud), Mer du Labrador
	Mer Méditerranée	<u>Occidentale</u> : Mer Ligurienne, Mer Tyrrhénienne <u>Centrale</u> : Mer Ionienne, Mer Adriatique <u>Orientale</u> : Mer de Crète, Mer Égée, Mer du Levant, Mer de Marmara, Mer Noire, Mer d'Azov
	Mer des Sargasses et Mer des Caraïbes	
Océan Pacifique	Mer de Béring, Mer d'Okhotsk, Mer du Japon, Mer Jaune, Mer de Chine Orientale, Mer de Chine du Méridionale, Mer de Malaisie, Mer de Sulu, Mer des Célèbes (Sulawesi), Mer des Moluques, Mer de Bismarck, Mer des Salomon, Mer de Corail, Mer de Tasman	
Océan Indien	Mer Rouge, Mer d'Oman, Mer d'Andaman, Mer de Java, Mer de Flores, Mer de Bali, Mer de Sawu, Mer de Banda, Mer de Timor, Mer d'Arafuna, Mer de Céram, Canal de Mozambique	
Océan Austral	Mer de Ross, Mer d'Amundsen, la Mer de Bellingshausen, Mer de Ross, partie Sud de la Mer d'Ecosse, Mer de Weddell, Mer du roi Haakon VII, Mer de Mackenzie, Mer de Davis, Mer d'Urville	
Océan Arctique	Mer de Beaufort, Mer du Groenland (partie Nord), Mer de Wandel, Mer de Lincoln, Mer des Tchouktches, Mer de Sibérie Orientale, Mer de Laptev, Mer de Kara, Mer de Barents	

Les océans et les mers recouvrent par conséquent la majeure partie du globe. Pourtant, bien qu'omniprésents, ces derniers ont été très peu étudiés scientifiquement, du fait des difficultés techniques et du coût important généré par les recherches. Un autre terme qu'il est possible de retrouver pour décrire une avancée océanique dans les terres est celui de « golfe maritime ». Ces éléments définissent la carte du monde tel que nous le connaissons de nos jours.

Mis à part la frontière physique et thermique de l'océan Austral, nous pouvons constater que les frontières océaniques sont définies par l'Homme. Lors des recherches scientifiques, il sera alors

intéressant d'appréhender les océans comme un ensemble de gradients plutôt que comme les entités séparées qu'a défini l'Homme au cours des siècles.

Un parallèle pourrait être établi entre l'Océan et le corps Humain. Alors que chacun représente un ensemble, une unité, il est plus intéressant de considérer chaque partie du corps et de l'océan comme différent par sa composition et ses propriétés.

Comprendre les caractéristiques précises d'une partie de l'océan permettra ainsi de comprendre quels organismes y résident et comment ils vivent. On pourra ensuite extrapoler à partir de ces éléments quel organisme pourrait être intéressant dans l'étude ou la thérapeutique d'une pathologie précise.

b) Composition de l'eau de mer

Il est primordial de connaître la composition de l'Océan de la manière la plus précise possible. En effet, cette connaissance permettra la compréhension des éléments indispensables à la vie marine, et permettra de reproduire ce milieu pour élever certaines espèces ou rendre possible la culture de cellules ou d'organismes marins.

Cette partie abordera les principales caractéristiques de l'eau retrouvée dans l'Océan.

1. La salinité :

L'une des principales caractéristiques de l'eau de mer est sa salinité, qui la différencie de l'eau douce. Il existe plusieurs définitions de la salinité, dont la plus simple est « la quantité totale d'éléments dissous en gramme dans un kilogramme d'eau de mer ».

Cette définition est cependant insuffisante : en effet, elle prend en compte tous les éléments, indépendamment des capacités de mesure dont on dispose. Ainsi, pour mesurer la salinité de l'eau de mer, il faudrait être en mesure d'ajouter au poids des éléments solides celui des éléments gazeux, par exemple.

En 1889, le Conseil International pour l'Exploration des Océans (CIEM) redéfinit la salinité comme suit : la salinité correspond au « total d'éléments solides en gramme contenus dans un kilogramme d'eau de mer quand tout le carbonate a été converti en oxyde, quand le brome et l'iode ont été remplacés par le chlore et que toute la matière organique a été oxydée. » Cette définition publiée en 1902 est, contrairement à la définition simple, utilisable sur le terrain. Elle est cependant toujours complexe à mettre en œuvre.

C'est en 1969 que Wooster, Lee et Dietrich simplifient la méthode de mesure de la salinité des eaux grâce à l'équation suivante :

$$\text{Salinité} = 1,80655 \times Cl,$$

Avec Cl la masse d'argent nécessaire à la précipitation complète des halogènes dans 0,3285234 kg d'eau de mer. (5)

Cette équation est possible grâce au fait que l'ensemble des éléments ioniques (à savoir le chlore, le sodium, le magnésium, le soufre, le calcium, le potassium, le brome, le carbone, le strontium, le bore...) sont présents en proportions constantes dans l'ensemble de l'eau de mer (comme montré sur le tableau 2 ci-dessous).

Il existe cependant une exception : les eaux fraîches des estuaires présentent des proportions ioniques différentes par rapport aux océans du globe. Cette formule ne sera donc pas applicable en ces points particuliers.

Tableau 2, Proportion des éléments ioniques dans l'océan

ION	POURCENTAGE
Chlore	55,30%
Sodium	30,80%
Sulfate	7,70%
Magnésium	3,70%
Calcium	1,20%
Potassium	1,10%

Ces éléments ioniques sont aussi appelés « constituants primaires » ou constituants « conservatifs ».

2. Les constituants secondaires

Dans la mer, plusieurs éléments inconstants sont également présents : ce sont les « constituants secondaires », ou « non constitutifs ». Ils sont présents en faible quantités, qui varient en fonction du temps et du lieu.

On retrouve entre autres dans cette catégorie les éléments minéraux azotés (nitrites, nitrates...) et phosphorés (phosphates...). Ces éléments sont utilisés par les végétaux chlorophylliens pour synthétiser la matière vivante. Ainsi, leur concentration augmente dans les profondeurs où la lumière n'est pas présente, rendant impossible la photosynthèse.

Parmi ces éléments figurent également les oligominéraux (cuivre, cobalt...), les substances organiques (protéines, acides aminés, glucides.). (3)

L'eau de mer pourrait être définie comme une solution saline complexe : elle renferme presque tous les éléments naturels (92 au total), dont certains sont quasi-exclusifs au milieu marins.

Nous allons illustrer cette diversité chimique de la mer en nous appuyant sur le tableau périodique des éléments ci-dessous :

Tableau périodique des éléments chimiques

Le tableau périodique des éléments chimiques est présenté ci-dessous, avec une légende indiquant les états physiques et les catégories d'éléments.

Légende :

- nom de l'élément **gas**, **liquide** ou **solide** à 0°C et 101,3 kPa
- numéro atomique
- symbole chimique
- masse atomique relative (ou celle de l'isotope le plus stable)
- © IUPAC / Atomic Weights 2013 + rev. 2015

Catégories d'éléments :

- Métaux :** Alcalins, Alcali-terreux, Lanthanides, Actinides, Métaux de transition, Métaux pauvres, Métaux lourds.
- Non métaux :** Autres non-métaux, Halogènes, Gaz nobles, Non classés.
- Autres :** primordiaux, désintégrés ou d'autres éléments, synthétiques.

Figure 4, Tableau périodique des éléments

Les quatre halogènes de ce tableau (fluor, chlore, brome et iode) sont présents dans les océans : le chlore et le brome sont des éléments fréquemment retrouvés dans les dérivés lipidiques de certaines éponges et de certains cnidaires, dans certaines algues vertes et rouges. L'iode est présent en fortes quantités dans les algues brunes (du genre *Laminaria*, montré sur la photo ci-dessous). Cet élément a été découvert en 1811 par Bernard Courtois dans les cendres d'algues marines. On retrouve également quelques éléments fluorés dans le milieu marin, bien que ceux-ci soient particulièrement rare à l'état naturel.



Figure 5, *Laminaria digitata* sur herbier

Certains hydroperoxydes et peroxydes (dérivés oxygénés) rares sont présents chez les éponges de la classe des *Homoscleromorphas*. Les océans sont aussi un réservoir de molécules uniques, comme la maitotoxine (montrée dans la figure ci-dessous), molécule naturelle non protéique et non polymérique et toxine non protéique la plus puissante à ce jour. Le soufre est lui aussi présent en forte quantité dans les algues rouges et brunes et les éponges. Certaines algues brunes incorporent même l'arsenic, ensuite consommé par les mollusques herbivores.

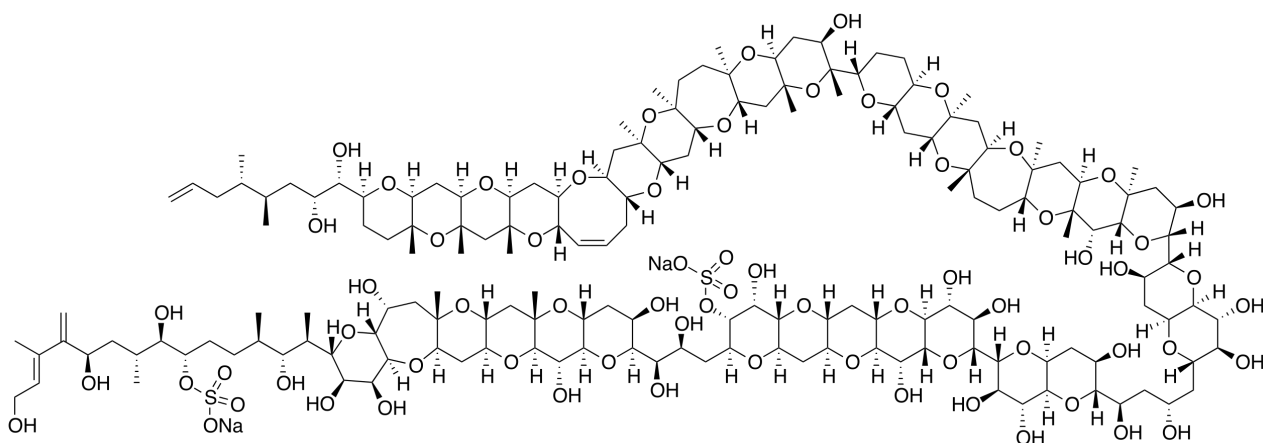


Figure 6, Maitotoxine

Ces constituants, actuellement assez peu étudiés, semblent cependant essentiels dans la croissance des espèces maritimes et permettraient la sélection de certaines espèces animales et végétales dans des milieux précis, au détriment d'autres espèces.

3. Les gaz dissous

Dans l'océan, on retrouve aussi certains gaz dissous, dont la présence résulte d'un échange constant avec l'atmosphère. Il est intéressant de noter que la concentration de gaz dissous présents dans l'océan est inversement proportionnelle à la température et à la salinité de l'eau.

La teneur en oxygène de l'océan est fonction de deux variables principales. L'une d'elle purement mécanique, est en fait un processus de diffusion entre l'atmosphère et la couche superficielle de l'océan, puis entre les différentes couches au sein de l'eau. L'oxygène atmosphère passe donc dans la couche la plus externe des océans, et se diffuse vers les couches les plus profondes.

L'autre variable est beaucoup plus complexe : elle dépend en effet de processus biologiques, comme par exemple la production d'oxygène en milieu « éclairé », produit par les végétaux photosynthétiques.

De plus, l'oxygène est consommé par les êtres vivants, par les bactéries hétérotrophes, ainsi que par divers processus d'auto-oxydation. Plus le milieu est dense en composés organiques, et plus la consommation d'oxygène sera importante. En surface, l'eau est presque saturée en oxygène (soit 8mL/L dans les eaux antarctiques et 4,5mL/L dans les eaux tropicales et équatoriales). La teneur en oxygène diminue ensuite avec la profondeur jusqu'à atteindre son minimum, correspondant à la présence d'une quantité importante de matière organique (le plancton).

De même, le gaz carbonique, à considérer comme un ensemble de carbonate et bicarbonate en équilibre (formant le système du CO_2), provient d'une part de l'atmosphère et d'autre part de la respiration des êtres vivants présents dans l'océan. Ce gaz carbonique est une source indispensable de carbone nécessaire à la synthèse de carbonate de calcium, qui entre dans la composition du squelette de nombreux organismes. (3) Ce cycle carbonique est présent sur le schéma ci-dessous :

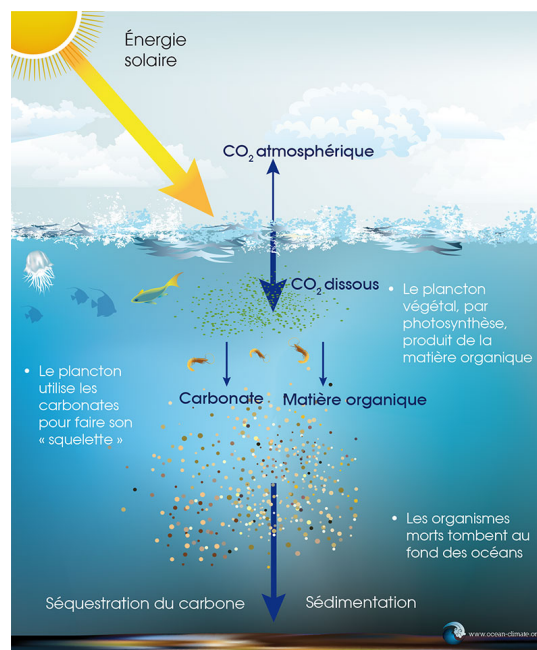


Figure 7, Cycle carbonique océanique, selon ocean-climate.org

La quantité de carbone absorbée par l'océan est très importante : en effet 30% des émissions anthropiques de dioxygène de carbone sont captées par l'océan, lui valant le surnom de « pompe à carbone ».

4. Exemple d'utilisation de l'eau de mer

L'eau de mer, par les propriétés qui ont été abordées ci-dessus, peut être utilisée dans plusieurs traitements en tant que tel.

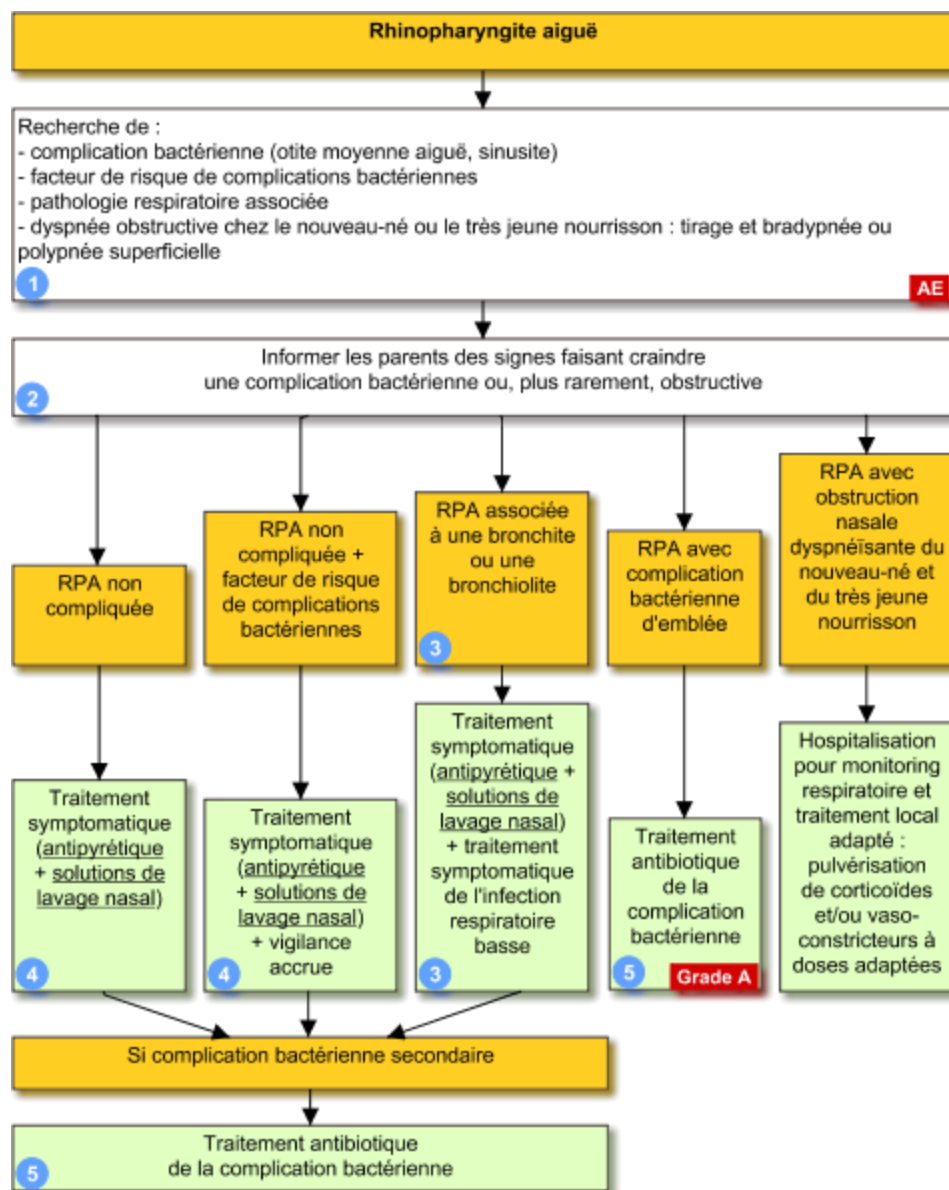


Figure 8, Prise en charge de la rhinopharyngite aiguë

On pense par exemple aux sprays indiqués dans l'hygiène du nez, composés d'eau de mer extraite et purifiée, utilisée dans le traitement des rhinopharyngites non compliquées, comme décrit dans l'arbre décisionnel ci-dessus (figure 8). Ce traitement, cité dans les références (6), est en effet systématiquement proposé dans le traitement de la rhinopharyngite non compliquée.

c) Pression et températures

Outre leur superficie et leur composition, les océans se distinguent par des températures, des profondeurs, des topographies différentes. Toutes ces caractéristiques rendent uniques ces milieux et en font des cibles de recherches aussi denses que complexes.

La température des océans est soumise à deux types de facteurs. Tandis que les premiers augmentent la température de l'eau (comme le Soleil, la condensation de la vapeur d'eau...), les autres la diminuent (transfert de chaleur par convection vers l'extérieur, évaporation...). La température de l'eau dépend également de la latitude à laquelle on se situe : elle augmente quand la latitude baisse. Elle est influencée par les saisons (on observe une faible variation saisonnière dans les eaux tropicales tandis que la température des eaux tempérées peut varier de 12 à 13°C (3)). Les variations diurnes sont assez faibles.

Voici un exemple d'image obtenue par satellite illustrant la différence de température à la surface des océans en fonction de la latitude :

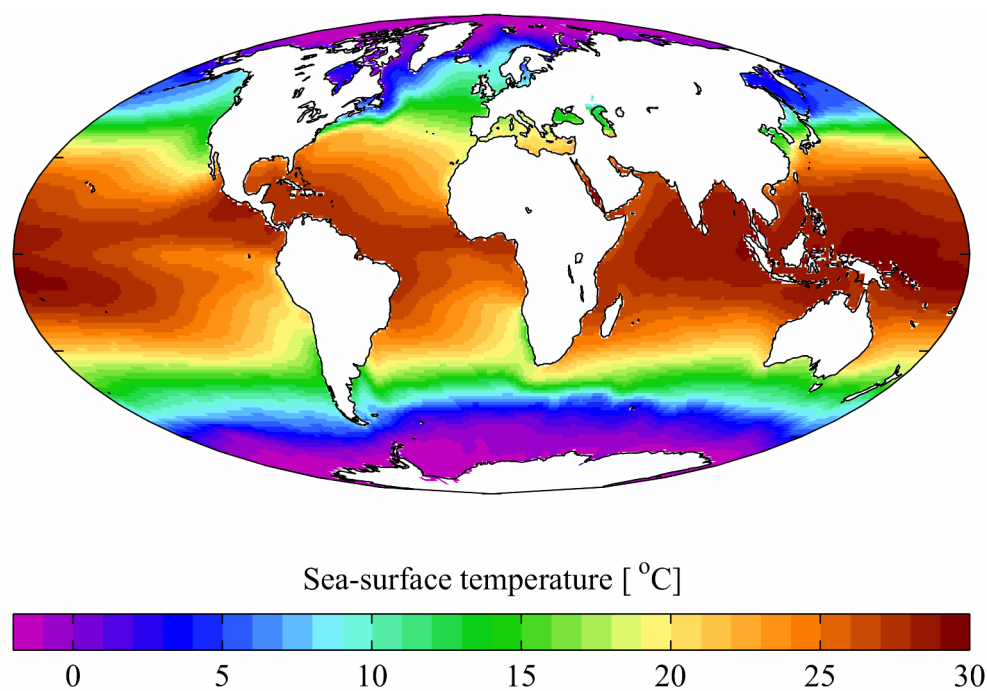


Figure 9, Températures à la surface des océans

On observe certaines variations de température en fonction de la profondeur de l'eau. Cependant, alors qu'on pourrait s'attendre à une diminution proportionnelle de la température avec la profondeur, on observe au contraire des discontinuités thermiques. On parle alors de thermoclines (couche d'eau marine à fort gradient thermique vertical). (7) La température diminue de l'eau diminue

jusqu'à environ 4000 mètres de profondeur, point au niveau duquel la pression hydrostatique élève cette température.

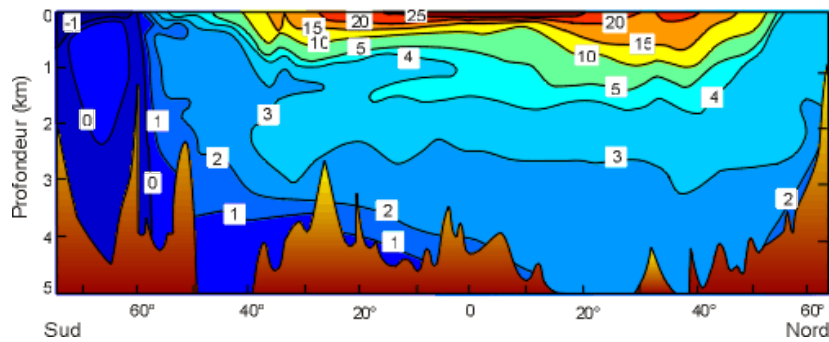


Figure 10, Exemple de distribution verticale de températures (en °C) à l'ouest de l'océan Atlantique

Dans l'exemple ci-dessus (8), on distingue approximativement trois zones : la première est une zone de surface, où la température est plus importante du fait des rayonnements solaires. La seconde zone correspond à une diminution des températures liés à la profondeur, avec une illustration du phénomène de thermocline décrit plus haut. Enfin, dans la couche profonde, on distingue une élévation des températures liée à la pression. Quand la température de l'eau diminue en dessous de son point de congélation, on peut observer la formation de glace. Ces deux paramètres (température et pression) influencent à la fois la densité de l'eau de mer mais aussi sa viscosité, ils sont donc à considérer simultanément.

d) Méthodes de mesure

La mesure de la température de l'océan a longtemps été un sujet complexe. Les scientifiques ont très vite constaté qu'il est impossible de plonger un thermomètre dans les profondeurs pour ensuite relever sa température, car cette dernière sera influée par les eaux des couches marines supérieures ainsi que par la température externe, qui entre en jeu au moment où le thermomètre est relevé. Les premières mesures fiables ont été effectuées grâce au thermomètre minimum-maximum en forme de U, (montré ci-dessous) qui permettait de lire la température minimale atteinte par l'outil.

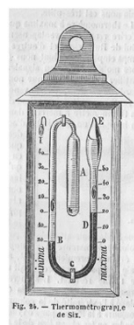


Figure 11, Schéma de thermomètre minimum-maximum

Ce type de thermomètre à alcool, grâce à un système d'index en fer magnétisé, permet de relever la température minimale ainsi que la température maximale atteinte, ce qui le rend utilisable pour mesurer la température des profondeurs des océans. Il est formé d'un capillaire en forme de U, d'un bulbe de mesure sur sa branche gauche et d'une ampoule à droite, qui permettra l'expansion de l'alcool. Quand la température augmente, l'alcool contenu dans le réservoir à gauche du thermomètre se dilate, ce qui pousse la colonne de mercure située au bas du U. La branche de droite est alors soulevée. Quand la température diminue, le mercure redescend, l'index de droite reste en place grâce à une force magnétique et l'index de gauche est soulevé. Il est donc possible de voir la température minimale sur la gauche et la température maximale sur la droite. Avec cet outil, la mesure des températures profondes marines est donc devenue possible.

Plus tard, c'est le thermomètre à renversement qui est utilisé, inspiré de l'étranglement des thermomètres médicaux.

De même, les mesures sont au début relevées de manière ponctuelle, jusqu'à l'invention du bathythermographe (ci-dessous) en 1937.



Figure 12, Bathythermographe

Bien plus tard, avec l'avènement de l'électronique, les relevés sont effectués à l'aide de sonde CTD (Conductivité, température, pression) à partir des années 1970. Les capteurs sont placés en continu sur des bouées et permettent une lecture continue des paramètres de l'océan.

Toutes ces méthodes sont dites In Situ : on relève les paramètres directement au contact de l'océan.

Il existe une autre méthode de relevé, dite par satellite, ou à distance : un radiomètre placé sur un satellite détecte les Infra-rouge ainsi que les micro-ondes (qui traversent les nuages) et permettent ainsi l'obtention d'une image thermique de l'ensemble de l'océan. Ce type de mesure ne permet cependant pas l'obtention de données concernant les couches profondes de l'océan.

Les océans, qui représentent une large proportion de la planète, peuvent donc à la fois être caractérisés comme constants et changeants. A leurs concentrations ioniques exceptionnellement stables, permettant une mesure rapide et aisée de la salinité, s'opposent des caractéristiques variables en fonction de la profondeur de la latitude et longitude... L'océan représente aussi un réservoir de nouvelles molécules et d'éléments chimiques uniques, intéressants à la fois pour le domaine de la recherche et de l'industrie. Tous ces éléments ont nécessité de nombreuses avancées technologiques pour pouvoir être étudiés, avec l'invention de plusieurs thermomètres puis de nouvelles méthodes de relevés modernes, et ce n'est qu'au cours des siècles que l'Homme a pu étendre ses connaissances à ce propos.

III.2. Un milieu en mouvement constant...

« La mer, respire, de toutes ses marées ». Ce haïku (court poème d'origine japonaise) écrit par Cécile Cloutier (poétesse d'origine Québécoise) reflète l'aspect de l'océan sur lequel portera cette partie : ses mouvements. L'océan est le siège de nombreux courants qui lui imposent un mouvement permanent, que nous aborderons dans la première partie de ce chapitre. Il est aussi un lieu de mouvement animal important, comme nous le verrons dans la seconde partie.

a) Les courants marins

Les courants marins sont définis par les mouvements de l'eau des océans. Ces derniers peuvent être générés par différentes forces, à savoir les différences de densité entre deux couches aqueuses, ainsi que par l'action des vents.

Les différences de densité des couches aqueuses sont dues à des différences de températures et de densités, comme nous l'avons abordé dans la partie b. La couche la plus dense cherche ainsi à s'enfoncer sous la couche la moins dense, entraînant l'apparition de courants marins profonds (montrés dans la figure 13 ci-dessous). (9)

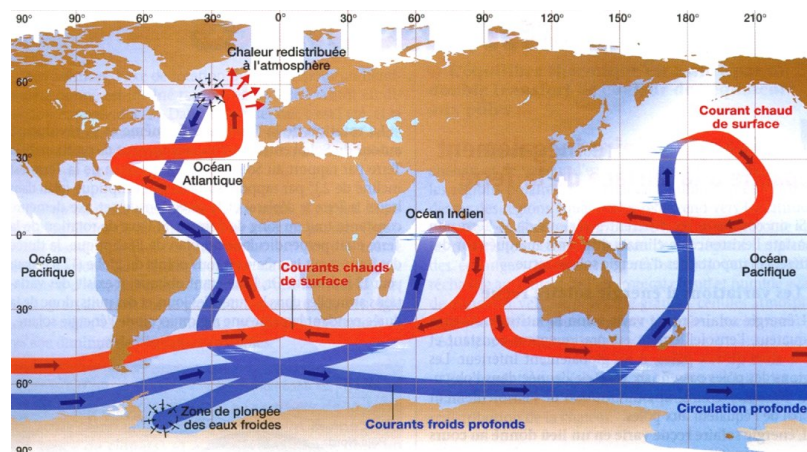


Figure 13, Courants marins profonds

Les vents, quant à eux, entraînent surtout des courants de surface. (10)

b) Les migrations

Pour étudier les migrations des espèces marines, il existe plusieurs méthodes. La plus ancienne consiste en l'observation des différentes espèces. Le comportement des individus, la direction qu'ils empruntent est ainsi notée par des observateurs. Cette méthode est cependant insuffisante, car elle ne permet pas d'identifier de manière précise un individu. La mise en place de bagues, que l'on accroche aux nageoires des poissons pour permettre leur reconnaissance au fil de leur migration, a permis de résoudre ce problème.

De nombreuses espèces marines migrent au grès des saisons. Par exemple, parmi les différentes espèces de poissons, on distingue les espèces océanodromes des espèces diadromes et catadromes. Les espèces océanodromes sont des espèces qui vivent et se reproduisent en milieu marin. Elles migrent d'un milieu aquatique marin à un autre milieu marin. La migration ne s'effectue pas forcément d'une mer chaude vers une mer froide : les déplacements des espèces dépendent à la fois de la température mais aussi de la salinité, des courants marins. Les espèces diadromes sont des espèces changeant de milieu en période de reproduction : elles peuvent passer d'un milieu salé à un milieu doux. C'est le cas du saumon, qui vit en milieu salé et va se reproduire en eaux douces. Enfin, certaines espèces sont dites catadromes : elles passent leur vie en eaux douces et se reproduisent dans l'océan. C'est par exemple le cas de l'anguille. Les mammifères marins sont eux aussi des espèces migratrices, capables de parcourir de grandes distances pour atteindre leur lieu de reproduction. Ce phénomène est particulièrement connu du fait des grandes chasses à la baleine du 19^{ème} siècle, où les baleines et autres cétacés étaient attendus sur leurs lieux de reproduction ou de passage.

De par ces deux exemples, nous voyons que la mer est un milieu mouvant, en constant équilibre. Cet équilibre fragile est dépendant des conditions physico-chimiques (températures, salinités). Ainsi, le moindre changement de ces conditions pourrait entraîner des modifications des courants marins mais aussi dans les migrations des espèces marines, ce qui pourrait avoir des influences sur certaines activités humaines, à l'image de la pêche.

III.3. ...Et pourtant extrêmement conservé

L'océan est caractérisé par sa stabilité et sa continuité. Ces deux critères ont favorisé une stagnation dans l'évolution des espèces au cours des années. En effet, quand le milieu extérieur ne varie pas (et le milieu océanique, à l'image de sa stabilité ionique, abordée dans la première partie, ne subit pas de fortes variations), les différentes espèces ne subissent pas de stress particulier et n'ont en conséquence pas à réagir et à évoluer. La continuité de l'océan limite les effets de niches

écologiques : une espèce qui migre dans différents océans n'aura pas à s'adapter à un environnement différent car l'océan est continu. Ainsi, la diversité des espèces marines ne semble pas aussi importante que la biodiversité terrestre. Cette diversité sera abordée dans la partie suivante.

III.4. Biodiversité marine :

La biodiversité marine, dont la définition sera abordée dans la première partie de ce chapitre, est un sujet d'intérêt croissant dans le monde. Le premier ouvrage de zoologie moderne, « *Historiae animalium* » datant de 1551 et écrit par Conrad Gessner (naturaliste suisse) fait déjà état d'organismes marins. Ces organismes étaient alors classés par ordre alphabétique, car il semblait impossible d'établir une autre classification. Les recherches scientifiques modernes ont permis l'établissement d'un arbre phylogénétique, qui sera traité dans la seconde partie de ce chapitre. Cet arbre permet une classification scientifique de tous les organismes vivants, y compris des organismes marins. Nous détaillerons dans la troisième partie de ce chapitre la biodiversité marine, en nous attachant aux règnes animaux, fongiques et végétaux et en donnant quelques exemples de la multitude d'organismes présents dans les océans.

a) La biodiversité

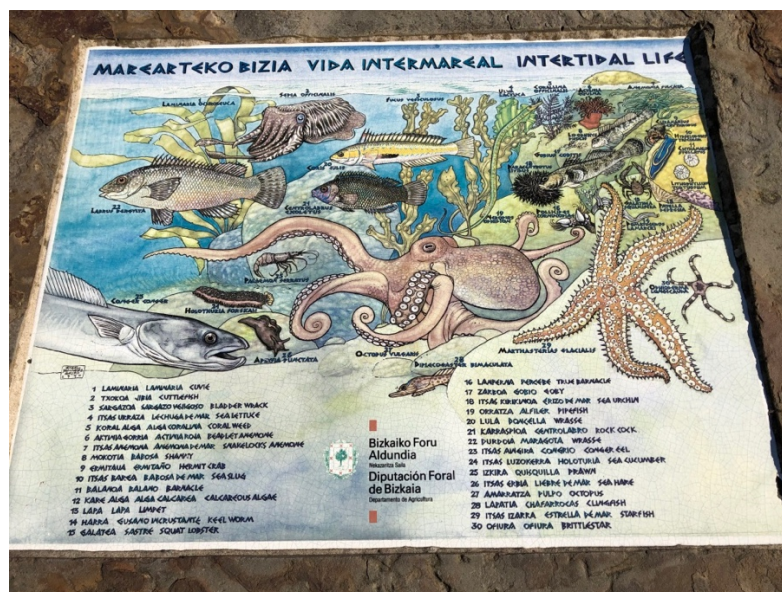


Figure 14, Photo prise à Gaztelungaxte, présentant une partie de la biodiversité marine

Le mot biodiversité a été créé par W.G. Rosen en 1985. Ce terme a été repris et popularisé médiatiquement lors du sommet de la Terre qui s'est déroulé à Rio de Janeiro en 1992. La biodiversité, contraction de diversité biologique, est définie par « la variabilité des êtres vivants de toute origine y compris, entre autres, les écosystèmes aquatiques et les complexes écologiques dont ils font partie : cela comprend la diversité au sein des espèces, ainsi que celle des écosystèmes ».

Cette définition instaurée lors de la conférence de Rio de 1992 (11) permet de définir trois niveaux de biodiversité :

- les écosystèmes (diversité écologique)
- les espèces (diversité spécifique)
- les gènes (diversité génétiques)

Les espèces sont replacées dans leur environnement et l'importance génétique des espèces mais aussi des individus est mise en avant dans cette définition. Plusieurs problématiques se dégagent de cette définition, comme l'étude des mécanismes biologiques fondamentaux, à savoir les différents mécanismes de la spéciation et de l'évolution elle-même, l'étude de la notion d'écologie fonctionnelle (l'étude du rôle d'un individu dans son milieu de vie), mais aussi l'étude de l'attrait que peuvent revêtir les différentes espèces pour l'homme, et enfin la question de la préservation et de la protection des milieux naturels.

La biodiversité est à l'heure actuelle étudiée, quantifiée (dans la mesure du possible) et protégée par de nombreuses structures et institutions nationales et internationales, comme l'INPN (Institut National du Patrimoine Naturel) en France (12), le site DORIS pour la biodiversité marine (13) et bien d'autres.

b) L'arbre du vivant :

La biodiversité est donc composée de différentes espèces, qui ont été organisées par l'Homme, et classées de manière phylogénétique comme montré ci-dessous :

Arbre phylogénétique de la vie

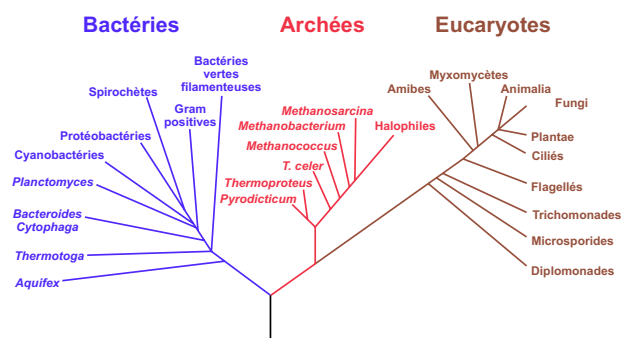


Figure 15, Arbre phylogénétique de la vie

Sur cet arbre phylogénétique, on distingue 3 branches principales : celle des bactéries, des archées et des eucaryotes. Les bactéries sont des organismes unicellulaires ne possédant ni noyau ni organites intracellulaires, tout comme les archées. Les bactéries se distinguent des archées par leur membrane cellulaire. Chez les bactéries, on retrouve des membranes où les acides gras sont liés au

glycérol par des liaisons ester contre des chaînes éther chez les archées. Les archées sont également les seules à utiliser un métabolisme méthanogène (produisant du méthane).

Ci-dessous un tableau présentant les principales différences entre archées, bactéries et eucaryotes.

Tableau 3, Différence entre eucaryotes et procaryotes

Caractères	Cellules de type procaryote		Cellules eucaryotes		
	Archées	Bactéries	Cytoplasme	Mitochondrie	Chloroplaste
Matériel génétique	- ADN nu au sein d'un chromosome unique, le plus souvent circulaire - Gènes en mosaïque	- ADN nu au sein d'un chromosome unique, le plus souvent circulaire - Gènes en continu (rarement en mosaïque)	- ADN (associé à des protéines, les histones) au sein de plusieurs chromosomes linéaires, localisés au sein du noyau (double membrane) - Gènes en mosaïque (avec introns)	- ADN nu au sein d'un chromosome unique, circulaire - Gènes en continu (rarement en mosaïque)	- ADN nu au sein d'un chromosome unique, circulaire - Gènes en continu
Reproduction	- Division en 2	- Division en 2	- Mitose, méiose et fécondation	- Division en 2	- Division en 2
Ribosomes (machinerie de synthèse des protéines)	- de type "70S", libre - quelques traits similaires à ceux des eucaryotes	- de type "70S", libre	- de type "80S", libres ou fixés sur le réticulum endoplasmique	- de type "70S", libre	- de type "70S", libre
Taille	~ 1-10 voire 100 microns	~ 1-10 voire 100 microns	~ 10-500 microns, parfois plus petits	~ 1-10 microns	~ 1-10 microns
Nature des lipides membranaires	- Phospholipides avec liaisons de type éther	- Phospholipides avec liaisons de type ester - Glycolipides (chez les Cyanobactéries)	- Phospholipides avec liaisons de type ester	- Phospholipides avec liaisons de type ester	- Phospholipides avec liaisons de type ester - Glycolipides
Compartimentation	- non	- souvent non - parfois oui (thylacoïdes chez les Cyanobactéries, espace périplasmique chez les bactéries Gram ⁺ , ...)	- Oui (réticulum, membrane nucléaire, appareil de Golgi, etc...)	- Non - Organite limité par une double membrane	- Oui (thylacoïdes) - Organite limité par une double membrane (enveloppe)
Cytosquelette	- probable, mais pas connu	- Oui, mais ne déplace pas les composants cellulaires	- Oui, déplace les composants cellulaires	- Non	- Non
Métabolisme	- Chimiosynthèse ou hétérotrophie	- Chimiosynthèse ou photosynthèse, ou hétérotrophie (respiration et/ou fermentation)	- Fermentation	- Respiration (voire fermentation chez certains anaérobies)	- Photosynthèse

Le lien entre procaryotes et eucaryotes, possédant un ancêtre commun, Lokiarchaeota, a été démontré récemment en Arctique, découverte publiée dans le Nature, permettant de mettre un nom sur un embranchement de l'arbre phylogénétique. (14)

Qu'en est-il de la représentation de cet arbre au niveau marin ?

c) Les êtres vivants présents dans les océans :

Dans les océans, on peut retrouver des représentants de chacune des branches de cet arbre phylogénétique.

- Les Archées :

Les archées, vivant souvent dans des conditions particulières, trouvent dans les océans de nombreux avantages : températures très élevées ou au contraire très basses, pression élevée, salinité importante, autant d'éléments qui favorisent la vie de certaines archées. C'est par exemple le cas de *Pyrococcus* CH1, une archée nécessitant des conditions bien particulières pour survivre : une

température située entre 85 et 105 degrés (avec un optimum de 98 degrés) ainsi qu'une pression comprise entre 150 et 1200 bars (520 étant son optimum). Cette archée est le premier organisme hyperthermophile et piézophile obligatoire (ne vivant qu'en pression hyperbare) connu. Il a été découvert en 2009 par une équipe constituée de membres de l'Ifremer, du CNRS et de l'Université de Bretagne Occidentale en collaboration avec l'institut d'Océanographie de Xiamen (Chine) et le Laboratoire des sciences de la Terre (UMR sous la tutelle du CNRS, de l'ENS Lyon et de l'Université de Lyon). (15) *Pyrococcus* CH1 a été découverte à 4100 mètres de profondeur, sur le site hydrothermal le plus profond connu, « Ashadze », atteint grâce au ROV Victor 6000, en photo ci-dessous. (16)



Figure 16, Photo du robot Victor 6000, © Ifremer. Photo M. Bonnefoy.

- Les Bactéries :

Les bactéries sont présentes sur l'ensemble de la Terre et les océans n'y font pas exception. On retrouve même dans les océans une grande présence bactérienne, que l'on estime par quelques centaines à quelques millions d'individus par millilitre d'eau de mer. Les bactéries marines représenteraient ainsi 10% de la masse carbonée de la planète. (17) On distingue deux types de bactéries : les bactéries libres et les bactéries associées. Tandis que les premières sont présentes en suspension dans le milieu, les secondes sont retrouvées associées à des surfaces (artificielles ou naturelles) ainsi qu'à des organismes. Elles sont présentes dans tous les océans et dans tous les milieux, y compris ceux semblant inappropriés à la vie (températures et pression extrêmes, salinité importantes...). Le rôle des bactéries, malgré leur forte présence, est à l'heure actuelle peu étudié.

- Le règne animal :

Il est extrêmement compliqué de faire un résumé de cet immense ensemble, qui pourrait faire l'objet d'une étude à part entière. Aussi, cette partie essaiera de résumer brièvement les différents embranchements et règnes présents dans l'océan, au détriment d'une description précise de ceux-ci. Les données présentées sont tirées du site WoRMS (18). Ce choix est arbitraire, plusieurs classifications existant à ce jour. Le règne animal est divisé en 33 phylums distincts (ou embranchements). Il est intéressant de constater que, parmi ces 33 phylums, la plupart ont des représentants marins. Certains phylums sont même exclusivement marins, étant apparu dans celle-ci

et ne l'ayant jamais quitté. C'est par exemple le cas des placozoaires, cténophores, échinodermes... On retrouve ainsi dans les différents océans des espèces uniques, et sûrement des mécanismes de vies uniques.

Le tableau ci-dessous, illustré par les figures 17 et 18, présente des exemples d'espèces appartenant au règne animal retrouvées dans les océans.

Tableau 4, Exemples d'organismes marins

Embranchement	Exemples d'espèces	Habitat	Particularités
Cnidaires	<i>Physalia physalis</i> , la physalie	Océan Atlantique et Indien	Peut-être à l'origine d'envenimations humaines
Echinoderme	<i>Acanthaster planci</i> , Couronne d'épine	Récifs coralliens des régions tropicales	Se nourrit de corail. Pique venimeuse pour l'homme.
Mollusque	<i>Octopus vulgaris</i> , Pieuvre commune	Répartition mondiale	Céphalopode doté d'une intelligence développée.
Porifera	<i>Spongia officinalis</i> , Éponge officinale	Méditerranée	Autrefois utilisée comme éponge de toilette, elle est aujourd'hui protégée.
Chordés	<i>Ornithorhynchus anatinus</i> , Ornithorynque	Est de l'Australie	Animal semi-aquatique aux particularités multiples : seul mammifère pondant des œufs, l'un des rares mammifères venimeux ...
	<i>Orcinus orca</i> , Orque	Régions Arctiques et Antarctiques	Mammifère marin de grande taille (peut être dressé par l'Homme pour des spectacles).

	<i>Takifugu rubripes</i> , Poisson-Globe	Méditerranée orientale	Génère une toxine puissante, la tétrodotoxine
--	---	------------------------	---

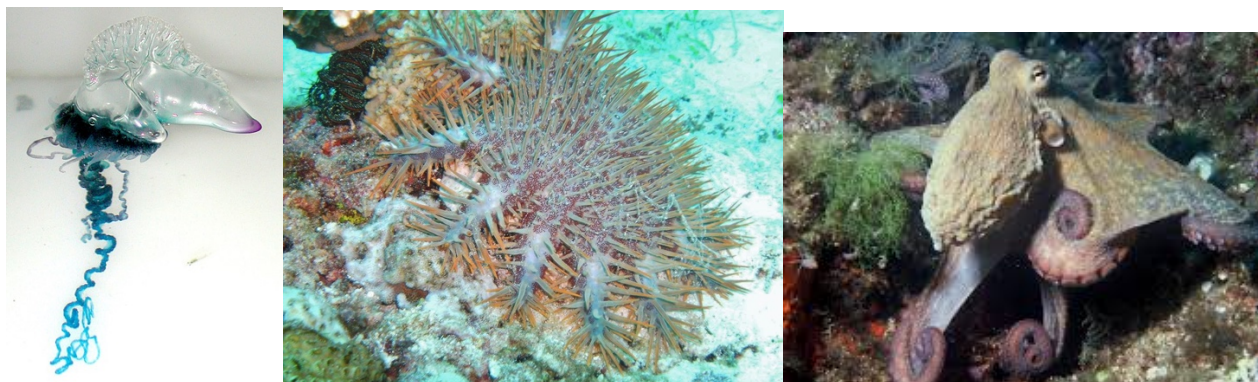


Figure 17, *Physalie* (à gauche), *Couronne d'épine* (au centre) et *Pieuvre commune* (à droite)



Figure 18, *Ornithorynque* (à gauche), *Orque* (au centre) et *Poisson globe* (à droite)

- Le règne fongique :

Le règne fongique et ses applications possibles sont actuellement peu étudiés au niveau de la mer. Ce n'est qu'à partir de 1944 que la connaissance de l'existence de champignons marins se vulgarise, avec les travaux d'Elsa Baghoorn et de David Linder qui décrivent un grand nombre d'espèces fongiques sur le bois en décomposition dans la mer. La description du premier champignon est toutefois antérieure à ces travaux. Elle date en effet de 1849, avec la description de l'espèce *Phaeosphira typharum*, isolée du milieu marin. Plus tard, en 1869, le premier champignon strictement marin fut décrit par Durieu de Maisonneuve et Montagne, *Halottia posidonia*.

Il existe deux types de champignons marins : les champignons marins obligatoires et facultatifs. Les champignons marins obligatoires sont ceux qui ne peuvent croître et sporuler qu'en milieu marin et estuarien tandis que les champignons marins facultatifs sont ceux capables de se développer dans le milieu marin (19) et dans un autre environnement.

Ainsi, la plupart des groupes de champignons sont présents dans l'océan, bien qu'en proportion différente des proportions terrestres. Ils sont à l'heure actuelle peu étudiés, même si on observe de plus en plus de travaux les concernant.

- Le règne végétal :

Il est difficile de parler du règne végétal marin sans l'associer directement aux algues. En effet, on peine à associer tout autre plante au monde marin comme on le fait avec celles-ci. Et pourtant, il est difficile de définir précisément ce qu'est une algue. On ne peut pas les définir au sens taxinomique du terme, car elles sont présentes dans de nombreux taxons non apparentés entre eux. Le plus simple est alors de les définir par ce qu'elles ne sont pas : des embryophytes (souvent nommées plantes terrestres).

Quelles sont les différences entre les algues et les embryophytes ?

La distinction se fait principalement au niveau de leur appareil végétatif (les organes d'une plante ne participant pas directement à la reproduction). En effet, leur appareil végétatif ne comprend pas de feuilles, ni de tiges ou de racines. Une algue serait donc, par simplification, une plante aquatique ne comportant ni feuilles, ni tiges ni racines. Les algues sont présentes dans tout milieu aquatique, sous forme benthique (accrochée aux fonds marins) ou en suspension. Bien que non développé dans cette thèse, on distingue plusieurs types d'algues : les algues rouges, brunes ou vertes. Elles peuvent être utilisées par l'Homme dans de nombreux domaines : en tant qu'aliments, que complément alimentaire (spiruline), comme gélifiant ou épaississant, comme nourriture en aquaculture, comme engrais...

Des représentants de nombreuses branches phylogénétiques siègent au sein de la biodiversité marine. On y retrouve de nombreuses espèces uniques, et de nombreux « mécanismes de vie » absents du monde terrestre. Les connaissances des différents phylums sont encore lacunaires, mais les études du monde marin, de plus en plus nombreuses, permettent de combler ces manques.

IV. Le monde marin, source d'information encore sous-exploitée

« 75% des zones très profondes restent inexplorées », « 90% des fonds marins restent à explorer » (selon Le Monde publié le 26 mars 2012 et Ouest-France publié le 22 février 2017). Si les chiffres diffèrent, le constat est identique : le monde marin est peu connu de l'Homme. Il peut pourtant être une source novatrice de recherche, comme nous le verrons dans le premier chapitre de cette partie, qui sera dédié aux modèles de recherches passés et présents que nous tenons des océans. Nous nous attacherons par la suite à souligner le manque de connaissance de l'Homme sur le milieu marin dans la deuxième partie de ce chapitre. Pour cela, nous regarderons en particulier les différentes lignées du vivant qu'il reste à étudier, notamment la lignée bactérienne, qui a été sous-estimée par les scientifiques jusqu'à récemment, et que l'on commence à étudier plus en détails en raison de leurs nombreuses capacités. Après avoir souligné cet état de fait, nous nous intéresserons dans un troisième chapitre aux différents moyens d'études pouvant être mis en place par l'Homme, dans le but d'améliorer ses connaissances.

IV.1. Des modèles de recherche appartenant au monde marin :

De nombreux être vivants atypiques vivent dans les différents océans du globe. Leurs particularités sont multiples (structures anatomiques particulières, excrétions de molécules n'existant pas chez les êtres vivants terrestres, capacités de survie exceptionnelles...) et font l'objet de nombreuses études dans le monde scientifique. Nous étudierons dans ce chapitre quelques exemples d'organismes particuliers, en abordant dans la première partie du chapitre un organisme utilisé historiquement comme modèle de recherche : le calmar. Dans la seconde partie nous parlerons de l'axolotl, un organisme toujours à l'origine de nombreuses interrogations. Nous terminerons ce chapitre par une étude globale des éponges de mer, largement étudiées à l'heure actuelle pour leur production de molécules atypiques à fort intérêt thérapeutique.

a) L'axone de calmar géant :

Les calmars (ou calamars) représentent l'ordre des Teuthides. Ce sont des animaux décapodes (possédant 10 membres) appartenant à la classe des céphalopodes, de l'embranchement des mollusques (montré sur la figure 19 ci-dessous).

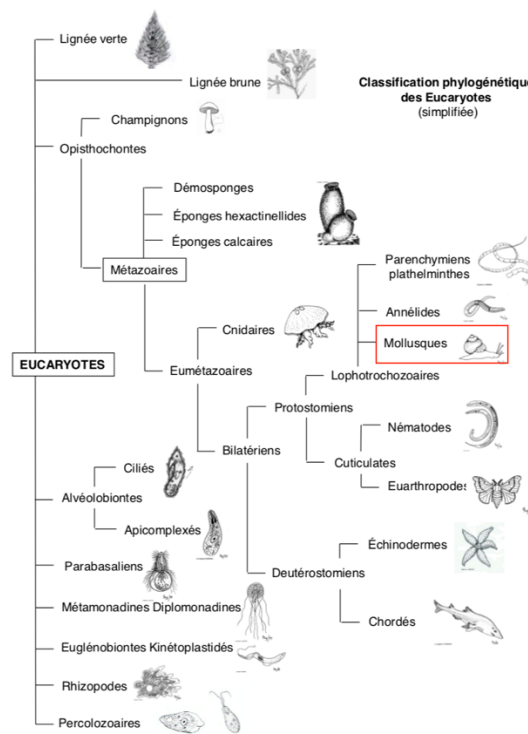


Figure 19, Place des mollusques parmi les eucaryotes

Cet ordre est des plus intéressant de par le comportement et l'intelligence de ses représentants, toujours étudiés à l'heure actuelle et mis en avant dans de nombreux médias mais c'est pour son histoire que cette espèce est abordée dans cette thèse. En effet, c'est grâce à l'axone d'une espèce de calmar, à savoir *Loligo pealei*, qu'Alan Lloyd Hodgkin en collaboration avec Andrew Huxley a réussi à démontrer la théorie du potentiel d'action. Cette découverte leur a permis de remporter le prix Nobel de médecine en 1963.

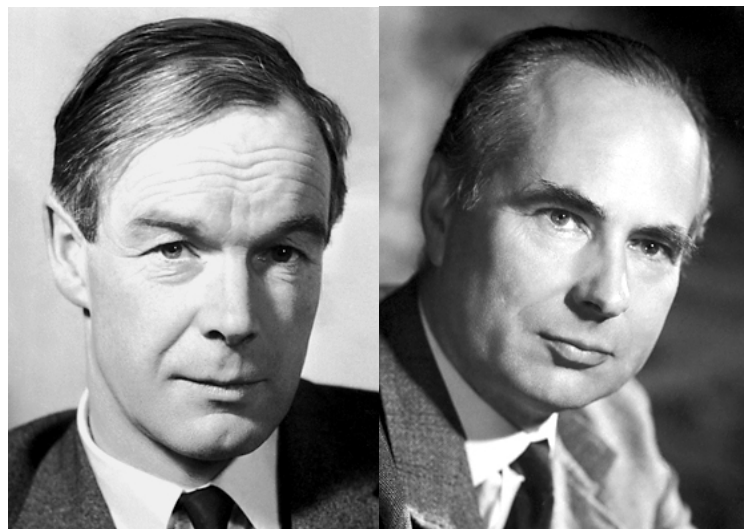


Figure 20, Photos d'Alan Lloyd Hodgkin (gauche) et de Andrew Huxley (droite)

Alan Lloyd Hodgkin (1914-1998) est un physiologiste et biophysicien britannique, qui a été élu

président de la Royal Society de 1978 à 1984 (photo de gauche). Il a étudié au Trinity College, dont Andrew Huxley était également membre. Andrew Huxley (1917-2012) est lui aussi un biophysicien et physiologiste anglais, fait chevalier par la reine Elisabeth II et est élevé à l'Ordre du mérite en 1983.

La particularité de cet axone découle dans sa taille : cette fibre nerveuse peut mesurer 1 millimètre de diamètre (20), ce qui permet aux scientifiques de mesurer les courants ioniques sur cet axone, mesures impossibles à réaliser sur un axone à échelle « humaine ». Hodgkin et Huxley sont parvenus à montrer l'origine d'un potentiel d'action, à savoir l'activation de conductances au sodium et au potassium. Ils ont également mis en avant une théorie à propos de l'existence de « canaux ioniques » qui laisseraient passer sélectivement certains ions. Cette théorie sera confirmée quelques années plus tard par Erwin Neher et Bert Sakmann.

C'est donc grâce au calmar, organisme marin, que le potentiel d'action a pu être étudié initialement, ce qui démontre l'intérêt de ce modèle d'étude dans l'histoire de la physiologie.

b) L'Axolotl :

L'axolotl (*Ambystoma mexicanum*) est une espèce animale de la classe des amphibiens appartenant au genre *Ambystoma*. Son nom se décompose en « atl » signifiant eau et en « xolotl » signifiant Dieu à tête de chien en nahuatl (langue aztèque). Cette espèce amphibienne a été retrouvée dans son environnement naturel au Mexique, dans la région de Xochimilco. Les premières mentions écrites de ces animaux proviennent des colons espagnols, qui l'ont découvert par le biais des aztèques qui le consommaient. On le retrouve dans plusieurs ouvrages comme la « Historia natural de las cosas de la Nueva España » où cette espèce est décrite comme : « unos animalejos en el agua que se llaman axolotl, tienen pies y manos como lagartillos y tienen la cola como anguilas y el cuerpo también tienen muy ancha la boca y barbas en el pescuezo », c'est-à-dire comme des animaux vivants dans l'eau appelés axolotl, qui possèdent des pieds et des mains comme un petit lézard et qui possèdent aussi la queue des anguilles avec une bouche très large, avec de la barbe dans le cou. Cette espèce sera ensuite exportée en Europe en 1864, où elle sera étudiée par de nombreux scientifiques (21). Cette espèce peuple à l'état naturel les lacs en altitude, notamment les cratères volcaniques remplis d'eau. Il est à noter qu'elle est considérée en danger critique d'extinction depuis 2006 (classement effectué par l'union internationale pour la conservation de la nature) (22). Pourtant, l'axolotl est également considéré comme un NAC (nouvel animal de compagnie).

L'axolotl est un animal mesurant environ 25 cm de long, et possédant des branchies à la forme particulière de fougères, habituellement réparties en deux groupes de trois branchies de part et d'autre de sa tête. Il possède également des poumons, qu'il n'utilise pas dans son milieu aquatique (voir figure 19) et un génome de 32 gigabases (contre environ 2,9 gigabases chez l'Homme) qui comprend

de nombreuses séquences répétitives ainsi que de longs introns. C'est à ce jour le plus grand génome étudié. (21) C'est une espèce diploïde, qui possède 14 paires de chromosomes.

Voici la photo d'un axolotl à l'état larvaire :



Figure 21, Axolotl

Ces amphibiens sont actuellement au centre de nombreuses études scientifiques. En effet, ils possèdent deux caractéristiques intéressantes : ils sont capables de rester toute leur vie sous forme larvaire, et de se reproduire sous cette forme. Ce phénomène rare est appelé néoténie. Cette faculté serait due à une faible activité de leurs glandes thyroïdiennes. En effet, un axolotl exposé à des hormones thyroïdiennes voit ses poumons se développer au détriment de ses branchies, et devient alors « adulte ». Il peut ainsi, en cas de changement de son habitat (sécheresse, réchauffement des eaux...) passer d'un habitat aquatique à un habitat terrestre comme montré sur l'illustration ci-dessous (21). Ce phénomène a été démontré par Marie Von Chauvin en 1876, qui a prouvé quelques années plus tard que cette transformation était réversible, en faisant passer des axolotls terrestres sous forme aquatique.

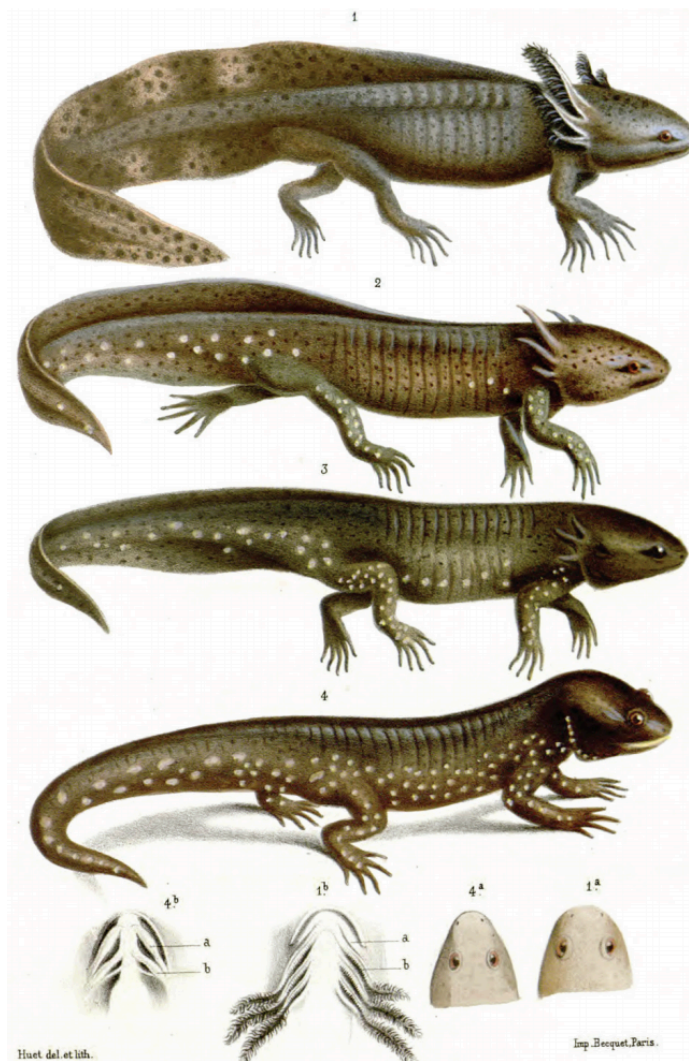


Figure 22, Passage du stage aquatique au stade terrestre chez l'axolotl (21)

La deuxième particularité de cette espèce concerne sa capacité de régénération. Elle est capable de régénérer n'importe quel organe endommagé ou détruit, et possède une forte tolérance aux greffes. Cet animal peut même régénérer certaines parties de son système nerveux (notamment de son cerveau) si cela lui est nécessaire. Ce sont ces deux particularités qui font de l'axolotl un modèle de recherche prisé des scientifiques.

Bien que les capacités de régénération de cet animal semblent exceptionnelles, elles s'appuient sur plusieurs processus basiques, des voies de signalisation communes aux différentes espèces animales qui ne seraient pas conservées chez l'Homme (mis à part au stade embryonnaire). Les scientifiques cherchent à identifier, grâce à l'étude de l'axolotl, les voies de signalisation qu'il serait possible d'utiliser contre des blessures aiguës (perte d'un membre...) mais également contre les dommages du temps (thérapies anti-âge, prise en charge du cancer...). De nombreuses études ont été effectuées chez l'axolotl notamment concernant ses capacités de régénération. Pour cela, il a d'abord été nécessaire d'étudier le cycle de vie de cet animal, son anatomie générale, ainsi que de trouver des

méthodes d'étude du génome de l'axolotl.

Les différentes étapes de la régénération d'un membre ont été décrites et sont les suivantes :

- Amputation (on note un faible afflux sanguin au niveau de la blessure)
- Recrutement de cellules souches épidermiques
- Formation d'un « épiderme post-blessure », différent d'un épiderme normal
- ré-épithélialisation et activation de cellules progénitrices (par cellules souches ou dédifférenciation selon le tissu lésé, ces mécanismes n'ayant pas encore été bien étudiés)
- Formation du blastème (un ensemble de cellules hautement prolifératrices au comportement autonome qui comprend des informations sur leur localisation)
- Une fois le blastème d'une taille suffisante, le futur cartilage apparaît, ainsi que les différents tissus
- Régénération du membre

Toutes ces étapes sont montrées dans le schéma ci-dessous :

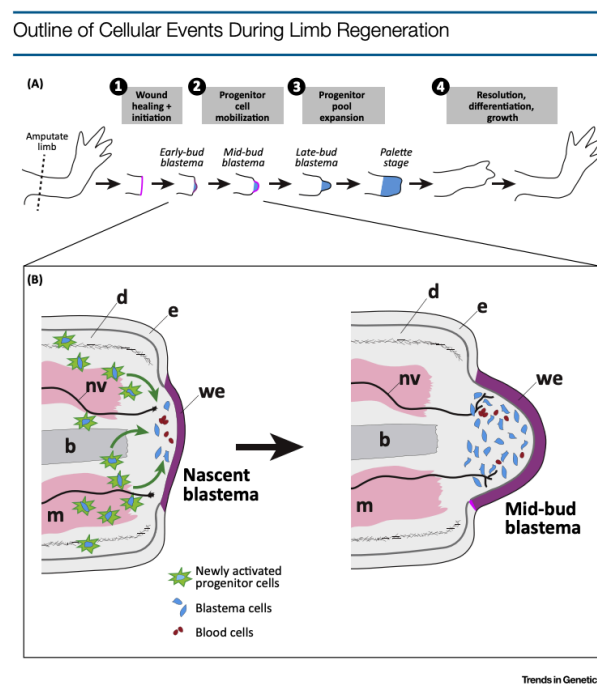


Figure 23, Progression générale d'un membre amputé à un membre régénéré, avec focus sur les

premières étapes (23)

On peut ainsi retrouver sur la figure 24 ci-dessous (23) les différentes étapes de l'embryogenèse de l'axolotl (où on note de forte similitudes avec l'embryogenèse humaine), et les différentes étapes où il est possible d'intervenir sur cette genèse (les moyens employables sont eux aussi décrits).

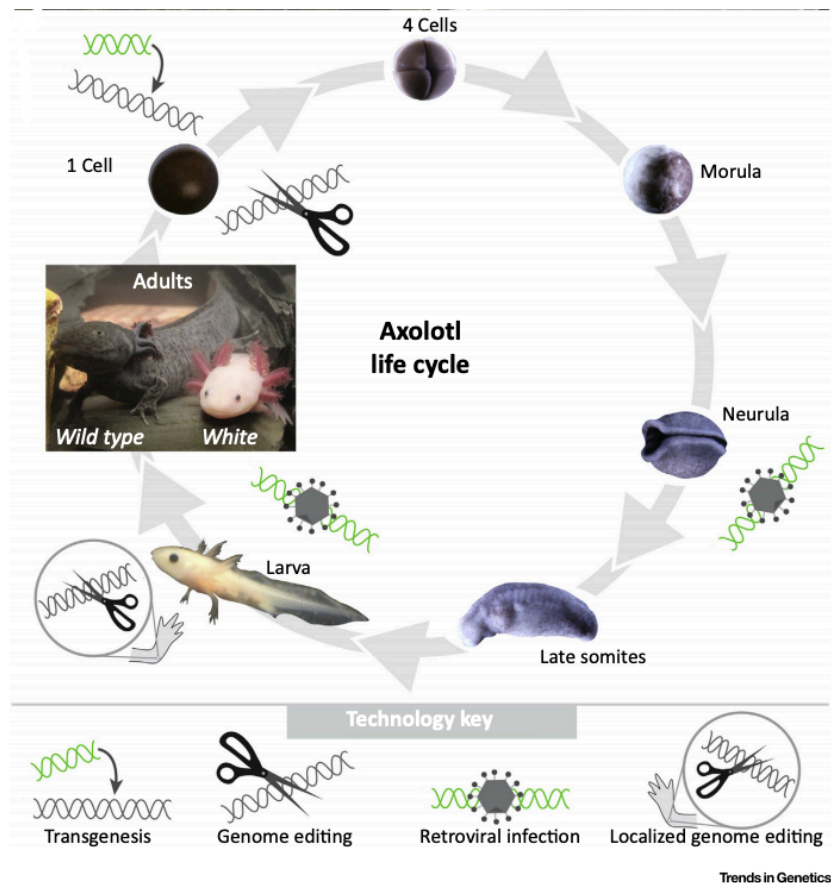


Figure 1. Axolotl Basics and Genome-Modifying Tools. (A) Shown is an adult axolotl of the *white* genotype. Note the large limbs. Forelimbs have four digits, while hindlimbs have five digits. (B) Male and female axolotl in mating chamber with eggs. (C) Axolotl life cycle with validated points for genomic modification manipulations noted. Axolotl embryogenesis spans approximately 10–12 days; only some stages are shown. Embryos develop within a transparent jelly coat which must be removed to permit injections. Two adults are shown. At left is the wild-type genotype whose skin is a darkly pigmented mottled brownish-black. At right is the *white* mutant. Note that specimens are not drawn to scale. Techniques that modify the genome are noted at stages where the techniques have been employed to date

Figure 24, Cycle de vie de l'axolotl et méthode d'interventions sur son génome (23)

Il est donc possible d'intervenir sur le génome de l'axolotl via transgénèse (l'implantation dans un être vivant d'un gène d'intérêt grâce à l'utilisation d'un transgène, comportant un promoteur, des séquences régulatrices, la séquence du gène d'intérêt et un terminateur de transcription), édition génomique (modification du génome grâce à des nucléases qui ouvrent l'ADN et entraînent une réparation), infection rétrovirale (infection par certains rétrovirus dont le génome a été modifié) et édition localisée du génome (modification génomique de certaines cellules précises). Toutes ces méthodes sont appliquées dans l'espoir de trouver un ou plusieurs gènes directement impliqués dans la régénération de l'axolotl.

Les scientifiques se sont récemment intéressés à certains oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs, qui pourraient être impliqués dans le processus de régénération. Certains bloqueurs de régénération pourraient être présents chez les mammifères et absents chez l'axolotl (ou bloqués à l'état naturel). Par exemple, p16/ARF agissant avec Rb (un gène du chromosome 13 à l'origine de la survenue des rétinoblastomes) comme suppresseur de tumeurs, or ce mécanisme est absent chez l'axolotl, ce qui permet à leurs cellules d'entrer dans un nouveau cycle cellulaire plutôt que d'entrer en apoptose. Une autre hypothèse serait celle de la conservation des gènes présents lors de l'embryogenèse chez l'axolotl développé.

c) Les éponges de mer :

Les éponges sont des animaux d'organisation simple. Leurs cellules ne sont pas ou peu différenciées, elles ne possèdent pas d'appareil génital, ni d'appareil respiratoire, ni aucun organe différencié. Elles possèdent en revanche un système nerveux, bien que ce dernier soit primitif. Elles vivent généralement attachées à leur substrat et peuvent être rampantes, dressées, colorées (la plupart du temps) ou blanches. Elles possèdent un squelette interstitiel composé de spicules (des sécrétions minérales extracellulaires) qui leur permet le maintien d'une certaine rigidité ainsi qu'une protection face aux prédateurs. La nature de ces spicules (calcaire, chitine ou silice) définira l'appartenance à une classe précise d'éponge (comme décrit ci-dessous). Ces spicules peuvent être répartis à l'extérieur des éponges, leur conférant un aspect hirsute, ou peuvent être absents de leur couche périphérique, ou ectoderme, ce qui confère à ces dernières un aspect lisse. La majorité des éponges sont dites suspensivores : elles se nourrissent de bactéries, de débris organiques et d'algues unicellulaires qui sont filtrées par l'éponge. Il est à noter qu'il existe certaines éponges carnivores, comme *Chondrocladia lampadiglobus*.

Il existe plusieurs types d'éponges différents, correspondant chacun à une anatomie particulière : une éponge peut ainsi se trouver sous la forme asconoïde (A sur le schéma ci-dessous), syconoïde (B) ou leuconoïde (C). Ces structures se différencient par l'emplacement des choanocytes (en rouge sur le schéma ci-dessous), les cellules caractéristiques des éponges.

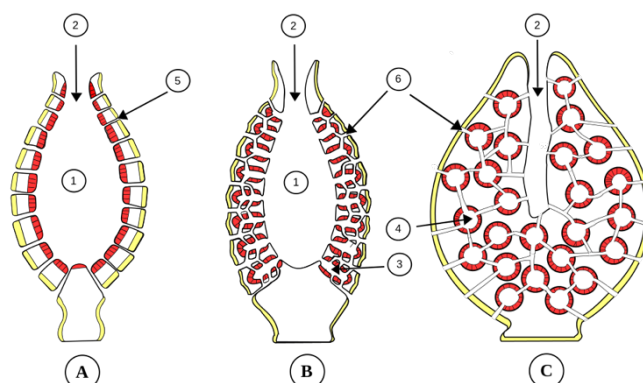


Figure 25, Les différentes structures des éponges

Dans le cas des ascon, elles tapissent l'atrium, ou cavité gastrale (1 sur le schéma) de l'éponge. En (2), on retrouve l'oscul, ou pore exhalant, orifice de communication avec l'extérieur. En (3) sont présentés les tubes radiaires qui augmentent la surface de contact entre l'eau et les choanocytes en favorisant l'absorption de nutriments, en (4) les chambres choanocytaires, en (5) les pores inhalants et en (6) le canal inhalant, qui permettent tout deux l'entrée d'eau dans l'éponge.

Au niveau histologique, les éponges sont composées de deux couches différentes. La couche cellulaire externe est appelée pinacoderme ou ectoderme. Ces cellules disposées en une couche unistrate forment un revêtement continu et participent ainsi à la protection de l'éponge. La couche interne, appelée endoderme ou choanoderme est constituée des cellules spécialisées de l'éponge, à savoir les choanocytes et sert à la nutrition de cette dernière. Ces deux couches cellulaires sont séparées par le mésohyle, une couche sans structure précise contenant plusieurs cellules différentes : les sclérocytes, responsable de la synthèse des spicules caractéristiques en fonction de la classe de l'éponge, les spongiocytes, produisant la spongine. Spongines et spicules permettent le maintien de la macrostructure de l'éponge. Les porocytes permettent le passage de l'eau et donc la nutrition de l'éponge. Les amibocytes permettront le « traitement » des éléments non assimilés par l'éponge. Tous ces éléments sont représentés sur la figure ci-dessous.

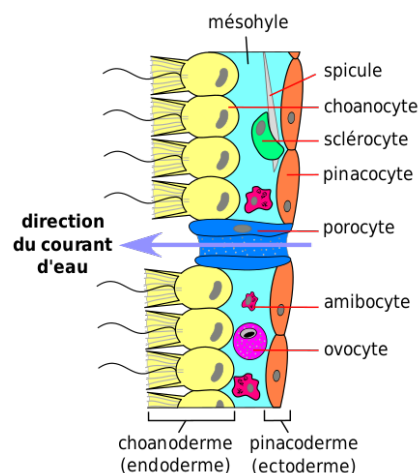


Figure 26, *Histologie de l'éponge (type asconoïde)*

Les éponges appartiennent au taxon des métazoaires, des organismes pluricellulaires, eucaryotes (ils possèdent des cellules nucléées ainsi que des organites cellulaires).

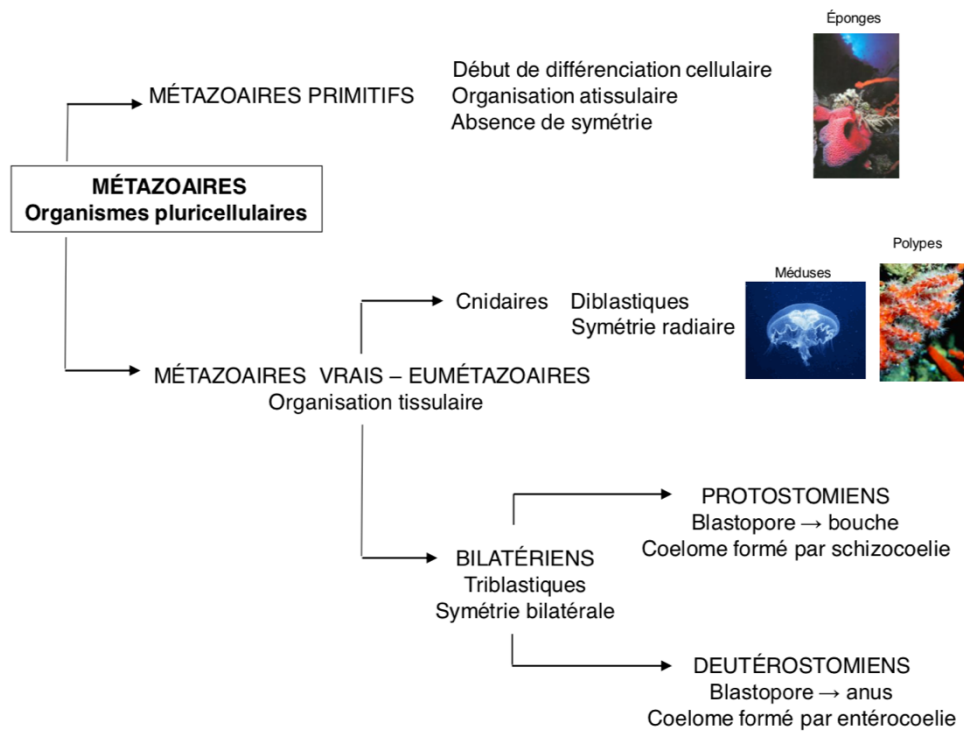


Figure 27, Place des éponges dans le règne animal

Parmi les éponges, on distinguait deux subphylums différents, définis par Reiswig et Mackie (24) en 1983, à savoir les Cellulaires, des éponges aux cellules bien délimitées et les Syncytiaux, composées d'un ensemble plurinucléé. Les éponges étaient alors classées comme montré ci-dessous :

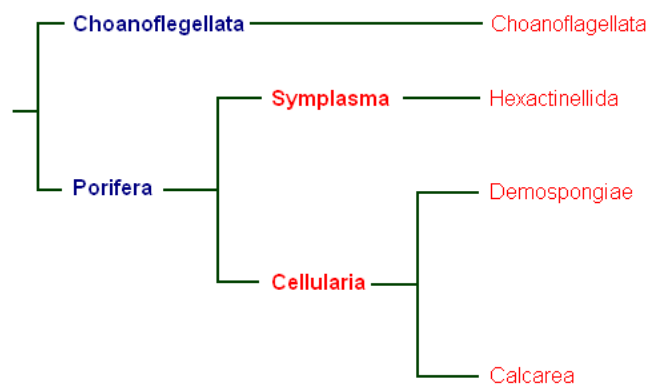


Figure 28, Ancienne classification des Porifera, encore retrouvée dans certains documents

Actuellement, les Porifera sont subdivisés en quatre classes : les Calcarea, les Demospongiae, les Hexactinellida et les Homoscleromorpha, (18) présentés sur la figure ci-dessous :

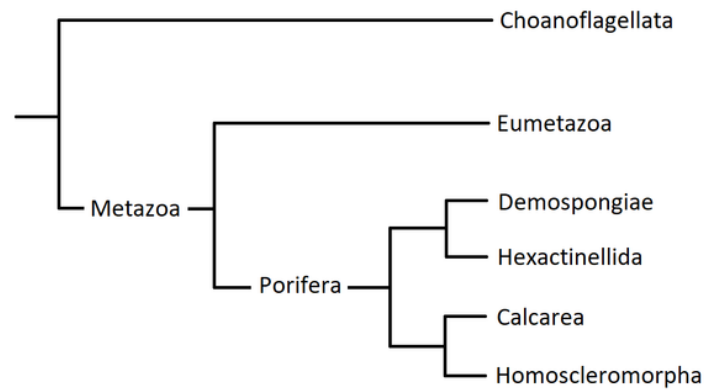


Figure 29, Classification actuelle des Porifera

Ce changement de classification a été effectué suite à la distinction des Homoscléromorpha et des demospongiae découlant d'études génomiques, qui a apporté un regard nouveau sur les Porifera. L'ancienne classification est encore parfois utilisée, ce qui explique sa description dans cette partie.

Le tableau ci-dessous souligne les caractéristiques de ces 4 classes :

Tableau 5, Caractéristiques des différentes éponges :

<i>Calcarea</i>	<i>Demospongiae</i>	<i>Hexactinellida</i>	<i>Homoscleromorpha</i>
Spicules calcaires	Spicules tétractines siliceuses (ou spongine, correspondant à une absence de spicules)	Spicules siliceux à 6 pointes	Structure variable. Leur place n'est pas encore bien définie.

Les spicules servent de charpente aux éponges : elles s'assemblent entre elles et forment leur squelette. Une éponge dépourvue de spongine sera friable et cassante au contraire d'une éponge en contenant beaucoup (comme les éponges utilisées pour la toilette par exemple).

Les éponges sont réparties près des côtes du monde entier avec des préférences selon les classes. Ainsi, les éponges de la classe des Calcarea sont plus courantes dans les eaux tempérées. Les Desmonponges préféreront quant à elles les eaux plus chaudes.

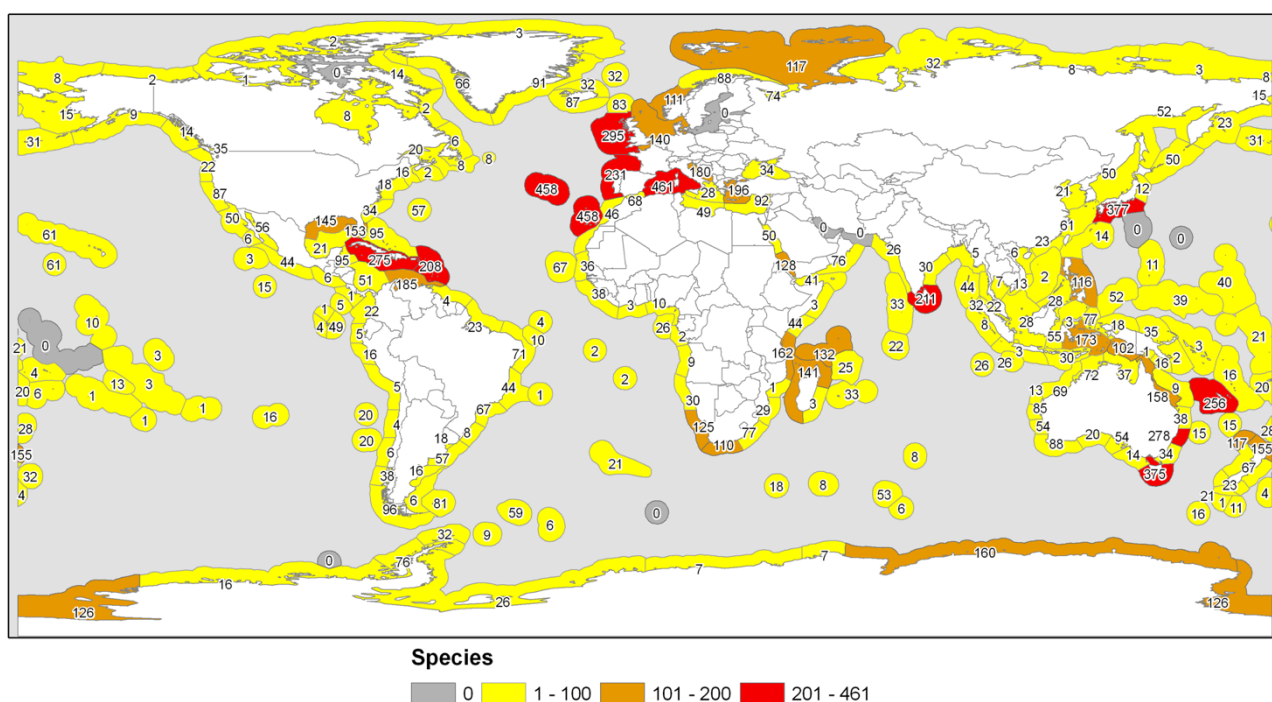


Figure 30, Nombre d'espèces représentées par niche écologique

Les éponges ont plusieurs intérêts pour la pharmacie. Le premier concerne leur capacité de régénération importante. En effet, des individus entiers peuvent se recréer à partir de simples cellules même après plusieurs événements traumatiques. Les mécanismes de ces capacités de régénération sont encore peu connus mais pourraient apporter un regard nouveau à certaines pathologies chroniques comme le cancer, ainsi qu'au vieillissement cellulaire.

L'autre intérêt principalement étudié des éponges est la grande variété de molécules qu'elles produisent et qui peuvent être utilisées en médecine. De nombreuses éponges produisent notamment des molécules à action anti-cancéreuses, dont plusieurs sont actuellement en études et d'autres sont déjà utilisées.

Les éponges, bien que simples de par leur structure, sont une source d'innovation novatrice dans le domaine pharmaceutique. Elles sont à l'origine de nombreux nouveaux anti-cancéreux et pourraient permettre la découverte d'un nouveau mécanisme de régénération cellulaire. Il paraît essentiel de bien comprendre leur mode de vie, et leur anatomie pour pouvoir comprendre la manière grâce à laquelle elles synthétisent ces molécules d'intérêt. Il sera ensuite possible d'extrapoler à partir de ces données l'existence d'autres espèces qui pourraient synthétiser des molécules de la même famille (à intérêt thérapeutique).

Les océans sont une source prolifique de modèles de recherches. Ils sont utilisés depuis de nombreuses années, à l'image de l'axone géant de calmar, et continuent d'être étudiés dans le but de comprendre plusieurs mécanismes particuliers aux organismes marins. A l'image de l'axolotl et des

éponges, il semble d'abord nécessaire de comprendre les mécanismes de vie de ces organismes pour appréhender leur potentiel intérêt dans la médecine moderne. La majorité des recherches porte aujourd'hui sur les anticancéreux uniques qui sont produits par les organismes marins et les capacités exceptionnelles de régénération de certains êtres vivants dans les océans, et qui pourraient être à l'origine de nouvelles thérapies innovantes dans les prochaines années.

IV.2. Des connaissances encore lacunaires :

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons aux lacunes dans les connaissances de l'Homme à propos des océans. En effet, ce milieu, parfois difficile d'accès en fonction des conditions climatiques, physico-chimiques (pressions, températures...) reste méconnu, bien que le niveau de connaissances soit en constante augmentation. Dans la première partie de ce chapitre, nous tenterons d'estimer les connaissances humaines concernant les différents phylums du monde marin. Dans la deuxième partie de ce chapitre, nous nous intéresserons au fort potentiel des bactéries marines, peu étudiées à l'heure actuelle.

a) Des phylums encore peu connus :

L'Homme interagit depuis toujours avec l'océan. Il en tire sa nourriture, s'en sert pour se déplacer... Pourtant, les recherches visant à améliorer cette connaissance au niveau scientifique sont assez récentes : par exemple, les grandes campagnes d'exploration sous-marine ont débuté dans les années 1950, avec de grands projets comme celui de l'Université de Columbia à New York, qui a chargé Bruce Charles Heezen et Marie Tharp d'établir la carte sous-marine de l'océan Atlantique de 1950 à 1959, carte qui met en évidence la présence d'une grande chaîne montagneuse, la dorsale medio-atlantique. Les profondeurs sont encore de nos jours des zones difficiles à atteindre, et les espèces qui y vivent, dites benthiques, sont difficiles à caractériser.

On estime entre 700 000 et un million d'espèces marines le potentiel océanique (selon une étude de 2012 publiée dans *Current Biology*, une revue en ligne, et coordonnée par Ward Appeltans de la Commission Océanographique Gouvernementale de l'UNESCO) réparties dans 34 phylums différents. Les connaissances actuelles (selon le site WoRMS (18), voir le graphique ci-dessous) recensent un peu moins de 250 000 espèces connues, soit entre 450 000 et 750 000 espèces encore à découvrir. De plus, à ce jour, moins de 5% de ces espèces ont fait l'objet d'étude quant à un éventuel développement biotechnologique (et donc pharmaceutique).

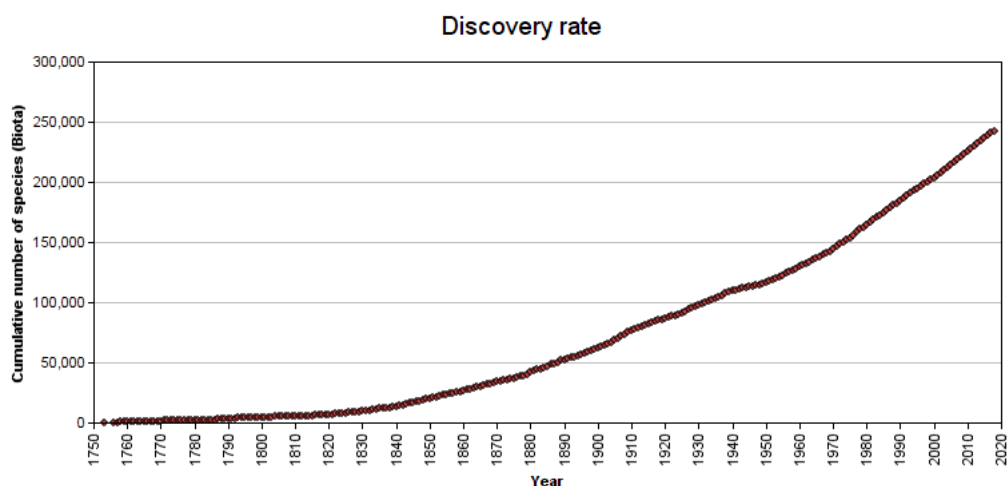


Figure 31, Nombre d'espèces découvertes (cumulées) depuis 1750

b) Les bactéries marines, sources de molécules encore peu exploitées :

Une branche sous exploitée actuellement du monde marin est celle des bactéries. Derrière ce simple fait se cachent plusieurs raisons : l'absence d'ethnopharmacologie possible (étude mettant en relation les connaissances acquises par certaines populations par l'expérience et les connaissances scientifiques actuelles dans le but d'identifier de nouvelles sources de molécules thérapeutiques), la difficulté d'étude de certains milieux dits atypiques où pourraient exister certaines bactéries particulières et la difficulté de différencier la vraie origine de synthèse de certaines molécules (est-ce l'organisme « hôte » ou ses bactéries qui synthétisent les principes actifs d'intérêts ?).

L'intérêt pour les microorganismes est cependant croissant, comme le montre la figure 32 ci-dessous, et les connaissances dans ce domaine sont en pleine expansion.

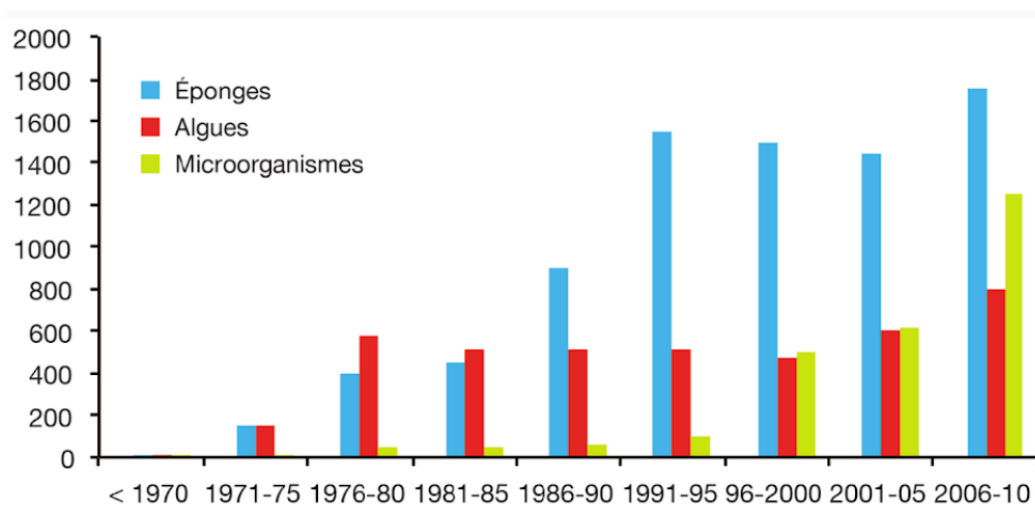


Figure 32, Évolution du nombre de publications scientifiques relatives aux travaux menés sur les métabolites bioactifs en fonction des organismes considérés (17)

Les connaissances humaines concernant les organismes vivants du monde marin sont encore lacunaires. Il est cependant possible de noter un réel gain d'intérêt pour ce domaine, avec une multiplication des études et donc des connaissances à propos de cet environnement encore trop peu connu.

IV.3. Les méthodes de recherche employées :

Nous avons souligné dans la partie précédente la nécessaire amélioration des connaissances humaines à propos des océans. Dans ce chapitre, nous nous intéresserons aux moyens pouvant être mis en place pour cette amélioration. Le premier moyen, le plus classique, peut être utilisé par tous. Il s'agit de l'observation du milieu, et des êtres vivants le composant, qui constituera la première partie de ce chapitre. Nous porterons ensuite notre attention dans une deuxième partie sur une technique moderne, permettant une étude à grande échelle du milieu marin : la technique de criblage. De forts progrès ont été effectués ces dernières années dans le domaine de la génomique. Plusieurs techniques ont émergé de ce nouveau domaine d'intérêt. C'est ce que nous étudierons dans la troisième partie de ce chapitre. La quatrième partie sera consacrée à la mise en place de bibliothèques ayant pour thème les organismes marins, qui permettent de conserver en l'état les différents êtres vivants afin de pouvoir les étudier ultérieurement.

a) L'observation

Depuis toujours, les hommes utilisent la nature pour se soigner, attribuant aux plantes et aux substances qu'ils trouvaient des propriétés plus ou moins vraies, parfois uniquement attribuées aux Dieux et aux « forces supérieures ». C'est par exemple le cas du Cauri (voir figure ci-dessous), un coquillage porté dans l'Égypte Antique par les Hommes pour augmenter leur fertilité. (25)



Figure 33, Cauri

La plupart des remèdes des pharmacopées traditionnelles sont des plantes terrestres, ce qui peut aisément se comprendre par la facilité d'accès de ces dernières.

Il existe cependant quelques exemples d'utilisation de produits originaires des eaux dans l'histoire.

C'est notamment le cas en Égypte Antique, où l'on retrouve des méthodes chimiques de contraception réalisées à partir de natron, un sel de carbonate de calcium retrouvé sur les bords du Nil. Ce dernier était mélangé à du miel et introduit dans le vagin. On découvrira plus tard que le

natron possède la capacité d'induire une agglutination de la membrane acrosomiale des spermatozoïdes. Le natron a également un effet dessicant. Ces deux effets le rendraient effectivement efficace dans la contraception : il permettrait l'immobilisation et la destruction des spermatozoïdes.(25)

On retrouve également l'utilisation de certaines algues dans la médecine traditionnelle chinoise. Le Tseu-ts'aï, une algue retrouvée sur les rives du Fou-kien et du Tchö-kiang, était utilisée dans le traitement du goitre. Le Long siu ts'aï, une herbe retrouvée sur les rochers de la mer orientale, était aussi utilisée dans le traitement du goitre. (26)

Les substances naturelles pouvaient être utilisées dans d'autres buts que celui de soigner. C'est par exemple le cas de la tetrodotoxine. Cette substance inhibitrice des canaux sodiques voltage dépendant, présente chez le Fugu (présenté en photo ci-dessous) et chez le tetraodon, aurait été utilisée par les tribus haïtienne pour condamner certains membres de la communauté et les placer dans un état de « zombie ». Cette substance contribue également au grand succès du Fugu dans la cuisine japonaise où ce dernier est un met luxueux : en effet, à son goût fin s'ajoute le risque associé à la toxine présente dans son foie, ses intestins, ses ovaires et sa peau. Ainsi, seuls les cuisiniers possédant une licence délivrée après plusieurs années d'études peuvent présenter ce met aux consommateurs. La préparation du poisson doit donc être minutieuse, pour ne pas imbiber la chair du poisson de toxine et rendre sa consommation mortelle.



Figure 34, Poisson Fugu

b) Le criblage

Le criblage, au contraire de l'observation est une méthode permettant d'analyser un grand nombre de substances ou d'organismes à la fois. Il s'agit d'une « méthode d'investigation permettant d'effectuer un tri parmi des substances naturelles ou synthétiques dont on ignore les propriétés pharmacologiques éventuelles, dans la perspective de la recherche d'un médicament ». (27)

Voici un schéma décrivant la méthode de criblage haut débit :

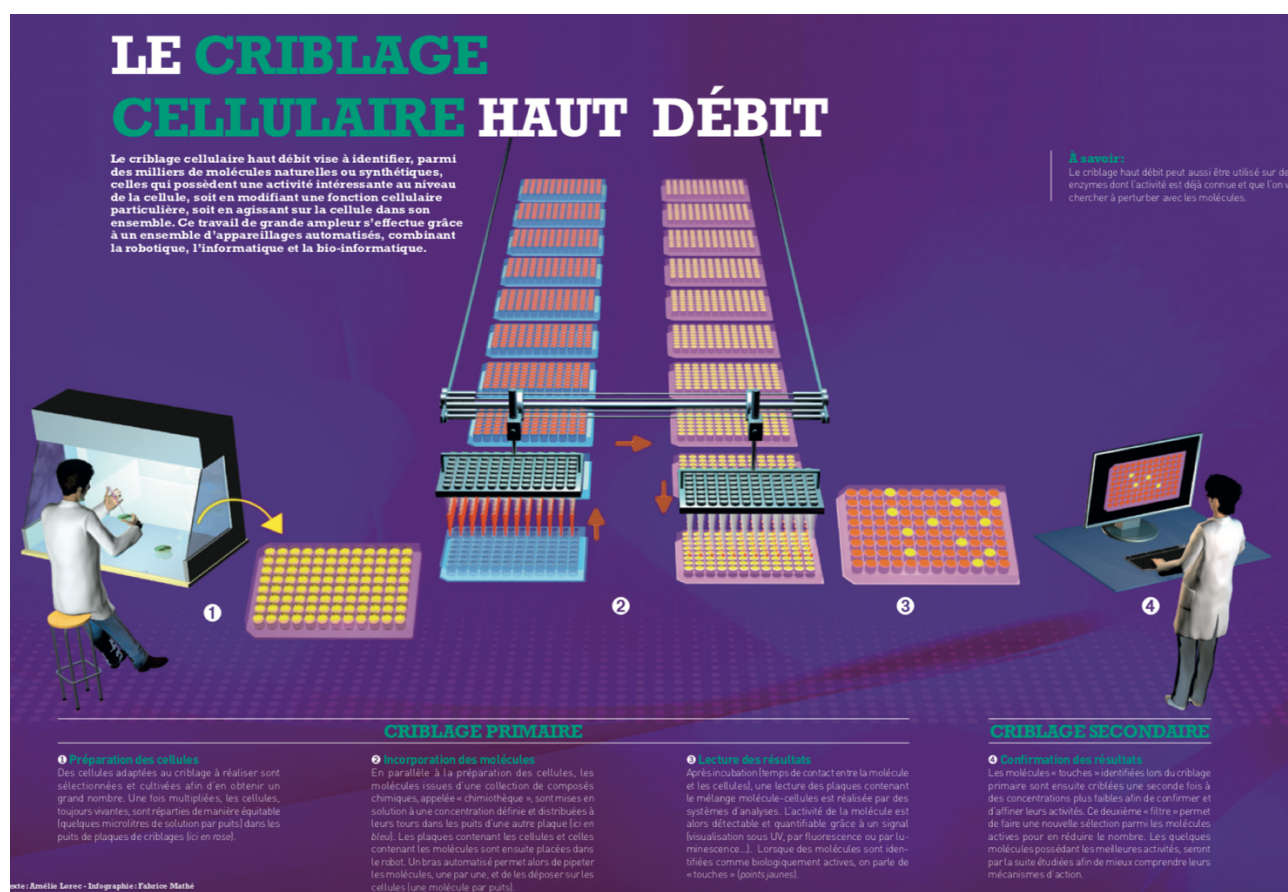


Figure 35, Criblage cellulaire haut débit (29)

Cette méthode de criblage haut débit comporte deux étapes : le criblage primaire et le criblage secondaire.

De manière concrète, pour mettre en place cette technique (qui existe aussi bien pour le milieu marin que pour le milieu terrestre), il faut cibler un objectif précis. Ainsi, on cherchera des molécules utilisables dans le traitement d'une pathologie précise, ou inhibant/activant un récepteur en particulier. Cette cible, qu'il faut posséder en grande quantité (obtenue par cultures cellulaires) est répartie équitablement dans des puits. C'est l'étape de préparation des cellules, en (1) sur la figure ci-dessus.

Parallèlement, de nombreux échantillons sont récoltés dans la nature. Ce sont la plupart du temps des échantillons complexes (composés de plusieurs molécules différentes), obtenus par lyse d'éléments végétaux ou animaux. Ces broyats sont placés au contact de la cible. C'est l'étape d'incorporation des molécules en (2) sur la figure ci-dessus. On observe ensuite une présence ou une absence de réponse par diverses méthodes (fluorescence, visualisation sous UV...). C'est l'étape (3) du schéma, ou lecture des résultats. L'étape du criblage secondaire est ensuite entamée. Elle consiste en une vérification des réponses positives à plus faible concentration que lors de la première réponse positive. C'est la confirmation des résultats sur le schéma ci-dessus.

Il est alors nécessaire d'étudier chaque échantillon grâce à des méthodes analytiques comme la chromatographie liquide haute performance, la résonnance magnétique nucléaire etc... Le but de ces analyses est d'isoler, de caractériser et de déterminer les différentes fractions moléculaires des échantillons. Chaque fraction sera alors testée séparément sur la cible pour déterminer laquelle est active sur celle-ci. Il restera alors à déterminer si la molécule est utilisable dans un but thérapeutique : est-elle synthétisable ou extractible à grande échelle, pourrait-elle atteindre sa cible, est-elle absorbable etc...

Pour illustrer cette technique, l'exemple du projet mené par POMARE et BIOMOL TCN sera abordé (28). L'un des objectifs de ce projet fut la recherche de molécules d'intérêt dans le traitement du carcinome buccal. Pour cela, ils ont choisi la technique abordée ici, à savoir le criblage d'organismes marins.

La première étape de cette technique consiste à définir la cible du criblage. Ainsi, pour cette analyse, POMARE et BIOMOL TCN s'appuient sur des travaux antérieurs qui, à partir de 194 espèces étudiées, ont extrait 64 actifs à activité cytotoxique. Ils ont ensuite sélectionné 43 espèces d'éponges en fonction de la zone géographique sur laquelle les prélèvements ont été effectués (le Sud-Ouest de Madagascar et le Sud-Ouest de Mayotte). Une fois les prélèvements effectués, ceux-ci ont été lyophilisés et extraits par macération à froid dans le cas du projet BIOMOL TCN, ou par extraction accélérée par solvant (ASE) pour le projet POMARE. Ces extraits ont été mis au contact de cellules KB (cellules de carcinome buccal). On observe alors la réaction des extraits sur les cellules cancéreuses : 22 espèces d'éponges testées ont déclenché une inhibition de la croissance cellulaire cancéreuse avec une concentration en extrait brut de 10 microgrammes par millilitre. L'activité inhibitrice la plus forte est observée chez 12 extraits (plus de 95% d'inhibition).

Ci-dessous, deux schémas présentés lors de ces études : l'inhibition de croissance des cellules cancéreuses en fonction des espèces d'éponges (figure 36) ainsi que la photo des différentes éponges (figure 37).

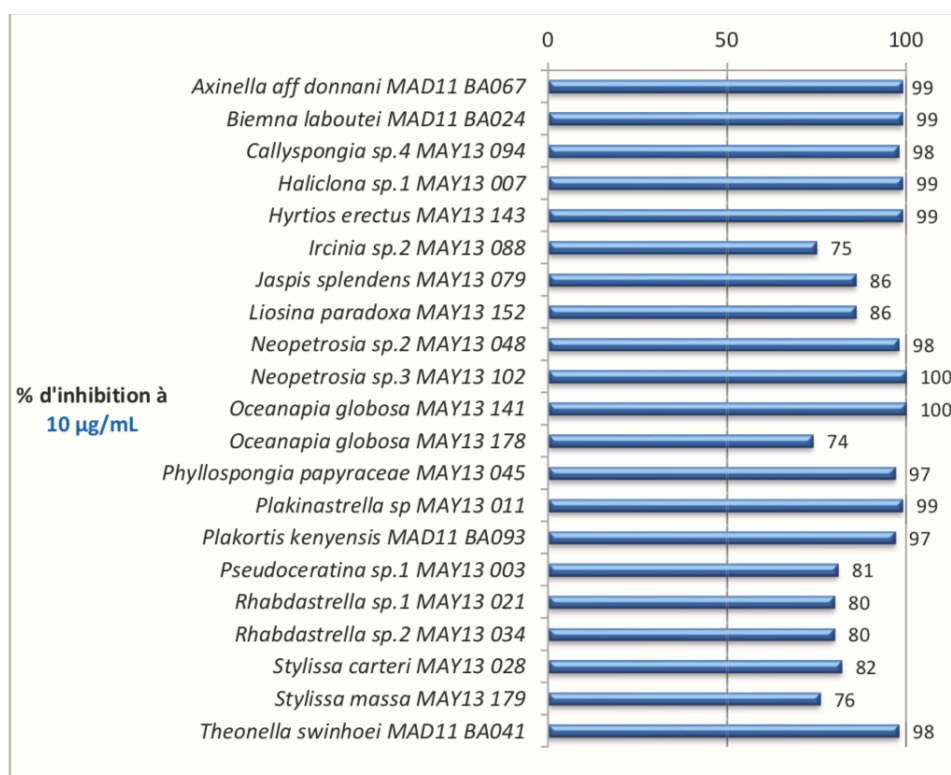


Figure 36, Cytotoxicité des 22 éponges les plus actives : inhibition de la croissance des cellules cancéreuses KB (28)

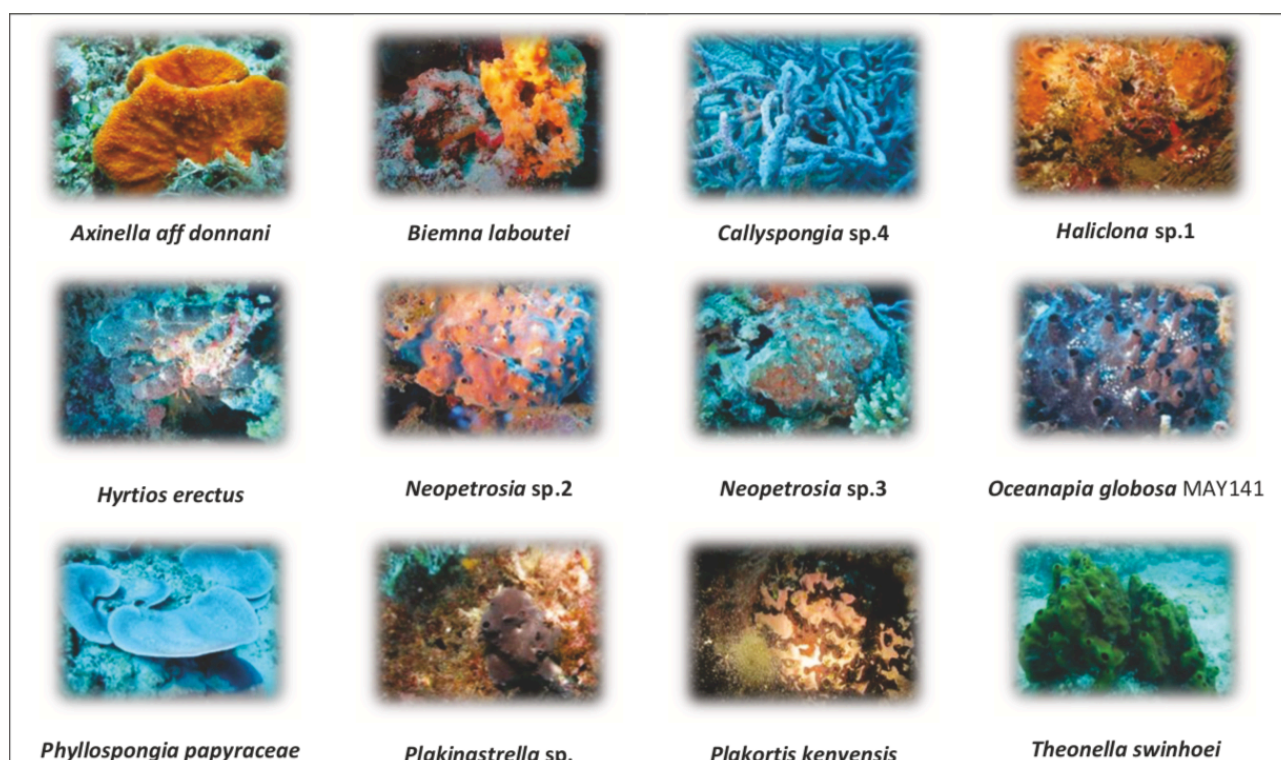


Figure 37, Principales éponges sélectionnées pour leur cytotoxicité sur la lignée cancéreuse KB (28)

Ces 22 extraits pourront alors être testés chez le rat, où seules les espèces les plus inhibitrices seront retenues.

Cependant, ces résultats sont obtenus à l'aide d'extraits contenant de nombreuses substances actives. Il sera donc nécessaire d'étudier les ensembles actifs grâce à diverses méthodes comme la chromatographie liquide haute performance, la résonance magnétique nucléaire, pour déterminer quelles molécules composent l'extrait. Il faudra ensuite isoler les molécules pour les tester indépendamment et déterminer lesquelles pourraient présenter une réelle activité antimétabolique.

c) La génomique, nouvel outil de recherche :

- L'expédition Sorcerer II :

Cette expédition, inspirée de célèbres campagnes de recherche navale à l'image de Darwin sur le HMS Beagle et du capitaine Georges Nares à bord du HMS Challenger (exploration du pôle Nord), menée par J. Craig Venter, s'est donnée pour objectif le recueil de prélèvements d'eau de mer aux quatre coins du globe pour réaliser sur eux une analyse génomique.

Après une étude pilote fructueuse dans les Bermudes, dans la mer des Sargasses en 2003, la campagne d'expédition mondiale a été lancée (Global Ocean Sampling GOS Expedition).

De 2004 à 2006, 32 000 miles nautiques ont été parcourus (soit environ 51 500 kilomètres), 23 pays et groupes d'îles visités sur 4 continents. Un échantillon a été prélevé tous les 300 kms environ, ce qui représente plus de 150 échantillons prélevés. Ces échantillons ont ensuite simplement été filtrés grâce à plusieurs filtres de tailles différentes. L'objectif de ce filtrage (présenté dans la figure ci-dessous) était d'isoler les différentes catégories du vivant recueillies. Un pré-filtrage a été effectué pour isoler le zooplancton et les micro-organismes associés. Ce pré-filtrage correspond ainsi à un filtre de 20 micromètres. Plusieurs tailles de filtres ont ensuite été utilisées : de 20 à 3 micromètres (pour isoler les micro-zooplanktons, les plus grands phytoplanctons et leur micro-organismes associés), de 3 à 0,8 micromètres (pour isoler les picoplancton, les plus grandes cyanobactéries et leurs micro-organismes associés) et de 0,8 à 0,1 micromètres (pour isoler les plus grands virus). L'eau résultant de la filtration à 0,1 micromètres (contenant donc les organismes inférieurs à 0,1 micromètre est elle aussi analysée.

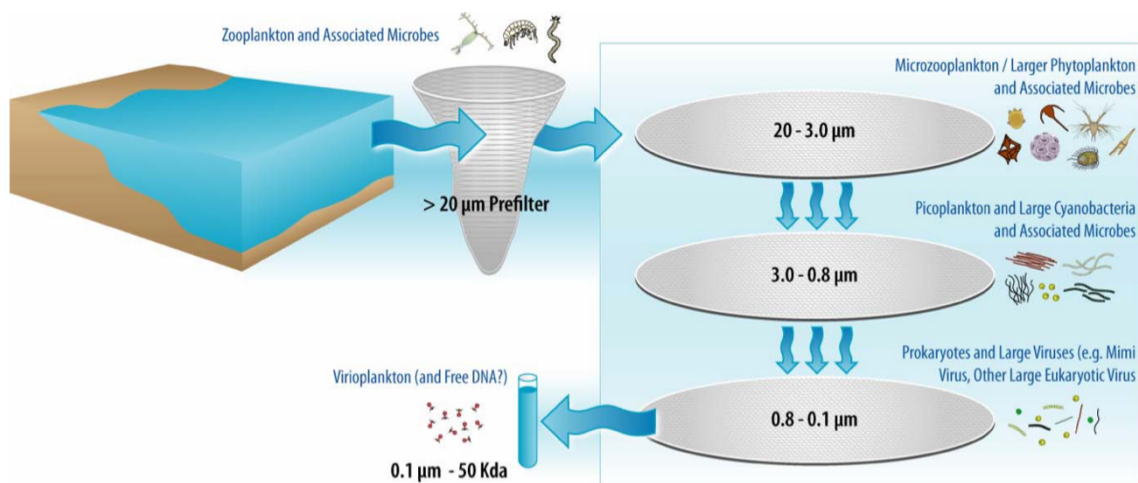


Figure 38, Méthode de filtration

Une fois ces filtrations effectuées, une analyse génomique a été effectuée dans le laboratoire de Rockville, capable de séquencer 240 000 séquences par jour.

Suite à cette expédition, ce sont plus de 7,7 millions de séquences génomiques qui ont été déposées dans le domaine public. De nombreuses nouvelles espèces ont ainsi été caractérisées (lors d'une conférence en 2005, Craig Venter parle de plus d'1,3 millions de gènes et de plus de 50 000 espèces nouvelles dans un baril d'eau de mer). Les résultats ont été publiés en 2007 dans le PloS Biology de Mars. (29)

Après cette expédition, Craig Venter et son équipe ont réalisé qu'il restait encore énormément de découvertes à effectuer. Ils ont ensuite lancé ainsi une troisième expédition de 2007 à 2008, concentrée cette fois-ci sur les environnements marins extrêmes. Une autre expédition a eu lieu de 2009 à 2010, elle aussi génératrice de nombreuses données à analyser.

Voici une carte du monde présentant les différentes expéditions du Sorcerer :

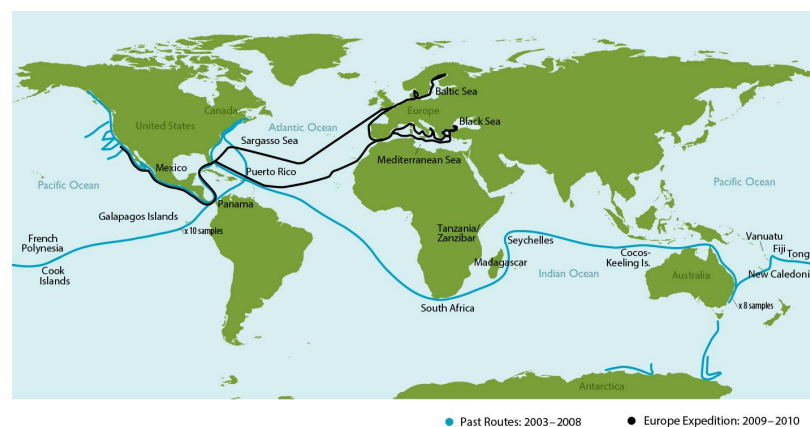


Figure 39, Chemin effectué par le Sorcerer II

- L'ADN pour « cartographier » les espèces :

Une expédition a récemment été lancée en 2017 pour une étude qui sera menée jusqu'en 2020. Ainsi, le Yersin, navire-laboratoire de la Monaco Explorations (30), cherche à évaluer l'impact des activités humaines face à la biodiversité marine et à étudier les grands mammifères marins. La méthode utilisée semble classique : le Yersin naviguera tout autour du monde, et des plongeurs disposeront à certains endroits stratégiques des caméras qui permettront l'observation des récifs douze heures par jour.

Mais le Yersin utilise aussi une méthode plus moderne pour arriver à remplir ses objectifs : il utilise l'ADN environnemental. Ainsi, à la manière de Craig Venter, l'eau est filtrée par les scientifiques et l'ADN extrait provenant des squames, fèces des espèces est analysé. Cependant, cette expédition s'attachant surtout à la mégafaune marine, les séquences ainsi récoltées sont mises en relation avec les bases de données existantes pour en déduire la présence ou non de ces espèces.

De plus, cet ADN pourrait servir à connaître la fragilité de certains écosystèmes : la comparaison de différents individus de la même espèce à des endroits différents pourrait permettre d'extrapoler le degré d'isolement de certains individus et donc la fragilité de certaines espèces en des points précis du globe.

- Une puce pour qualifier la population microbienne :

La PhyloChip® est une puce électronique mise au point par l'université de Californie et le laboratoire de Berkeley. Elle permet de recenser la présence de 9000 populations microbiennes à moindre coût. Des chercheurs espèrent ainsi pouvoir mesurer l'état de santé des coraux en fonction de la présence ou de l'absence de certaines bactéries. Peut-être sera-t-il possible de caractériser certains organismes pathogènes pour les coraux ou, au contraire, certains organismes protecteurs.

La génomique a de plus en plus d'importance dans les méthodes d'études de la biodiversité, et en particulier dans l'étude du monde marin. Il faut cependant modérer ce nouvel outil : en effet, un génome seul dans une base de données peut être source d'erreur : la classification peut ne pas être assez précise et il est ainsi possible de se retrouver avec un génome mal identifié, ne renvoyant pas à la bonne espèce. La génomique doit être complémentaire d'une analyse taxinomique et phylogénétique.

d) La mise en place de « bibliothèques » :

Nous avons vu dans la partie précédente l'un des exemples de ces « bibliothèques », qui sont en fait des bases de données de plus en plus complètes.

Il existe de plus en plus de base de données de gènes, qui permettent une comparaison avec les gènes trouvés. Mais cette démarche n'est pas nouvelle. « L'archivage » des espèces existantes était

déjà le but du Muséum d'Histoire Naturelle (datant de 1793 en France), qui utilise la taxidermie, la préservation des squelettes des espèces, les herbiers comme une immense base de données du vivant.

Mais il existe d'autres types de bases de données, à l'image des souchothèques, bases de données bactériennes.

L'établissement d'une souchothèque comprend plusieurs étapes :

- Campagne de prélèvement d'échantillons
- Mise en culture sur milieu solide et isolement des bactéries
- Préservation à basse température (c'est souvent l'azote liquide à -179°C qui est choisi)

Ces souchothèques pourront, après culture et multiplication, servir à l'élaboration de chimiothèques, qui permettront de réaliser plusieurs tests, notamment au niveau de la bioactivité de certaines molécules.

Voici ci-dessous les différentes étapes de création d'une souchothèque, d'une chimiothèque et son exploitation.



Figure 40, Étapes de création d'une souchothèque



Figure 41, Création d'une chimiothèque

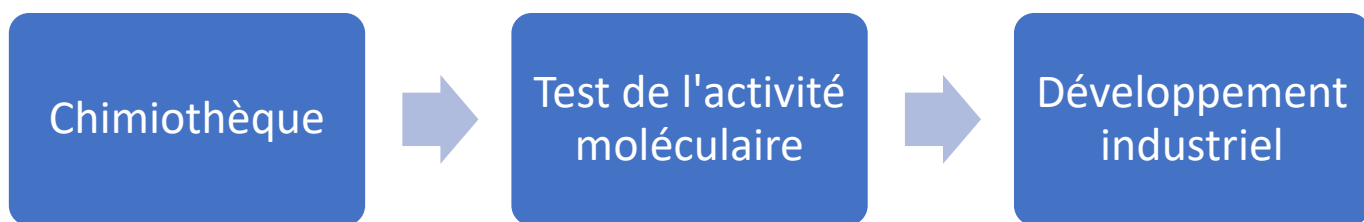


Figure 42, Exploitation d'une chimiothèque

Il existe un autre type de bibliothèque : les bases de données (un ensemble de données stockées informatiquement). Les campagnes océanographiques ont leur propre base de données : SeaDataNet, un projet européen regroupant 34 pays archivant des données physiques et météorologiques sur les eaux environnantes, régulièrement utilisées par la recherche.

Il existe de nombreuses méthodes d'études applicables à l'univers marin. De la plus simple (observation) à la plus complexe (nouvelles techniques de génomiques), toutes ces méthodes sont complémentaires et permettent d'obtenir une meilleure vision d'ensemble du contenu des océans.

V. Les biotechnologies bleues, un regain d'intérêt pour l'océan :

Dans cette partie nous allons porter notre attention sur les biotechnologies, qui seront définies et catégorisées dans le premier chapitre de cette partie. Leurs utilisations sont nombreuses et il est difficile d'étudier de manière systématique chacune d'entre-elle, aussi nous n'aborderons dans cette thèse que certains exemples de leurs utilisations. Le deuxième chapitre abordera le thème des métabolites secondaires, une catégorie de biotechnologie sur laquelle le domaine de la pharmacie porte de grands espoirs. Le troisième chapitre s'attardera sur une autre utilisation des biotechnologies, à savoir l'utilisation de molécules en laboratoire, pour faciliter certaines réactions.

V.1.Définition :

Le terme « biotechnologie » n'est pas récent : sa première utilisation remonte à 1919 quand Karl Ereky, ingénieur Hongrois, l'utilise pour désigner la science et les méthodes permettant, à partir d'êtres vivants, de fabriquer des produits.

Les biotechnologies dites « modernes » datent quant à elles de 1953, date à laquelle Watson et Crick ont décrit la double hélice de l'ADN. Elles se développeront dans un but industriel dans les années 1980, où elle sera définie rigoureusement par l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Économique) comme suit : « L'application de la science et de la technologie à des organismes vivants, de même qu'à ses composantes, produits et modélisations, pour modifier des matériaux vivants ou non-vivants aux fins de la production de connaissances, de biens et de services. ». Il s'agit là de la définition dite unitaire des biotechnologies définition très large. Les biotechnologies sont ensuite définies plus précisément en fonction des spécialités (nanotechnologies, bioinformatique...). (31)

D'une manière générale, on divise les biotechnologies en couleurs, comme montré sur le schéma ci-dessous :

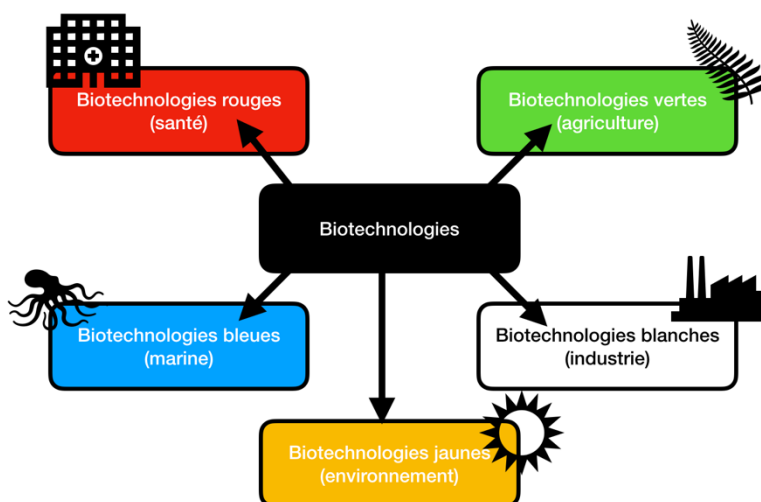


Figure 43, Les différentes "couleurs" de biotechnologie

Les biotechnologies rouges concernent le domaine de la santé, en particulier la recherche de molécules bioactives.

Les biotechnologies vertes concernent le domaine de l'agriculture, avec notamment l'étude des OGMs (Organisme Génétiquement Modifiés).

Les biotechnologies blanches sont les biotechnologies appliquées au domaine industriel.

Les biotechnologies jaunes concernent l'environnement, sa protection et sa dépollution.

Enfin, les biotechnologies concernent le domaine marin : ce sont celles mises en avant dans cette thèse. Elles permettent la valorisation du potentiel marin.

Voici la définition d'Yves Le Gal (sous-directeur honoraire au Collège de France) publiée dans le magazine Biofutur n°301 : « Les biotechnologies marines, au sens le plus large, peuvent s'envisager comme un ensemble de moyens et de technologies permettant d'utiliser, d'exploiter mais aussi de gérer les ressources marines, considérées comme un immense réservoir de molécules : polysaccharides, enzymes, lipides... dont les propriétés ouvrent de nouveaux champs d'application dans les domaines les plus divers : nutrition, thérapeutique, mais aussi matériaux... ».

Cette définition des biotechnologies bleues est intéressante, car elle souligne le fort potentiel de ces dernières, ainsi que les interactions entre les différentes « couleurs » de biotechnologie, qui apparaissent alors comme étroitement liées. En ce qui concerne les biotechnologies bleues, certaines découvertes serviront à la médecine (certaines molécules bioactives découvertes sur les organismes marins), certaines participeront au volet écologique, d'autre au volet industrielle, etc. Cette classification n'est pas réductrice, et laisse aux différentes biotechnologies de nombreuses interactions.

Les biotechnologies sont un domaine particulier de la science, où le vivant tient une place prépondérante. Malgré leur développement récent, elles ont déjà été à l'origine de nombreuses découvertes et de nombreux procédés sont encore à l'étude aujourd'hui. Elles seront probablement à l'origine de nombreuses découvertes et de nombreux nouveaux procédés dans les années à venir.

V.2.L'utilisation actuelle des métabolites secondaires :

Les océans sont une source de nouvelles thérapeutiques innovantes, comme le montrent les nombreuses molécules issues et inspirées de molécules d'origines marines en phase d'études cliniques. Dans cette partie, nous aborderons certaines de ces molécules à fort intérêt thérapeutique. Nous décrirons dans un premier temps le Prialt®, un analgésique à usage hospitalier, en nous attachant à son origine et à l'histoire de sa découverte. C'est ensuite au Yondelis®, anti-cancéreux utilisé actuellement et extrait des ascidies de mangrove que nous nous intéresserons dans la seconde

partie. L'Halaven® sera traité dans la troisième partie de ce chapitre. Cette molécule, commercialisée pour ses propriétés anti-cancéreuses, a été extraite pour la première fois d'une éponge marine. La dernière partie de ce chapitre traitera de la Roscovitine®, une molécule aux nombreuses propriétés actuellement en phase d'essais cliniques, et découverte sur des œufs d'étoile de mer.

a) Prialt ® (Ziconotide) :

Le Ziconotide est une molécule découverte grâce à l'observation du *Cognus magus* Linnaeus, 1758. Ce mollusque de la classe des gastéropodes appartenant à la famille des Conidae, mesure un peu moins d'une dizaine de centimètres. (32) Il est principalement présent autour des océans Indien et Pacifiques.

Voici une photo du Conus Magnus :



Figure 44, Conus magus

1. Les premières découvertes en rapport avec les cônes :

La première trace d'intoxication rapportée date de 1705 et a été attribuée plus tardivement à l'espèce *Conus textile*. On dénombre actuellement une trentaine de cas d'intoxications au poison des cônes. Cette espèce est donc connue de longue date pour ses propriétés venimeuses.

L'un des premiers cas décrit de manière détaillée d'intoxication par un cône (*Conus geographus*) a été rédigé en 1946 par le médecin L.C.D. HERMITTE (33) aux Seychelles. Il décrit l'arrivée d'un patient français de 32 ans, Monsieur Frédéric de Lafontaine, à son cabinet. Ce dernier s'est retrouvé en contact avec un spécimen de *Conus geographus*, et a alors ressenti une sensation de pique

coupante, suivie d'une sensation de brûlure, qu'il associe immédiatement au cône qu'il tient dans la main car il a aperçu ce qu'il décrit comme une « fine aiguille tranchante » se rétracter. Cette sensation de brûlure a été suivie quelques minutes plus tard de picotements dans le bras qui se sont amplifiés jusqu'à un engourdissement complet du bras. Celui-ci s'est généralisé en une heure, jusqu'à une paralysie de l'ensemble de son corps. Cette paralysie a régressé en cinq à six heures, moment où il a été examiné par Mr l'Hermitte. Celui-ci, après un examen, écarte le diagnostic d'hypersensibilité (tout comme l'urticaire) devant l'absence de signe, en faveur d'un empoisonnement qu'il définit comme « neuro-toxique ». Les symptômes ont régressé jusqu'à disparaître complètement au bout de trois jours.

À la suite de ces observations, Mr l'Hermitte décide de disséquer plusieurs espèces de cônes qu'il trouve sur l'île. Il parvient alors à mettre en évidence la présence d'une « trompe » musculuse qu'il associe à une langue (notée n sur la figure ci-dessous (33)) contenant chez de nombreuses espèces une fine dent en forme de harpon (notée o). Il met en évidence la présence d'un sac musculux contenant le poison (x), relié via un canal (w) au harpon (o). L'origine du poison est alors identifiée.

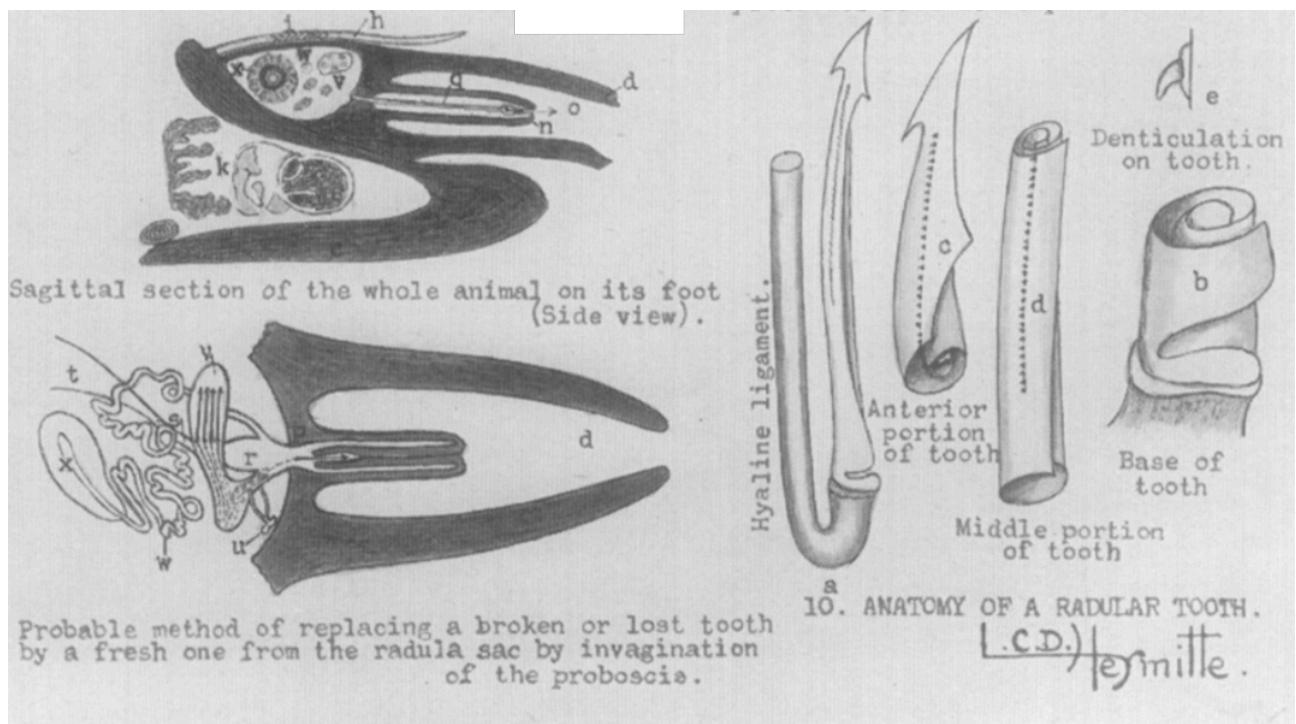


Figure 45, Dissection de *Conus geographus*

Voici les différentes planches anatomiques qu'il dessine lors de ses dissections :

Plus tard, les études portant sur les cônes les divisèrent en trois catégories distinctes, à savoir :

- les piscivores : cette catégorie contient peu d'espèces. Elles sont assimilées à des espèces mortelles pour l'Homme.

- les molluscivores : ils sont un peu plus nombreux que les piscivores. Cette catégorie se caractérise par son comportement agressif

-Les vermivores : ils représentent la plus large proportion des cônes (environ 80%) et sont la plupart du temps non menaçants.

2. Composition et mécanisme d'action du poison :

L'étude de la composition du poison émis par les cônes a été menée par plusieurs équipes de chercheurs au fil du temps, du fait de la complexité des conotoxines, (des peptides) présentées ci-dessous (tableau 6). (34)

Cette complexité est telle qu'elle a amené à la création d'une base de données permettant l'accès aux différentes conotoxines découvertes à ce jour. (35)

Ces conotoxines se sont en effet avérées être de complexes mélanges de plusieurs toxines, agissant de manière synergique ou additive entre elles. Elles agissent au niveau de la jonction neuromusculaire. Cette jonction fonctionne physiologiquement grâce à l'acétylcholine. Cette dernière est libérée grâce à un afflux calcique, provenant du potentiel d'action (changement rapide de la charge électrique d'une cellule). Cet afflux sert de signal et permet à l'acétylcholine de se fixer au niveau du muscle (en post-synaptique). Suite à cette fixation, les canaux sodiques et calciques musculaires s'ouvrent et entraînent une dépolarisation, qui entrainera la contraction du muscle. Cet événement est montré dans la figure ci-dessous :

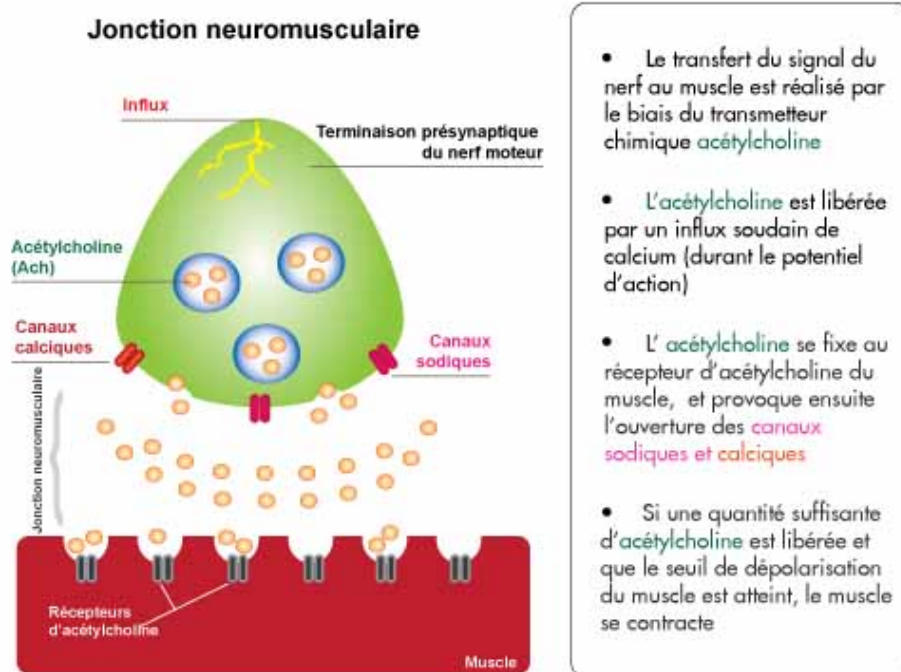


Figure 46, Jonction neuromusculaire normale

Plusieurs catégories de conotoxines différentes ont pu être identifiées: (36)

- α -conotoxines : elles inhibent les récepteurs nicotiniques au niveau musculaire. Elles sont composées de 13 à 15 acides aminés et contiennent 2 ponts disulfures. L'inhibition de la jonction neuromusculaire entraînée par ces toxines peut entraîner une défaillance respiratoire.

- ω -conotoxines : Elles sont composées de 24 à 30 acides aminées et de 3 ponts disulfures. Elles sont connues sous le nom de « shakers peptides » du fait de l'apparition de tremblements à la suite de leurs injections chez la souris. Ces toxines bloquent les canaux calciques de la jonction neuromusculaire. Le Ziconotide est une ω -conotoxine.

- μ -conotoxines : Elles sont composées de 22 acides aminés et agissent au niveau des canaux sodiques des muscles.

- δ -conotoxines : Ces conotoxines seraient à l'origine de l'immobilisation rapide des poissons par les cônes piscivores. Elles ont pour cibles les canaux sodiques. Leur structure hydrophobe externe leur permettrait de bloquer les canaux sodiques depuis l'intérieur des membranes cellulaires.

- κ -conotoxines : Elles ciblent les canaux potassiques.

Ces familles sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6, Conotoxines

Famille pharmacologique	Famille de récepteurs et mode d'action	Cônes / régime
α (alpha)	Inhibiteur des récepteurs à l'acétylcholine nicotiniques	<i>Geographus</i> / piscivore <i>C.pennaceus</i> / malacophage <i>C.imperialis</i> / vermivore
χ (chi)	Inhibiteur du transporteur de noradrénaline neuronal	
δ (delta)	Retardateur de l'inactivation des canaux sodium voltage-dépendants	<i>C.purpurascens</i> / piscivore <i>Textiles</i> / malacophage
κ (kappa)	Bloqueur des canaux potassium voltage-dépendants	<i>C.purpurascens</i> / piscivore
μ (mu)	Bloqueur des canaux sodium voltage-dépendants	<i>C.geographus</i> / piscivore <i>C.pennaceus</i> / malacophage
Γ (gamma)	Antagoniste des récepteurs NMDA	<i>C.geographus</i> / piscivore
ω (oméga)	Bloqueur de canaux calcium voltage-dépendants	<i>C.geographus</i> / piscivore

3. Utilisation par l'Homme :

Le Ziconotide (ou Prialt ®) est un médicament ayant obtenu l'AMM (37) dans la prise en charge de certaines douleurs intenses et chroniques chez les adultes, nécessitant une analgésie intrarachidienne. Cette AMM ayant été accordée « sous circonstances exceptionnelles », une réévaluation annuelle est nécessaire par « l'Agence Européenne du Médicament ».

C'est un polypeptide produit par synthèse peptidique dont la séquence est la suivante :
CKGKGAKCSRLMYDCCTGSCRSKGK*

Le Ziconotide est un antagoniste des canaux calciques de type N, qui régulent la libération de neurotransmetteurs spécifiques de la douleur au niveau rachidien, comme montré sur la figure ci-dessous.

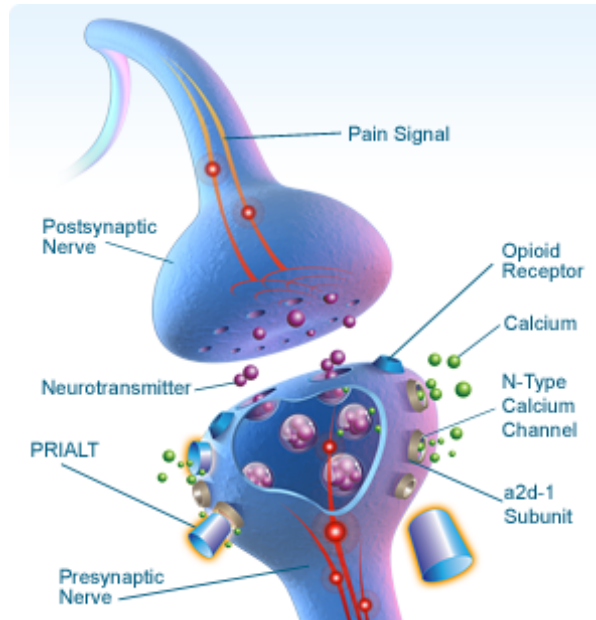


Figure 47, Mécanisme d'action du Prialt

C'est un médicament de liste I, réservé à l'usage hospitalier et utilisable à une dose de 2,4 microgrammes par jour, que l'on peut augmenter toutes les 48 heures par paliers de 2,4 microgrammes jusqu'à une dose maximale de 21,6 microgrammes (soit 9 fois la dose initiale).

Bien que présentant des effets indésirables similaires à la morphine et ses dérivés (vertiges, nausées, confusion, somnolence), elle a l'avantage de ne pas induire de dépendance.

Il est cependant impossible de l'administrer conjointement à une chimiothérapie intrarachidienne.

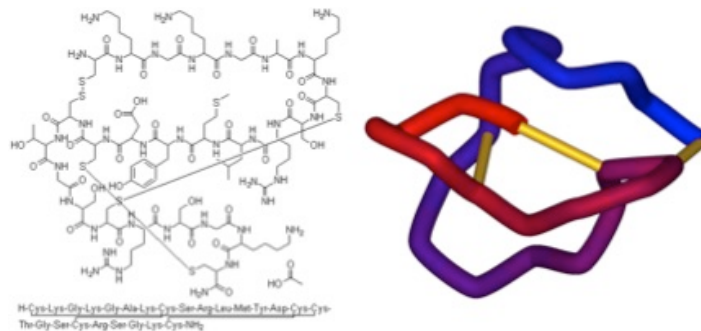


Figure 48, Structure du Prialt

b) Yondelis ® (Trabectedine) :

Le Yondelis ® est un anticancéreux initialement isolé à partir de l'Ascidie de Mangrove. Les premières extractions testées pour leur activité anti-tumoral datent de 1969 mais c'est seulement en 1990 que le composé ET-743, destiné à devenir le Yondelis ® sera extrait de l'Ascidie pour la première fois.

1. L'Ascidie de Mangrove :

L'Ascidie de Mangrove, ou *Ecteinascidia turbinata*, Herdman (1880) est l'espèce à partir de laquelle le Yondelis a été isolé.

Elle appartient à :

- l'embranchement des chordés : Présence d'un tube nerveux dorsal, d'une corde dorsale et d'un tube digestif ventral
- le sous embranchement des tuniciers : Présence de deux siphons, d'un pharynx bien développé avec une corde larvaire qui régresse chez l'adulte.
- la classe des ascidies : Tuniciers fixés
- l'ordre des phlébobranches : Présence de sinus longitudinaux dans le sac branchial, qui ne sont jamais plissés.
- la famille des phérophoridés : Zoïdes en une seule partie reliée par des stolons.

Ce sont des petites ascidies de couleur translucide à orange le plus souvent regroupées en grappes serrées présentes dans les fonds calmes (entre 1 et 10m de profondeur) et chargés de sédiments (comme les mangroves, zones portuaires, lagons, fonds de baie...). Une ascidie est un animal présentant le plus souvent la forme d'une outre, d'où elle tire son nom (le terme askos signifiant outre en grec), se nourrissant via un flux d'eau les traversant. Ce flux d'eau passe par le siphon buccal inhalant et ressortent via le siphon cloacal exhalant. Voici le schéma d'une ascidie vue de l'intérieur, qui montre la présence d'un système digestif, reproducteur, circulatoire et nerveux primitif. Ce schéma est extrait du document « Ascidie », de C. et F. Monniot, du laboratoire des invertébrés marins et malacologie, du muséum d'histoire naturelle de Paris.

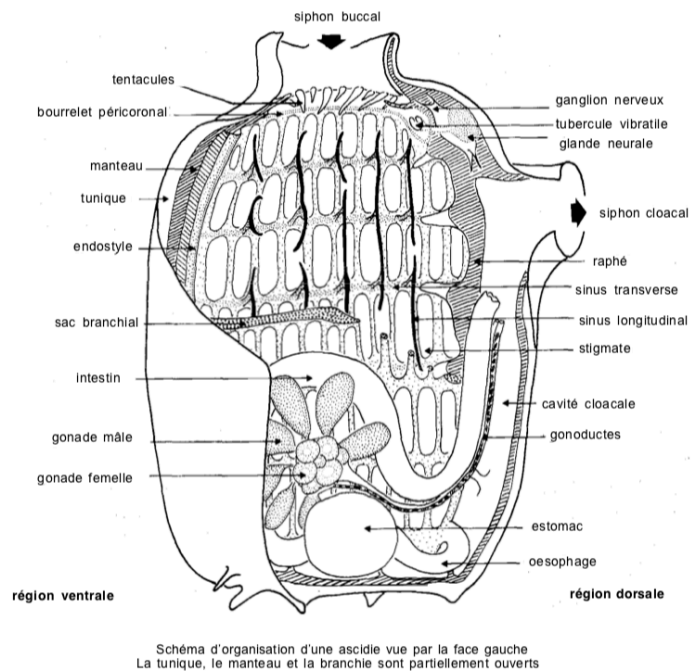


Figure 49, Schéma d'une ascidie, vue interne

Les ascidies sont présentes sur la côte Américaine Atlantique, sur les côtes Européennes et Africaines d'Atlantique central et sporadiquement en mer Méditerranée. (39) Elles se reproduisent selon un mode sexué ou asexué. Tandis que la reproduction asexuée correspond à un simple bourgeonnement de nouveaux zoïdes à partir du stolon (élément permettant le regroupement d'ascidies dites sociales, comme montré sur le schéma ci-dessous), la reproduction sexuée est plus complexe : elle ne peut avoir lieu qu'à des températures supérieures à 25°C. Près de l'équateur, la reproduction peut avoir lieu toute l'année, au contraire de la mer Méditerranée où la reproduction est impossible dès le mois d'octobre et aux Bermudes, où la reproduction se situe entre les mois de juin et de septembre. Elle consiste en un cycle où les œufs sont fertilisés, couvés et éclos en interne, puis lâchés dans la mer où ils attendront la maturité. L'espèce est hermaphrodite.

Voici une photo de l'Ascidie de Mangrove :



Figure 50, *Ecteinascidia turbinata*, Herdman (1880) (40)

2. La synthèse du Yondelis ® :

La synthèse du Yondelis est particulièrement intéressante à étudier dans son ensemble, notamment par rapport à sa chronologie. Il a d'abord été tenté de cultiver l'ascidie pour en extraire le principe actif. Devant le faible rendement de cette méthode une synthèse synthétique a été mise en place, remplacée plus tard par une synthèse semi-synthétique plus rentable.

Nous devons les études sur le Yondelis à l'entreprise PharmaMar® (41). Cette dernière, prenant en compte les considérations écologiques et le développement durable, a initialement étudié la possibilité d'une aquaculture (qui représente l'ensemble des techniques utilisées pour la production d'espèces aquatiques, qu'elles soient animales ou végétales) de l'ascidie.

En effet, avant 1997, les études in vitro du Yondelis ont été complétées grâce à des extractions de populations d'ascidie des caraïbes, montrant que l'extraction pouvait être suffisante pour étudier le produit. Entre 1998 et 2003, sept fermes d'aquaculture ont été mises en place autour de la mer des Caraïbes et à l'ouest de la mer Méditerranée.

Deux méthodes différentes ont été utilisées pour la mise en place des fermes d'aquaculture :

- La première utilise des radeaux, filets, lignes et autres éléments artificiels

submergés directement dans la mer, sur laquelle la végétation peut s'adapter et se développer. Une centaine de cadres rigides de 2 mètres ont été installés par des plongeurs pour permettre la croissance de l'ascidie, croissance dépendant de la saison, de la température etc. L'activité de ces fermes est alors discontinue.

- La seconde privilégie l'utilisation d'installations intérieures, avec un emploi de réservoirs et d'étangs à poissons, équipés de la même manière qu'en mer. L'avantage de ces couvoirs réside dans le contrôle des paramètres comme la température, l'apport nutritionnel, la pression etc. Ce contrôle des paramètres permet ainsi une expansion de la période de culture et donc un rendement augmenté.

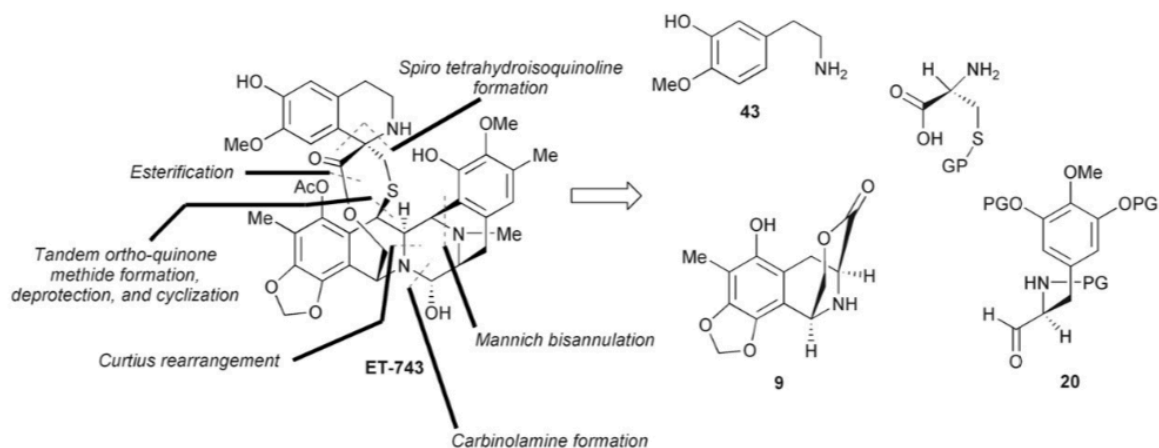
La production totale en 2001 atteint les 80 tonnes métriques de biomasse. En 2004, on atteint les 100 tonnes métriques.

Il y a cependant plusieurs inconvénients à ce type de culture :

- Le coût élevé de la main d'œuvre et du transport de la biomasse jusqu'au centre d'extraction
- Une extraction chimique complexe, utilisant de nombreux solvants et une chromatographie de purification à plusieurs étapes
- Un rendement inégal selon les cultures, oscillant entre 0,5 et 4,0 microgrammes par gramme d'ascidie (poids sec).

Ainsi, le rendement global est de moins d'un microgramme par gramme d'ascidie. Ce rendement, bien que suffisant pour permettre le développement clinique du Yondelis®, a obligé l'entreprise PharMar® à se tourner vers une synthèse synthétique du Yondelis®.(42)

La première synthèse totale de l'ET-743 est à attribuer au groupe Corey en 1996. La synthèse de cette molécule complexe à 3 dimensions (voir figure ci-dessous) a été possible en s'inspirant de la synthèse naturelle de cette molécule, en partant de 4 acides aminés montrés sur le schéma ci-dessous.



Scheme 1 Biomimetic retrosynthetic analysis.

Figure 51, Yondelis et acide aminé utilisés pour sa synthèse (42)

Pour arriver à la synthèse du fragment 9, 12 étapes sont nécessaires, en partant du Sésamol (un phénol présent dans l'huile de sésame, montré dans la figure ci-dessous), avec un rendement de 26%.

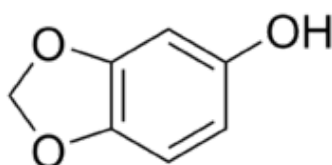


Figure 52, Sésamol

Le fragment 20 a été obtenu à partir du monométhyl methyl gallate et d'un méthyl hydrogène mallate. en 9 étapes, avec un fort rendement (66%). Les deux fragments obtenus ont ensuite été combinés en 11 étapes, avec un rendement de 14% pour arriver au composé 36. Ce composé, suite à 9 étapes incluant l'utilisation du composé 43 a permis la synthèse de l'ET-743. Au final, trente-deux étapes sont nécessaires depuis le Sésamol. Cette synthèse sera ensuite améliorée par le groupe Corey qui parviendra à augmenter le rendement de certaines molécules intermédiaire en 2000. Malgré ces améliorations, la synthèse totale de l'ET-743 ne parvient pas à un rendement suffisant pour une application industrielle du processus.

Une semi-synthèse a alors été mise en place à partir du cyanosafraïne B, une molécule antibiotique obtenue par fermentation de la bactérie *Pseudomonas fluorescens*. Cette semi-synthèse, bien que pertinente d'un point de vue industriel, a vite été remplacée par une autre méthode de synthèse totale de l'ET-743, trouvée par le groupe Zhu.

Le développement du Yondelis® par PharMar permet la mise en relief d'un schéma type dans la découverte et l'étude des nouvelles molécules d'origine marine. Bien que cela ne doive pas être considéré comme immuable, les recherches ont toujours tendance à s'articuler autour des mêmes

axes : la découverte d'une nouvelle molécule extraite d'un organisme marin grâce à l'observation et l'étude de ce dernier, la synthèse chimique de cette dernière, relayée par une héli-synthèse, la plupart du temps plus rentable.

Tous les moyens et les connaissances actuels sont donc mobilisés pour l'étude d'une seule molécule, nécessitant l'intervention de plusieurs corps disciplinaires distincts.

3. Un mécanisme d'action atypique

La Trabectine, ou ET-743, est un agent de liaison de l'ADN. Cette molécule présente un mécanisme atypique de transcription ciblée de l'ADN. Le Yondelis® se lie préférentiellement aux séquences de l'ADN riches en GC (le petit sillon de l'ADN principalement) et forme avec ces zones des adduits covalents avec la position N2 à travers sa moitié carbinolamine. La formation de ces adduits aura pour effet d'incliner l'hélice de l'ADN vers le grand sillon de l'ADN (dans le sens opposé aux adduits présents dans les parties mineures).

La formation du duo Yondelis/ADN va également entraîner d'autres conséquences. En effet, l'anneau carbonique du Yondelis dépasse de la colonne de l'ADN, et va ainsi interagir avec diverses protéines de liaison de l'ADN. Elle interagit notamment avec la protéine XPG, protéine faisant partie du complexe du système NER (Nucleotide excision repair).

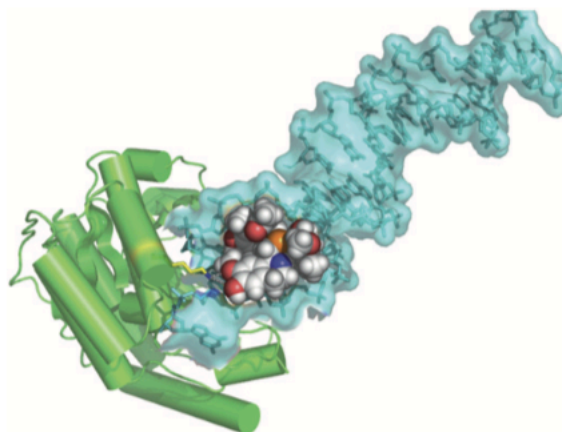


Fig. 2 Binding of trabectedin to the complex DNA-XPG.

*Figure 53, Liaison de la Trabectine avec le complexe
ADN-XPG*

Le complexe NER a pour rôle la réparation de l'ADN endommagé par les agressions diverses qu'elle peut recevoir, comme certaines irradiations et certains agents chimiques, comme le cisplatine, les cyclopurines... L'intervention du complexe NER est montrée dans le schéma ci-dessous, extrait d'un article de l'INSERM (43).

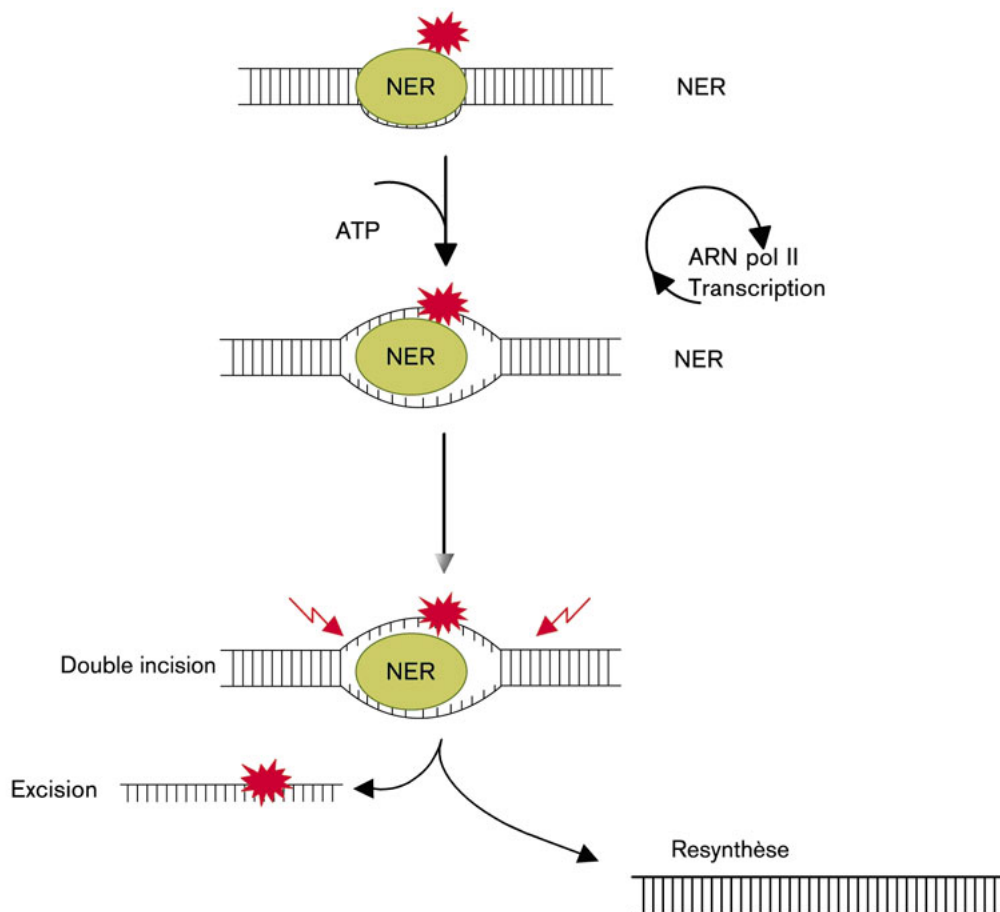


Figure 54, Mécanisme d'action du complexe NER (43)

Le complexe NER intervient lorsqu'il détecte une distorsion de l'ADN. Plus la distorsion est importante et plus la reconnaissance sera efficace. Le complexe NER agit via deux voies différentes : la GG-NER (global genome NER) qui agit sur la totalité du génome et la TC-NER (transcription coupled NER) qui répare les régions activement transcrites de l'ADN. Une fois la lésion reconnue, l'ADN est ouvert, incisé autour de la lésion (en deux endroits différents), synthétisé à nouveau puis une ligation a lieu, comme montré sur le schéma ci-dessus. (44)

De par cette interaction, le complexe ADN-XPG n'est plus capable de réparer les lésions et forme des complexes cytotoxiques, qui induiront la mort des cellules cancéreuses.

Ainsi, à la différence des autres anticancéreux, le Yondelis n'est efficace qu'en présence d'un système NER fonctionnel.

De plus, le complexe NER-ADN-Yondelis bloque la cellule en phase S (le cycle cellulaire sera décrit plus loin dans cette thèse), créant ainsi des lésions devant être réparées par recombinaison homologues. Le système de recombinaisons homologues (échange de fragments d'ADN entre double brins possédant des séquences identiques) sera ainsi capable de réparer les cellules non déficientes,

tandis que les cellules ayant une protéine du système de recombinaison déficiente seront particulièrement sensibles au Yondelis®.

Ainsi, les cellules cancéreuses seront bloquées en fin de phase S ou en phase G2.

4. AMM :

Le Yondelis® existe actuellement sous forme de poudre à diluer en vue d'une administration en perfusion, de 0,25 mg et de 1 mg.

Il est indiqué dans les sarcomes des tissus mous évolués, après échec d'un traitement à base d'anthracycline et d'ifosfamide (en cas d'impossibilité d'injection des traitements précédemment cités). Dans cette indication, le Yondelis est injecté à la dose de 1,5 mg/m² en intraveineuse de 24 heures toutes les trois semaines.

Il est également indiqué en association à la doxorubicine liposomale pegylée dans les cancers des ovaires récidivants sensibles au platine. Dans cette indication, le Yondelis est injecté à la dose de 1,1 mg/m² en intraveineuse de 3 heures toutes les trois semaines immédiatement après l'injection de la doxorubicine à 30 mg /m².

Les principaux effets indésirables du Yondelis® consistent en des modifications de la NFS (neutropénie, thrombopénie, anémie), ainsi que des affections gastro-intestinales (nausées, vomissements, diarrhées...).

c) Halaven ® (Eribuline) :

L'Eribuline est une molécule utilisée depuis plus de 7 ans dans le traitement de certains cancers du sein. Elle a été synthétisée pour la première fois par le laboratoire KISHI en 1992, qui, pour ce faire, s'est inspiré de l'Halichondrine B, molécule extraite par Messieurs Hirata et Uemura d'une éponge marine en 1985.

1. La découverte de l'Halichondrin B :

La molécule à l'origine de l'Eribuline, l'Halichondrin B, a été extraite pour la première fois d'une éponge marine, l'*Halichondria okadai*. Cette éponge est une espèce endémique présente aux large des côtes de l'archipel japonais.

L'*Halichondria okadai* (45) appartient à :

-l'embranchement des Porifera : il correspond aux éponges. Ce sont des organismes relativement simples et peu différenciés. Ils ne possèdent qu'un système nerveux primitif. L'une des caractéristiques les plus intéressantes des éponges consiste en une différenciation possible de leurs cellules.

- la classe des Demospongiae : Ce sont des éponges comprenant un squelette plus ou moins rigide, constitués de spicules de grandes tailles (mégasclère) et de plus petite taille (microsclères).
- l'ordre des Suberitida
- la famille des Halichondriidae

2. La synthèse de l'Eribuline :

La synthèse de l'Eribuline représente une étape essentielle dans le processus de commercialisation de cette dernière. En effet, le manque de matériel naturel rendait impossible l'extraction de cette molécule pour des études de grande envergure, et représentait un obstacle majeur à la commercialisation de celle-ci.

Cette synthèse s'est déroulée en plusieurs étapes : la première consistant en l'obtention de quelques milligrammes de produits et la seconde en l'obtention des grammes de produit nécessaires à la commercialisation. (46)

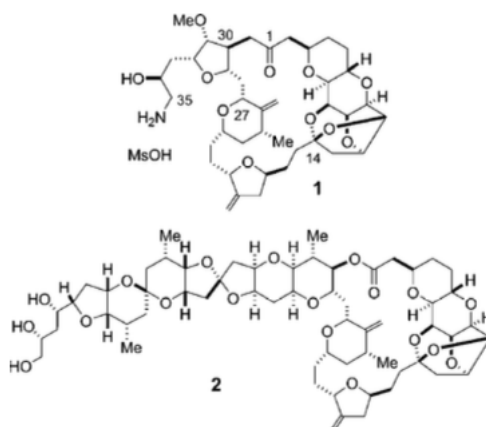


Fig. 1 The chemical structures of eribulin mesylate (1) and halichondrin B (2).

Figure 55, Structure chimique de l'Eribuline (1) et de l'Halichondrine B (2) (46)

- Obtention de quelques milligrammes de produit :

Cette étape, essentielle à la mise en place d'études et d'essais cliniques de la molécule, repose sur la division de l'Eribuline en 3 fragments. Deux de ces fragments (C1-C13 et C14-C26, selon la numérotation des carbones de l'halichondrin B), avaient déjà été préparés et décrits par Kishi en 1992. Il restait donc à parvenir à la synthèse du dernier fragment, C27-C35 et à assembler ces trois tiers. Pour la synthèse du fragment C27-C35, les chercheurs sont partis d'un dérivé de L-arabinose (présenté en (3) dans la figure ci-dessous). Ils ont ajouté aux 9 étapes de création du dérivé de L-arabinose 14 autres étapes de transformations pour parvenir à synthétiser le fragment C27-C35.

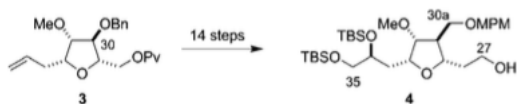


Fig. 2 The conversion of stock intermediate **3** to C27-C35 fragment **4**.

Figure 56, Conversion d'un dérivé de L-arabinose en fragment C27-C35 (46)

Au final, pour synthétiser le fragment C27-C35 grâce à cette méthode, il est nécessaire de passer par 23 étapes depuis le matériel disponible dans le commerce, on obtient ainsi un mélange isomérique difficile à séparer.

Il est ensuite nécessaire d'assembler les 3 constituants de la molécule finale. Pour ce faire, une astuce a dû être utilisée : au lieu de fusionner les parties C1-C13 et C14-C35 comme prévu initialement (grâce à un couplage au niveau de C13-C14 suivi d'une réaction de macrolactonisation de Yamaguchi en C1), ces dernières ont été fusionnées entre C30a et C1 avec une fermeture du cycle cétone entre C13 et C14 grâce à une réaction intramoléculaire de Nozaki-Hiyama-Kishi. Grâce à tous ces procédés, la synthèse de 600 microgrammes de molécule a été possible. Cette quantité, bien que faible, a permis l'étude de la molécule avec sa caractérisation chimique ainsi que son étude biologique in vitro.

Cette méthode a cependant rapidement trouvé sa limite. En effet, la réaction entre les fragments **5** et **6**, présent sur le schéma ci-dessous, utilisant une réaction d'échange halogénique, ne permet l'obtention que de quelques centaines de milligrammes, de par la faiblesse de sa réaction. Avec une quantité aussi faible de produit, il était impossible de lancer les études de toxicité.

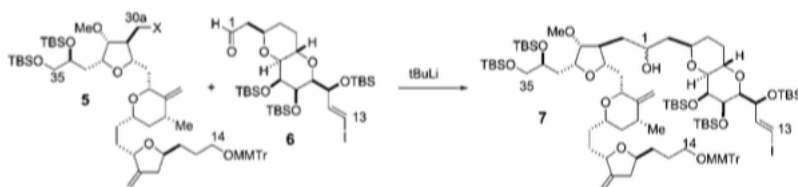


Fig. 3 The key coupling reaction in the original synthesis of eribulin (X = I).

Figure 57, Réaction de couplage utilisée à l'origine dans la synthèse de l'Eribuline (46)

Cette méthode, complexe à mettre en place, a ainsi permis l'étude de la molécule sur le plan chimique, mais n'a pas permis de produire assez de matière première pour aller plus loin.

- Obtention de grammes de produit :

La nécessité d'obtenir de plus importantes quantités de matière première pour les tests a poussé les scientifiques à travailler sur de plus petites molécules et à les combiner pour arriver à l'Eribuline finale. (46)

Cette synthèse chimique, qui ne part pas d'une extraction de produit issu de la nature prouve qu'il est possible de reproduire une molécule naturelle de manière entièrement chimique, et ainsi de ne pas avoir à épuiser les ressources naturelles présentes en faible quantité dans les océans.

3. Mécanisme d'action

L'Eribuline agit sur la tubuline. Son mécanisme d'action est cependant différent des molécules déjà connues, comme les anticancéreux de la famille des taxanes. L'Halaven® inhibe la dynamique des microtubules en empêchant la polymérisation de ceux-ci, sans agir sur la dépolymérisation. Elle entraîne une séquestration de la tubuline en agrégats non fonctionnels et induit l'arrêt de la mitose de la cellule. La cellule, alors bloquée en phase G2/M s'apoptose suite au blocage mitotique irréversible entraîné par l'Halaven®. Cette activité a été attribuée au noyau lactone de l'Halaven®.

La figure ci-dessous compare le mécanisme d'action de l'éribuline et des taxanes/vinca-alcaloïdes.

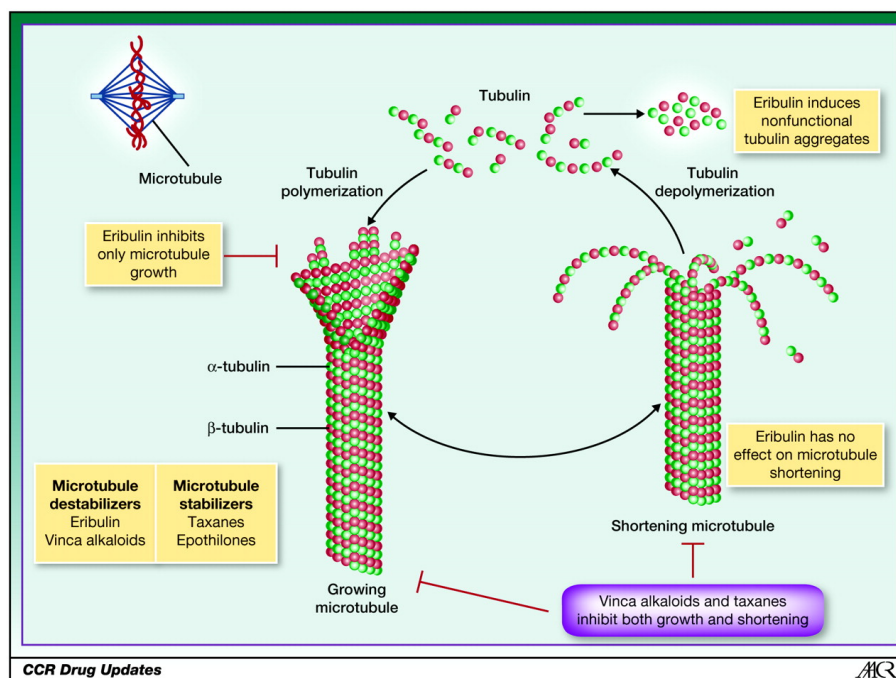


Figure 58, Mécanisme d'action de l'Eribuline (47)

4. AMM

L'halaven® a obtenue l'AMM dans le cancer du sein localement avancé ou métastatique, en progression malgré un traitement par anthracycline et taxane (sauf contre-indication du patient à ces traitements).

Il est également indiqué dans le traitement du liposarcome de l'adulte déjà traité par anthracycline, et non résécable. (48)

Le dose d'Eribuline recommandée est de 1,23 mg/m² en IV à J1 et J8 (sur un cycle de 21 jours). La dose peut être diluée dans du NaCl 0,9% pour l'administration.

Ses principaux effets indésirables consistent en une neutropénie nécessitant un bilan avant toute injection, une altération du bilan sanguin ionique, des neuropathies périphériques, des nausées, vomissements, une alopécie et une perte de poids avec perte de l'appétit et asthénie.

Ci-dessous les recommandations d'adaptation posologiques suite à un effet indésirable apparu lors d'une injection :

Recommandations pour la réduction des doses	
<i>Effet indésirable après une administration antérieure de Halaven</i>	Dose d'éribuline recommandée
<i>Hématologique</i>	
PNN < 0,5 × 10 ⁹ /l persistant plus de 7 jours	0,97 mg/m ²
PNN < 1 × 10 ⁹ /l compliquée par de la fièvre ou une infection	
Plaquettes < 25 × 10 ⁹ /l, thrombopénie	
Plaquettes < 50 × 10 ⁹ /l, thrombopénie compliquée par une hémorragie ou nécessitant une transfusion de sang ou de plaquettes	
<i>Non hématologique</i>	
Tout événement de grade 3 ou 4 lors du précédent cycle	0,97 mg/m ²
<i>Réapparition de tout effet indésirable hématologique ou non, tel que précisé ci-dessus</i>	
Malgré la réduction à 0,97 mg/m ²	0,62 mg/m ²
Malgré la réduction à 0,62 mg/m ²	Envisager l'arrêt du traitement

La dose d'eribuline ne doit pas être réaugmentée après avoir été réduite.

Figure 59, Recommandation de diminution de doses d'Eribuline en fonction de ses effets indésirables (48)

L'Eribuline est donc un anti-cancéreux obtenu grâce à l'étude des éponges marines. Son cas est particulièrement intéressant car il a nécessité une connaissance du milieu marin, de par l'étude des éponges et de leurs biotopes. Cette connaissance a permis de définir l'intérêt de l'halichondrine B. Cette molécule, comme beaucoup d'autre, était intéressante sur le plan de la santé mais posait un problème écologique : impossible à extraire en grande quantité, elle risquait de ne jamais pouvoir être utilisée à grande échelle. Ce problème a été résolu grâce à l'arrivée de la synthèse chimique totale de

la molécule. La nature a inspiré les chercheurs, qui ont pu recréer chimiquement une molécule naturelle aux propriétés intéressantes.

d) Roscovitine

1. Origine de la roscovitine

La Roscovitine (montré dans la figure ci-dessous) est une molécule de la famille des purines, nommée en fonction de sa ville de découverte, Roscoff en France. Elle a été découverte par Laurent Meijer en 1995 sur des œufs d'étoile de mer. Selon les ouvrages, elle peut apparaître sous le nom de roscovitine, seliciclib ou CY-202. Sa formule chimique est la suivante : $C_{19}H_{26}N_6O$.

Elle est exploitée par deux firmes différentes : ManRos Therapeutics® et Cyclacel®.

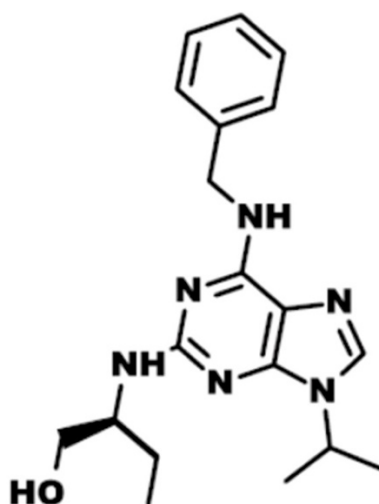


Figure 60, Roscovitine

2. Mécanisme d'action

Cette molécule est inhibitrice des CDKs (Cyclines Kinases Dépendantes) par compétition direct au site de liaison de l'ATP. Elle a une action inhibitrice sur CDK1, CDK2, CDK5 et CDK7 ainsi que sur CDK4 et CDK6 dans une moindre mesure. Les CDKs (voir le tableau ci-dessous) permettent la phosphorylation de nombreuses protéines, et ont un rôle prépondérant dans la vie d'une cellule (prolifération, cycle cellulaire, apoptose...). Elles agissent à tous les niveaux du cycle cellulaire (figure ci-dessous) et permettent le passage d'une phase du cycle à une autre.

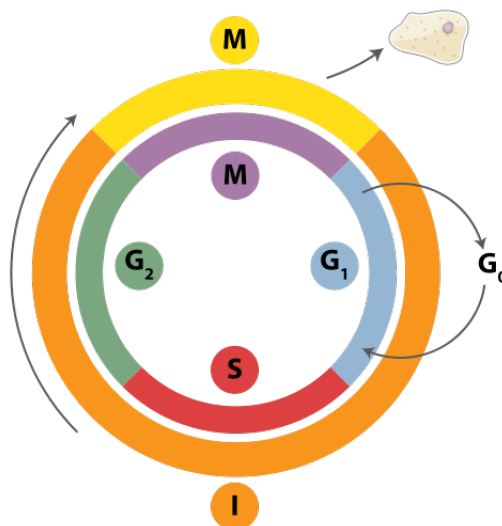


Figure 61, Cycle cellulaire, avec

M: phase de mitose

I: Interphase

Le cycle cellulaire comprend deux grandes étapes : l'interphase et la phase de mitose. Durant l'interphase, la cellule se prépare à se diviser, à subir la mitose. La première phase de l'interphase est la phase G₁ : la cellule grossit et synthétise des protéines. Quand elle atteint une taille assez importante, elle peut passer en phase S, où elle réplique son ADN. Une fois l'ADN répliqué la phase G₂, une autre phase de croissance, débute. La cellule sort ensuite de l'interphase pour passer en phase de mitose, phase de division cellulaire.

Voici un tableau présentant le rôle des CDKs :

Tableau 7, Mécanisme d'action des CDKs (42)

CDK	Cycline	Rôle
CDK1	Cycline B	Favorise la mitose
CDK2	Cycline E (transition G ₁ /S) Cycline A (phase S et G ₂)	Passage de la phase G ₁ à la phase S
CDK4	Cycline D	Initie le passage d'une cellule quiescente à une cellule proliférative
CDK5	P35	Rôle dans la transcription
CDK6	Cycline D	Initie le passage d'une cellule quiescente à une cellule proliférative
CDK7	Cycline H	Rôle dans la transcription

Les CDKs agissent donc à tous les niveaux du cycle cellulaire. Elles sont une cible de choix dans les pathologies où ce cycle est dérégulé, comme les cancers.

3. Les essais en cours

La Roscovitine est actuellement impliquée dans de nombreux essais cliniques. (Voir figure ci-dessous).

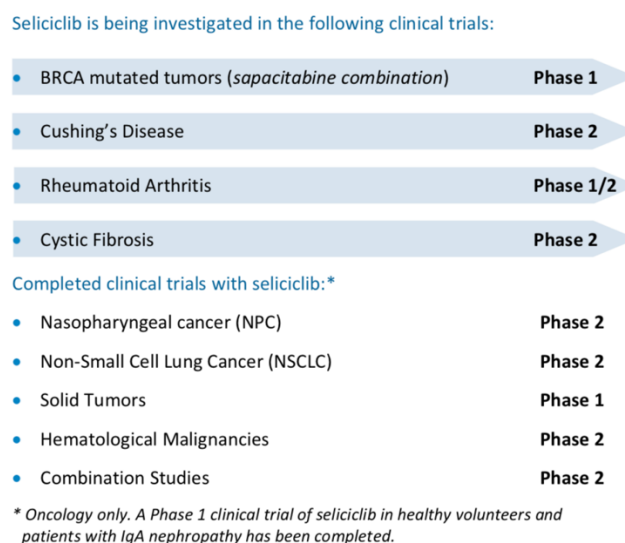


Figure 62, Phase d'essais de la Roscovitine en fonction de la pathologie (49)

La Roscovitine est en phase 1 des essais cliniques dans son utilisation contre le cancer du sein où le gène BRCA (suppresseur de tumeurs) est muté. Dans cette pathologie, les CDK2 et 9 participent à la réparation de l'ADN et sont donc des cibles de choix à inhiber. Dans ce cadre, la Roscovitine est en phase de test en association avec la Sapacitabine dans le cancer du sein où BRCA est muté. Elle est également en phase de test (phase 2) dans la maladie de Cushing (hypercorticisme dû à une synthèse d'ACTH par l'hypophyse suite à la présence d'un adénome), où elle est utilisée pour réduire la production d'ACTH dans les tumeurs de l'hypophyse. La molécule est en phase 2 dans le traitement de la mucoviscidose, où l'arsenal thérapeutique est faible. Elle pourrait avoir une action correctrice dans la mutation F508del, courante dans la maladie et pourrait aider à restaurer l'activité déficiente des macrophages. (49)

La Roscovitine, molécule inspirée des œufs d'une étoile de mer, pourrait ainsi être commercialisée dans divers domaines ces prochaines années, et aider à diversifier l'arsenal thérapeutique parfois insuffisant.

V.3.Les outils de laboratoire issus de la mer :

Après avoir étudié quelques molécules d'intérêt thérapeutique extraites de la mer, nous allons nous intéresser dans cette partie à une autre catégorie de molécules originaires de la mer : les molécules utilisées en tant qu'outils de laboratoire. La première partie de ce chapitre sera dédiée à une technique devenue courante en laboratoire : la technique de PCR. Nous nous intéressons plus particulièrement à l'enzyme de cette technique, qui est d'origine marine. Dans la seconde partie de ce chapitre, nous aborderons d'autres molécules d'intérêts pour les laboratoires, ainsi que leurs origines et leurs découvertes.

a) PCR :

La PCR, ou Polymerase Chain Reaction, est une technique d'amplification de l'ADN. Elle permet de multiplier un petit fragment d'ADN grâce à une réaction enzymatique (l'enzyme étant la Taq polymérase). Cette technique est un ensemble de 3 étapes répétées permettant une élongation de l'ADN de départ.

Cette technique datant des années 1990 est maintenant une technique courante. Elle est utilisée à de nombreuses fins : le diagnostic de maladies en médecine, identification de personnes via leur ADN en médecine légale, pour certaines études phylogénétiques, pour identifier certaines espèces en agroalimentaire...

Voici le matériel utilisé lors d'une PCR :

- L'ADN à amplifier
- Les amorces (deux amorces sont nécessaires)
- Les dNTPs (désoxyribonucléotides Tri-phosphates)
- L'enzyme Taq polymérase

Une PCR se déroule comme montré sur la figure ci-dessous :

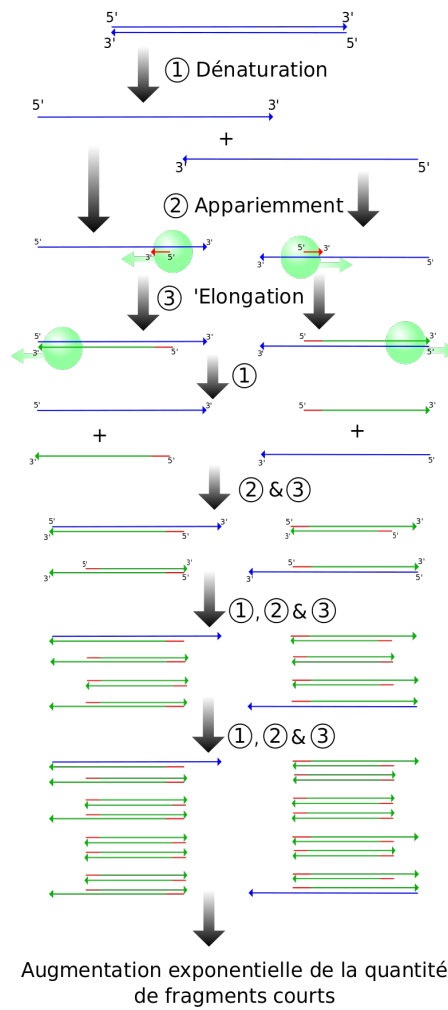


Figure 63, Déroulement d'une PCR.

La première étape de la PCR est la dénaturation : l'ADN double brin est chauffé à 95°C, ce qui lui permet de se séparer en deux simples brins.

L'étape d'hybridation (ou appariement sur le schéma ci-contre) débute alors. Cette étape se situe entre 50 et 60°C. Elle correspond à l'hybridation des deux amorces au brin d'ADN via des liaisons hydrogènes. Les amorces doivent donc être spécifiques de la région à amplifier.

Pour la dernière étape, appelée élongation, la température doit être fixée à 72°C, température optimum pour que la Taq polymérase agisse. Cette étape correspond à l'ajout des dNTPs à la suite des amorces, et donc à la synthèse du brin complémentaire au brin matrice.

Ces trois étapes seront ensuite répétées pour obtenir assez de matériel.

La question qui nous intéresse ici concerne l'enzyme nécessaire à cette réaction de laboratoire, aujourd'hui utilisée couramment, la Taq polymérase, et plus particulièrement son origine. Cette enzyme provient d'une bactérie, *Thermus aquaticus*.

Cette bactérie, découverte en 1969 par Thomas Brock, dans le parc national de Yellowstone aux États-Unis est l'un des premiers organismes extrêmophiles découvert, c'est-à-dire vivant dans un environnement extrême (les sources chaudes du Yellowstone).

Un environnement extrême se définissait au départ par un environnement où l'homme ne pouvait survivre. Ce concept a évolué au fil du temps pour définir un environnement où toute forme de vie macroscopique semblait impossible, puis où le milieu semblait stérile de toute vie. Cependant, l'avancée de la science permet actuellement d'identifier de plus en plus d'organismes vivants dans ces milieux qui se disaient « stériles ». On pourrait actuellement définir un environnement extrême comme un environnement où le pH et/ou la température sont soit élevés soit bas.

Ainsi, *Thermus aquaticus* vit à des températures comprises entre 50 et 80°C et a un pH compris entre 2 et 3. La Taq polymérase (contraction de *Thermus aquaticus*) est une enzyme résistante aux fortes températures, du fait du milieu de vie de la bactérie la produisant. Cette résistance aux températures élevées est ce qui a permis la mise en place de la technique de PCR.

Il existe de nombreux autres milieux extrêmes à travers le monde, et l'étude systématique du monde bactérien présent en ces lieux pourrait être source de nouvelles molécules, de nouveaux composés utiles et atypiques.

b) Les réactifs de laboratoire :

Plusieurs molécules extraites de la mer peuvent actuellement être utilisées en laboratoire, comme réactifs.

C'est par exemple le cas de l'acide kaïnique, un acide aminé analogue de structure de l'acide glutamique, extrait d'une algue rouge, *Digena simplex*. Il est utilisé en injection intra-amygdalienne

ou parentérale chez le rat pour créer un modèle d'étude de l'épilepsie. En effet, ces injections suractivent les cellules nerveuses jusqu'à les détruire de manière similaire à une crise d'épilepsie.

Voici l'acide kaïnique :

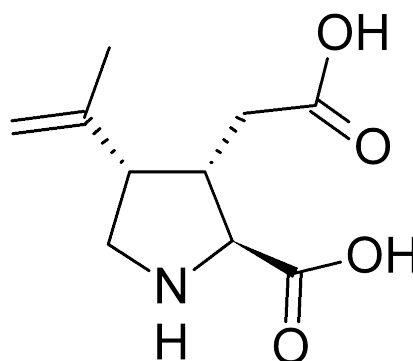


Figure 64, Acide kaïnique

L'aequorine est une autre molécule d'intérêt en laboratoire. Cette photoprotéine est extraite d'un cnidaire, *Aequora aequorea*, et est à l'origine du prix Nobel de chimie de 2008, attribué à Osamu Shinomura, Roger Tsien et Martin Chalfie.



Figure 65, Photo d'*Aequora aequora*

Avant cette découverte, les réactions photoluminescentes connues étaient du type luciférine-luciférase, ce qui signifie qu'elles mettent en jeu une enzyme et son substrat. Après l'échec de nombreuses extractions pour isoler ces deux composants, Osamu Shinomura eut l'idée d'une nouvelle théorie : une réaction où enzyme et substrat étaient trop étroitement liés pour être séparés. Il démontre alors que la réaction lumineuse était due à une apoprotéine associée à une petite molécule (coelentérazine) qui constitue le chromophore. L'ion calcium, en se liant, induit ensuite un

changement de conformation de l'apoprotéine, qui libère le chromophore et émet un photon. Il nomme la protéine aequorine. Le concept de photoprotéine a ainsi été mis en avant.

Cet outil, du fait de sa sensibilité au calcium, est devenu l'un des outils permettant de le doser. L'étude de cette méduse a aussi permis la découverte d'une autre molécule d'intérêt. En effet, la méduse *Aequora aequora* émet un pic de luminescence dans le bleu, causé par l'aequorine, mais aussi dans le vert. Cette deuxième émission lumineuse est due à la GFP (Green Fluorescent Protein, montrée ci-dessous), elle aussi utilisée dans le marquage cellulaire.

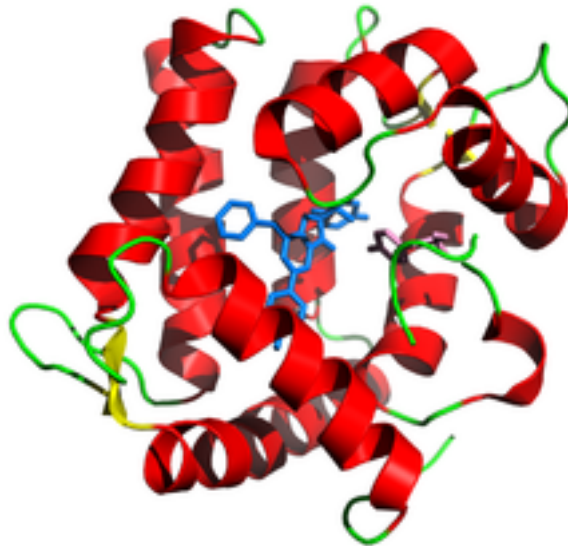


Figure 66, Structure de l'aequorine

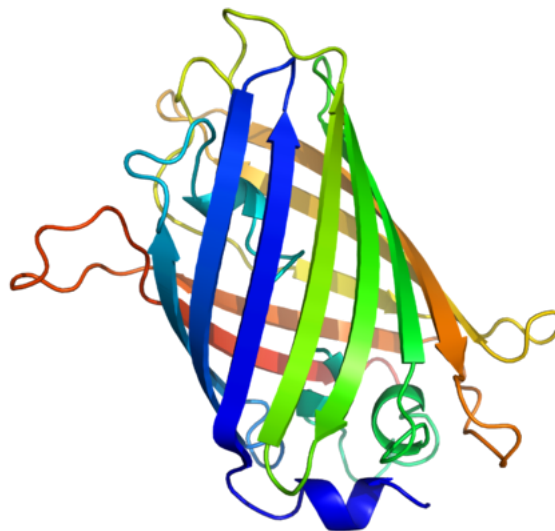


Figure 67, Structure de GFP

V.4. Les biotechnologies et la cosmétologie :

Dans le domaine de la cosmétique, l'océan est largement mis en avant pour ses qualités physico-chimiques. On retrouve plusieurs articles dans des magazines ainsi que sur le web à ce sujet, qui le popularisent.

Le magazine Marie Claire parle de « pouvoir extraordinaire de régénération », abordant des questions comme la biocompatibilité marine supérieure à celle des cosmétiques « terrestres » : la mer aurait une répartition en oligominéraux vitamines et acides gras similaire à celle de notre plasma, et les actifs marins n'entraîneraient presque jamais de réactions car ils sont en « terrain connu », la première cellule vivante de l'eau.

Le magazine Psychologie parle quant à lui d'algues qui hydratent, d'eau qui reminéralise, de bactéries qui apaisent...

Même si on peut douter des arguments mis en avant par tous ces magazines populaires, le fait est que les articles au sujet de la cosmétologie marine se multiplient créant une demande de plus en plus forte de la population pour cette gamme de cosmétique.

De nombreux laboratoires de parapharmacie répondent à cette demande comme Algotharm et Labiomer deux laboratoires bretons qui exploitent les algues présentes dans les mers de leur région.

Le laboratoire Algotharm (50) utilise un « alguier » composé de trente espèces différentes, que l'on peut facilement retrouver sur leur site internet. Il met en avant la similitude entre la composition oligo-minérale et minérale de la peau et des algues et catégorise le transfert de ces oligo-minéraux de leurs produits à la peau comme un transfert osmotique.

L'algue brune *Fucus spiralis*, peut être utilisée traditionnellement par voie orale comme coupe faim ou dans la lutte contre l'obésité est utilisée dans leurs produits en application cutanée pour traiter les peaux grasses.

On retrouve chez ces laboratoires toutes les formes classiques de cosmétiques, du sérum à la crème. Toutes ces gammes mettent en avant leur utilisation des produits marins, de produits naturels. Ci-dessous différents exemples de produits, présent sur les sites internet des gammes Algotharm et Labiomer.



Figure 68, Savon du laboratoire Labiomer, aux extraits d'algues



Figure 69, Sérums et baumes issus du laboratoire Algotharm



Figure 70, Logo d'Algotharm, mettant en avant l'origine de leurs produits (issus des algues)

Le monde de la cosmétique porte aussi un intérêt croissant aux microorganismes marins (microalgues, phytoplanctons, bactéries...). Dans ce contexte, le laboratoire Lanatch en association avec Ifremer a développé à partir d'*Alteromonas macleodii* l'Abyssine 657®. Cette molécule est un dérivé de l'exopolysaccharide (longue molécule résultant de l'enchaînement de glucides relarguée dans le milieu par la bactérie), synthétisé par cette bactérie. Cet exopolysaccharide possède des propriétés anti-UV, restructurantes et un effet anti-irritant, ce qui en fait un outil idéal pour la cosmétologie.

Un autre exemple de cette utilisation de bactérie dans le domaine de la cosmétique est le Vénucéane®. Cette molécule extraite des bactéries *Thermus thermophilus* du golfe de Californie, sur les flancs des fumeurs noirs, est exploitée par le laboratoire Sederma pour ses propriétés anti-oxydantes et anti-UV.

VI. Une exploitation devant être raisonnée :

La dernière partie de cette thèse s'attachera au domaine de l'écologie, appliqué au monde marin. En effet, après avoir souligné l'importance que revêt cette biomasse et son contenant, il paraît essentiel d'aborder sa protection. Le premier chapitre de cette partie portera sur la connaissance du cycle de l'eau, connaissance nécessaire à une protection efficace de ce milieu. Le second chapitre tentera de faire un inventaire de l'impact négatif de la pharmacie sur les différents domaines marins du globe. Enfin, le dernier chapitre portera son attention sur les moyens de protection mis en œuvre par l'Homme et en cours d'étude pour protéger ce vaste milieu.

VI.1. Le cycle de l'eau :

Dans ce chapitre, nous allons nous attacher à l'étude du cycle de l'eau. Ce cycle, décrivant la vie de l'eau de son départ des océans jusqu'à son retour est aujourd'hui bien connu. La première partie de ce chapitre sera dédiée au constat de la répartition aquatique sur Terre et permettra de mieux appréhender la deuxième partie du chapitre, qui décrira le cycle de l'eau à l'état naturel. La troisième et dernière partie du chapitre sera consacrée aux différentes interactions existantes entre l'Homme et le cycle de l'eau, et permettra de mieux comprendre l'influence humaine sur les eaux dans le monde.

a) Répartition de l'eau sur Terre

La planète Terre est la seule planète de notre système solaire connue à ce jour pour posséder une hydrosphère (la totalité des eaux sur une planète). Celle-ci est constituée d'environ 1,4 milliards de kilomètres cube d'eau, répartie de manière inégale.

Le plus grand réservoir aqueux de la planète est le réservoir rassemblant les océans et les mers : on y retrouve 97,4% de l'eau de la planète. L'eau douce représente donc 2,6% de l'hydrosphère de la planète, répartie dans 6 types de réservoirs : 77% de l'eau douce (soit 2% de l'hydrosphère) est emprisonné dans les glaciers, 22% est souterraine (soit moins de 1% de l'hydrosphère). Les 1% restants sont répartis entre lacs d'eau douce, rivières et humidité des sols. Une infime partie se retrouve dans l'atmosphère et les cellules des êtres vivants (eau intracellulaire). (51)

L'eau utilisable par l'Homme représente donc une part infime de l'hydrosphère de la planète. De plus, cette eau est inégalement répartie dans le monde. 60% de l'eau douce renouvelable est partagée par les « 9 géants de l'eau », à savoir le Brésil, la fédération Russe, l'Indonésie, la Chine, le Canada, les États-Unis, la Colombie, le Pérou et l'Inde. A l'inverse, d'autres pays sont pratiquement dépourvus de cette ressource, comme le Koweït, l'Israël, la Lybie...

b) Le cycle naturel de l'eau

Voici le cycle naturel de l'eau, aussi appelé grand cycle de l'eau (52):

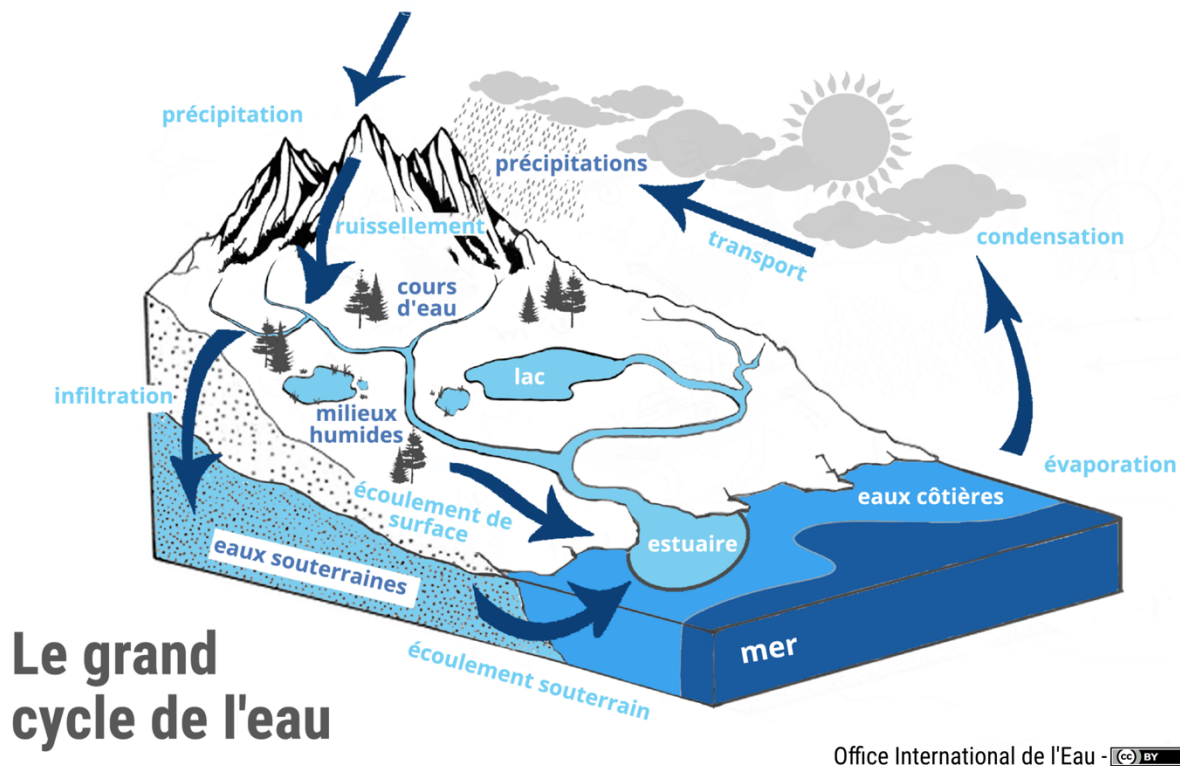


Figure 71, Grand cycle de l'eau, © OIEau, 2017

Le cycle de l'eau comprend, comme montré sur le schéma, deux grandes parties : l'une d'elle est atmosphérique tandis que l'autre est terrestre.

Le transfert entre les différents réservoirs est continu et important : ce sont chaque jour plus de 1000 milliards de tonnes d'eau qui passent dans l'atmosphère sous forme de vapeur depuis les eaux de surface (continentales et océaniques). C'est l'étape d'évaporation. Lors de cette étape, l'évaporation de l'eau de l'océan permet d'épurer l'eau de ses bactéries, déchets, toxines, et de son sel qui ne peuvent s'évaporer en même temps que l'eau. L'eau qui poursuit son cycle est alors purifiée. Cette eau évaporée va se condenser et former des nuages qui se déplacent grâce aux vents. L'eau va ensuite sortir de la phase atmosphérique via des précipitations.

Pendant son cycle terrestre, elle peut ruisseler et rejoindre un cours d'eau qui rejoindra finalement la mer, s'infiltrer dans le sol plus ou moins profondément (pouvant former des eaux souterraines), ou s'écouler directement de la surface vers l'océan, revenant à son point de départ.

Durant ce cycle, toutes les molécules d'eau ne sont pas en mouvement permanent : une partie reste dans les réservoirs : la durée moyenne pendant laquelle une molécule d'eau réside dans un

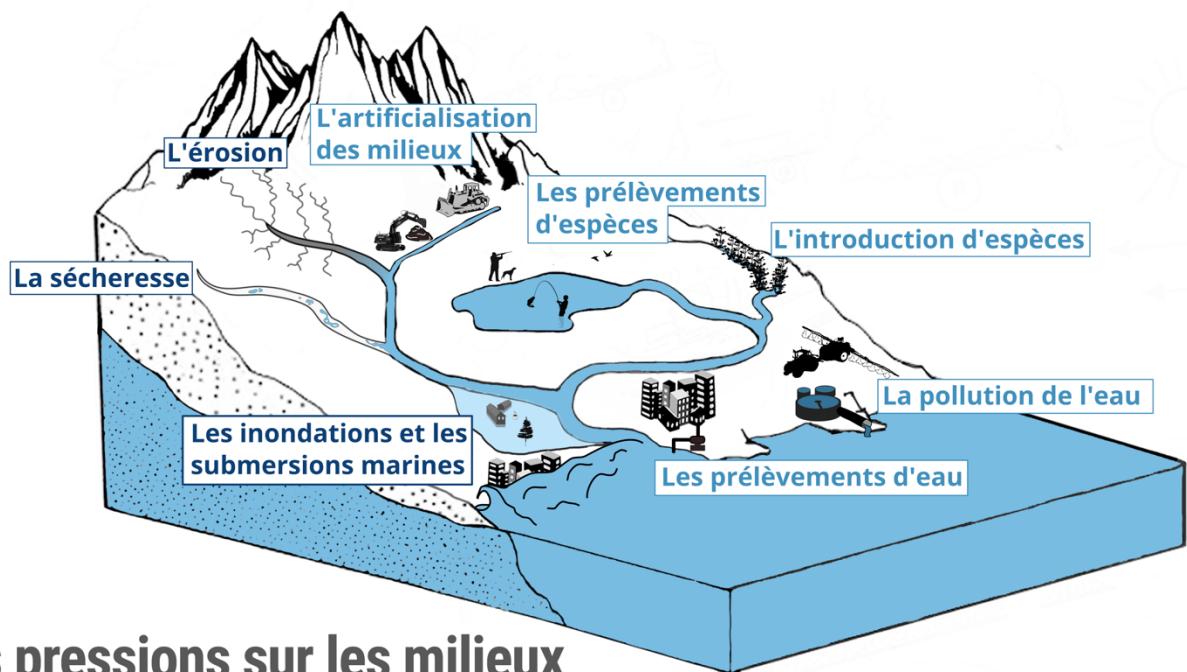
réservoir est appelé temps de résidence. Ce temps est différent selon les réservoirs. Ci-dessous les différents temps de résidence en fonction des réservoirs.

Les réservoirs	Les temps de résidence
Océans	2 500 ans
Eaux continentales	
Glaciers	1 600 à 9 700 ans
Eaux souterraines	1 400 ans
Mers intérieures	250 ans pour la mer Caspienne qui contient 80% de tout le volume d'eau de ce réservoir
Lacs d'eau douce	17 ans pour les grands lacs 1 an pour les autres lacs
Humidité des sols	1 an
Rivières	16 jours
Atmosphère (humidité de l'air)	8 jours
Biosphère (cellules vivantes)	quelques heures

Figure 72, Temps de résidence de l'eau en fonction des réservoirs, d'après L'eau, Ghislain de Marsily, Dominos Flammarion, 1995

On remarque que tous les réservoirs sont liés et que l'eau qui y stagne reste parfois de nombreuses années, voir des siècles. Tout changement peut donc avoir des conséquences sur de nombreuses années.

c) Action de l'Homme sur le cycle de l'eau



Les pressions sur les milieux aquatiques et les risques naturels liés à l'eau

Office International de l'Eau -

Figure 73, Pressions sur les milieux aquatiques, © OIEau, 2018

Sur la figure 73 ci-dessus sont exposées les différentes phases du cycle de l'eau où intervient l'Homme. On constate qu'il interagit à tous les niveaux avec ce cycle.

Les prélèvements d'eau notés sur le schéma correspondent à un usage courant de l'eau, qu'il est possible de classer en 3 catégories : les usages domestiques, l'agriculture et l'industrie.

Concernant les usages domestiques, ils comprennent l'alimentation, les activités de lavage, l'hygiène personnelle, l'évacuation des déchets et l'arrosage des jardins. La consommation en eau est très inégale dans les différents pays du monde : on consomme en moyenne 200 litres d'eau par personne et par jour aux États-Unis contre 5 litres par jours à Madagascar. (51) De plus, l'accès à l'eau est lui aussi inégal dans les différentes régions du monde. Selon le graphique ci-dessous (Source : OMS, Unicef. Données 2015 – © Observatoire des inégalités) en 2015, 88,5% de la population avait accès à l'eau. On constate aussi que ce chiffre est en constante augmentation depuis les années 2000.

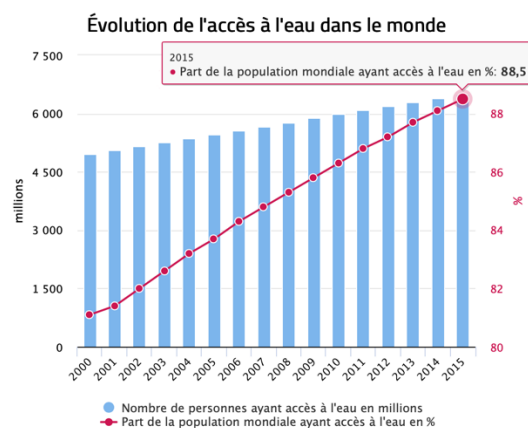


Figure 74, Évolution de l'accès à l'eau dans le monde, selon l'OMS, Unicef

Un accès à l'eau signifie avoir accès à un point d'eau potable à moins de 30 min de marche aller-retour. Le tableau ci-dessous détaille cet accès : 71% de la population mondiale a accès à l'eau courante à domicile et 17% doit encore effectuer jusqu'à 30 min de marche pour y avoir accès (Source : OMS, Unicef. Données 2015 – © Observatoire des inégalités)

Répartition de la population mondiale selon son accès à l'eau potable		
	Nombre en millions	Répartition en %
Eau potable à domicile*	5 230	71
Accès à l'eau potable à moins de 30 min. aller-retour	1 275	17
Population ayant accès à l'eau potable	6 505	89
Accès à l'eau potable à plus de 30 min.	263	4
Puits ou source non protégé	423	6
Eaux de surface	159	2
Population sans accès à l'eau potable	844	11
Ensemble	7 349	100

Figure 75, Répartition de la population mondiale selon son accès à l'eau potable

L'agriculture représente une part très importante de l'utilisation de l'eau dans le monde. Quelques exemples suffisent à le comprendre : produire un kilo de blé demande 1500 litres d'eau, un kilo de riz en demande 4500. Dans les pays chauds, la technique de l'irrigation représente elle aussi un fort pourcentage de l'eau utilisée. Au final, la majeure partie de l'eau utilisée va à l'agriculture. Cette constatation est très visible dans les pays en voie de développement, comme pour la Chine qui utilise 92% de l'eau qu'elle consomme dans l'agriculture.

Les industries sont aussi de fortes consommatrices d'eau. 10 tonnes d'eau sont nécessaires pour raffiner 1 tonne de pétrole, 100 tonnes d'eau sont nécessaires pour 1 tonne d'alcool. De plus, les eaux sont souvent contaminées à la sortie des chaînes de fabrication et demandent un traitement complexe de purification (cela correspond à une partie de l'eau polluée sur le schéma). On observe

de fortes disparités entre les pays industrialisés qui essaient de raisonner l'utilisation de cette eau et les pays émergents, à qui elle est nécessaire et qui l'utilisent de manière non raisonnée.

L'homme peut aussi influencer indirectement le cycle de l'eau, en modifiant les écosystèmes (prélèvement et introduction d'espèces, artificialisation des milieux sur le schéma).

L'Homme a aussi mis en place son propre cycle de l'eau, que l'on appelle « petit cycle de l'eau », ou « cycle de l'eau domestique ». Il correspond à l'appropriation de cette ressource par l'Homme, de son prélèvement à son retour dans le milieu naturel.

Voici le cycle de l'eau domestique :



Figure 76, Cycle domestique de l'eau, source : Agence de l'eau Artois-Picardie

Ce cycle commence par le pompage : il correspond au prélèvement de l'eau dans le milieu naturel. L'eau prélevée est propre mais n'est pas potable.

Pour rendre cette eau potable, il faut la traiter (étape 2 du schéma). Elle est alors stockée, le plus souvent dans des châteaux d'eau. L'étape de distribution démarre alors. L'eau est acheminée aux usagers domestiques, aux industries et aux domaines agricoles. Une fois utilisée, l'eau part pour un traitement des eaux usées dans les différentes stations d'épuration. Elle sera, une fois traitée, rejetée dans le milieu naturel.

VI.2. La contamination et la pollution du milieu :

Dans ce chapitre composé de deux parties, nous étudierons une catégorie de pollution des eaux en particulier, en rapport avec cette thèse : la pollution des eaux par les médicaments. La première partie sera dédiée à une étude détaillant la présence de médicaments dans les eaux en France, tandis que la deuxième partie s'intéressera à l'un des effets possibles des perturbateurs endocriniens sur la faune marine.

a) Contamination médicamenteuse des eaux

Selon le rapport du WWDR de 2015 (53), d'ici 2030, si l'utilisation de l'eau ne change pas, 40% de la planète devra faire face à un déficit hydrique et la pollution de l'eau s'aggraverait jusqu'à cette date. Ce changement doit se faire tant au niveau des habitudes de vie que de l'utilisation intensive agricole et industrielle de l'eau.

L'une des habitudes qu'il faut changer concerne le domaine de la pharmacie : en effet, on retrouve plusieurs médicaments à l'état de trace dans les eaux potables du monde.

Ces traces médicamenteuses peuvent provenir des excréments des personnes traitées ainsi que des eaux de ruissellement emportant les excréments d'animaux traités (par antibiothérapie par exemple) ou par une destruction sauvage des médicaments. Les concentrations sont en général de l'ordre du dixième de microgramme par litre. Les molécules présentes seraient géographiquement dépendantes et seraient fonction de la nature des prescriptions et de l'utilisation des médicaments des pays. L'épuration jouerait également un rôle dans la présence de ces traces : certains procédés, comme l'osmose inverse, permettraient l'élimination de 99% des grosses molécules pharmaceutiques. Nous ne possédons aujourd'hui que peu de données sur l'impact humain que ces traces pourraient avoir. Les études qui ont été faites sont cependant rassurantes : les médicaments présents dans les eaux potables y seraient présents en trop faible quantité pour influencer notre santé. (54)

Nous allons maintenant nous attacher au cas français, en nous appuyant sur le rapport de 2011 publié par le laboratoire d'hydrologie de Nancy en collaboration avec l'ANSES. (55)

Cette campagne a étudié des échantillons provenant de la France entière (métropolitaine et outre-mer) représentant 25% des consommateurs d'eau potable de distribution publique français. Cela représente un échantillonnage de 280 prélèvements d'eau (brute et traitée), dont les 2/3 proviennent d'eaux souterraines et 1/3 d'eaux de surfaces. Sur une liste de 76 molécules prioritaires définie par l'Afssa en 2008, 45 ont pu être testées (avec une limite de quantification de 1 à 50 nanogrammes par litre d'eau). Les molécules analysées (de plusieurs classes et appartenant à la médecine vétérinaire et humaine) sont présentées dans le tableau ci-dessous, extrait de ce rapport.

Tableau 8, Liste des molécules dosées et performances analytiques (55)

Molécules	Famille thérapeutique	Médicaments	Limite de quantification (ng/L)	Robustesse de la méthode	% NM Eaux brutes	% NM Eaux traitées
Altrénogest	Hormones	Vétérinaires	10	robuste	2%	1%
Amlodipine	Cardiovasculaires	Humains	50	indicatif	11%	13%
Amoxicilline	Antibiotiques	Humains	50	indicatif	26%	23%
Ampicilline	Antibiotiques	Vétérinaires	50	indicatif	33%	33%
Aténolol	Cardiovasculaires	Humains	25	indicatif	13%	11%
Caféine	Divers	Humains	25	robuste	5%	4%
Carbamazépine	Neuroleptiques	Humains	5	robuste	0%	0%
Cyclophosphamide	Anticancéreux	Humains	5	robuste	0%	0%
Danofloxacin	Antibiotiques	Vétérinaires	25	indicatif	16%	9%
Dicyclanil	Antiparasitaires	Vétérinaires	25	indicatif	1%	1%
Doxycycline	Antibiotiques	Humains	50	indicatif	32%	46%
Epoxycarbamazépine	Neuroleptiques - Mét.	Humains	1	robuste	0%	0%
Erythromycine	Antibiotiques	Humains	50	indicatif	18%	29%
Fluvoxamine	Neuroleptiques	Humains	50	indicatif	2%	1%
Ifosfamide	Anticancéreux	Humains	10	robuste	1%	1%
Kétoprofène	AINS	Humains	10	robuste	0%	0%
Lévamisole	Antiparasitaires	Vétérinaires	10	indicatif	1%	1%
Lévonorgestrel	Hormones	Humains	10	indicatif	0%	0%
Lincomycine	Antibiotiques	Vétérinaires	5	indicatif	2%	1%
Losartan	Cardiovasculaires	Humains	5	indicatif	2%	1%
Métrifonate	Antiparasitaires	Vétérinaires	10	robuste	1%	0%
Naftidrofuryl	Cardiovasculaires	Humains	1	robuste	2%	1%
Ofloxacin	Antibiotiques	Humains	10	indicatif	14%	5%
Oxazépam	Neuroleptiques	Humains	5	robuste	0%	0%
Paracétamol	Divers	Humains	25	robuste	4%	3%
Parconazole	Antiparasitaires	Vétérinaires	10	robuste	1%	1%
Progestérone	Hormones	Humains	10	robuste	1%	1%
Ramipril	Cardiovasculaires	Humains	5	robuste	1%	1%
Ramiprilate	Cardiovasculaires - Mét.	Humains	10	indicatif	1%	1%
Ranitidine	Divers	Humains	25	indicatif	25%	17%
Sulfadimérazine	Antibiotiques	Vétérinaires	5	robuste	1%	1%
Trimétazidine	Cardiovasculaires	Humains	25	indicatif	5%	5%
Tylosine	Antibiotiques	Vétérinaires	10	indicatif	0%	0%
Hydroxybuprofène	AINS - Mét.	Humains	50	indicatif	44%	38%
Acide salicylique	AINS - Mét.	Humains	25	indicatif	33%	27%
Clorsulon	Antiparasitaires	Vétérinaires	50	indicatif	19%	11%
Diclofénac	AINS	Humains	10	indicatif	4%	1%
17 β -Estradiol	Hormones	Humains	50	indicatif	41%	32%
Estrone	Hormones - Mét.	Humains	50	indicatif	18%	14%
Florfenicol	Antibiotiques	Vétérinaires	50	indicatif	12%	8%
Furosémide	Divers	Humains	50	indicatif	12%	8%
Hydrochlorothiazide	Divers	Humains	25	indicatif	5%	2%
Ibuprofène	AINS	Humains	10	indicatif	2%	0%
Pravastatine	Cardiovasculaires	Humains	50	indicatif	19%	14%
Gadolinium	PC	Humains	5	robuste	0%	0%

Dans ce tableau, les méthodes dites robustes sont des méthodes validées au rendement d'extraction supérieur à 50%. Le terme NM du tableau correspond aux échantillons non mesurés à cause d'un effet matrice (influence de l'environnement chimique sur les atomes).

Les résultats des analyses sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 9, Fréquence de détection et de quantification des différentes molécules dans les eaux destinées à la consommation

Molécules	Eaux brutes			Eaux traitées		
	Fréquence de résultats quantifiables (> LQ)	Fréquence de détection (> LD)	Teneur maximale (ng/L)	Fréquence de résultats quantifiables (> LQ)	Fréquence de détection (> LD)	Teneur maximale (ng/L)
Caféine	28.9%	49.6%	856	10.9%	28.1%	115
Oxazepam	18.7%	27.1%	161	4.0%	7.2%	91
Paracetamol	13.5%	23.6%	443	1.1%	4.1%	71
Carbamazepine	12.6%	29.8%	48	4.0%	9.0%	33
Epoxy-carbamazepine	11.3%	20.8%	8	7.6%	14.8%	6
Losartan	4.3%	10.0%	11	0.0%	0.7%	TRACES
Gadolinium anthropique	2.8%	2.8%	19	1.4%	1.4%	12
Hydrochlorothiazide	2.6%	8.1%	48	0.0%	0.7%	TRACES
Ketoprofen	1.8%	3.9%	258	0.4%	0.4%	36
Acide salicylique	1.6%	2.1%	57	1.0%	1.0%	102
Trimetazidine	1.5%	7.4%	31	0.0%	0.0%	
Hydroxyibuprofène	1.3%	5.0%	83	2.3%	5.8%	85
Diclofenac	1.1%	2.6%	16	0.0%	0.0%	
Ibuprofène	1.1%	2.5%	19	0.0%	1.4%	TRACES
Naftidrofuryl	1.1%	1.8%	2	1.8%	5.5%	3
Sulfadimérazine	0.7%	1.4%	54	0.0%	0.0%	
Amlodipine besylate	0.0%	0.4%	traces	0.0%	0.0%	
Amoxicilline	0.0%	0.9%	traces	0.0%	0.0%	
Atenolol	0.0%	4.8%	traces	0.0%	0.0%	
Danofloxacin	0.0%	3.8%	traces	0.8%	3.5%	57
Doxycycline	0.0%	0.5%	traces	0.0%	0.0%	
Erythromycine	0.0%	1.7%	traces	0.0%	0.0%	
Florfenicol	0.0%	0.8%	traces	0.0%	0.4%	TRACES
Fluvoxamine	0.0%	0.4%	traces	0.0%	0.0%	
Lincomycine	0.0%	1.4%	traces	0.0%	0.0%	
Ofloxacin	0.0%	2.0%	traces	0.8%	1.5%	35
Parconazole	0.0%	0.4%	traces	0.0%	0.0%	
Ramipril	0.0%	0.7%	traces	0.0%	0.0%	
Ramiprilate	0.0%	0.7%	traces	0.0%	0.4%	TRACES
Tylosine	0.0%	0.4%	traces	0.4%	2.2%	20
17β-Estradiol	0.0%	0.0%		0.5%	0.5%	77
Altrenogest	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Ampicilline	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Clorsulon	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Cyclophosphamide	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Dicyclanil	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Estrone	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Furosemide	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Ifosfamide	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Levamisole	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Levonorgestrel	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Metrifonate	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Pravastatine	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Progesterone	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	
Ranitidine	0.0%	0.0%		0.0%	0.0%	

Il est possible de tirer plusieurs constats de ces analyses. La première constatation est la présence de plusieurs médicaments dans les eaux, qu’elles soient brutes ou traitées (comme montré sur le tableau ci-dessous). Les molécules les plus retrouvées sont la caféine (qui peut être médicamenteuse ou alimentaire ce qui explique sa plus forte présence), la carbamazépine, l’oxazépam (en tant que molécule mère et métabolite des benzodiazépines), le paracétamol et

l'époxycarbamazépine dans les eaux brutes et l'époxycarbamazépine, la carbamazépine, l'oxazépam, l'hydroxyibuprofène dans les eaux traitées.

Tableau 10, Nombre de molécules présentes

	Eaux brutes	Eaux traitées
Nombre de molécules détectées au moins une fois	30	19
Nombres de molécules présentes à des concentrations supérieurs aux limites de quantification	16	14

L'un des résultats de cette analyse résulte en la différence de contamination entre eaux souterraines et eaux de surface brutes, comme montré sur la figure ci-dessous. Les eaux de surface seraient en effet plus touchées par la contamination médicamenteuse que les eaux souterraines. Ces différences s'estompent après le traitement des eaux.

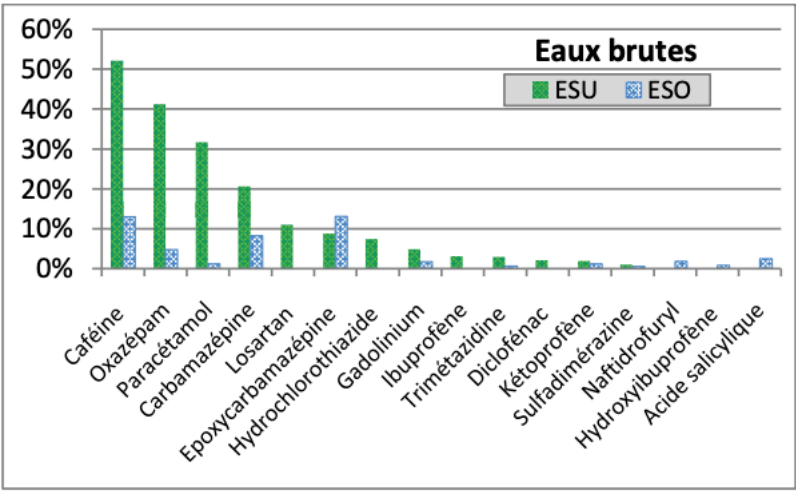


Figure 77, Occurrence des différentes molécules quantifiées

Dans cette étude, quelques sites ont été prélevés tous les mois, sans montrer de saisonnalité dans les analyses.

En conclusion de cette étude, 75% des eaux ne possèdent aucune molécule quantifiable et 15% contiennent une molécule maximum. Plus de 90% des échantillons présentent une concentration

cumulée inférieure à 25ng/L, la teneur cumulée maximum étant de 131 ng/L pour un échantillon. L'étude montre aussi l'efficacité des filières de traitement des eaux, malgré l'absence de structure d'épuration spécifique pour les médicaments. Voici un schéma expliquant l'arrivée des médicaments dans les eaux de distribution française, publié par l'Afssa en 2010.

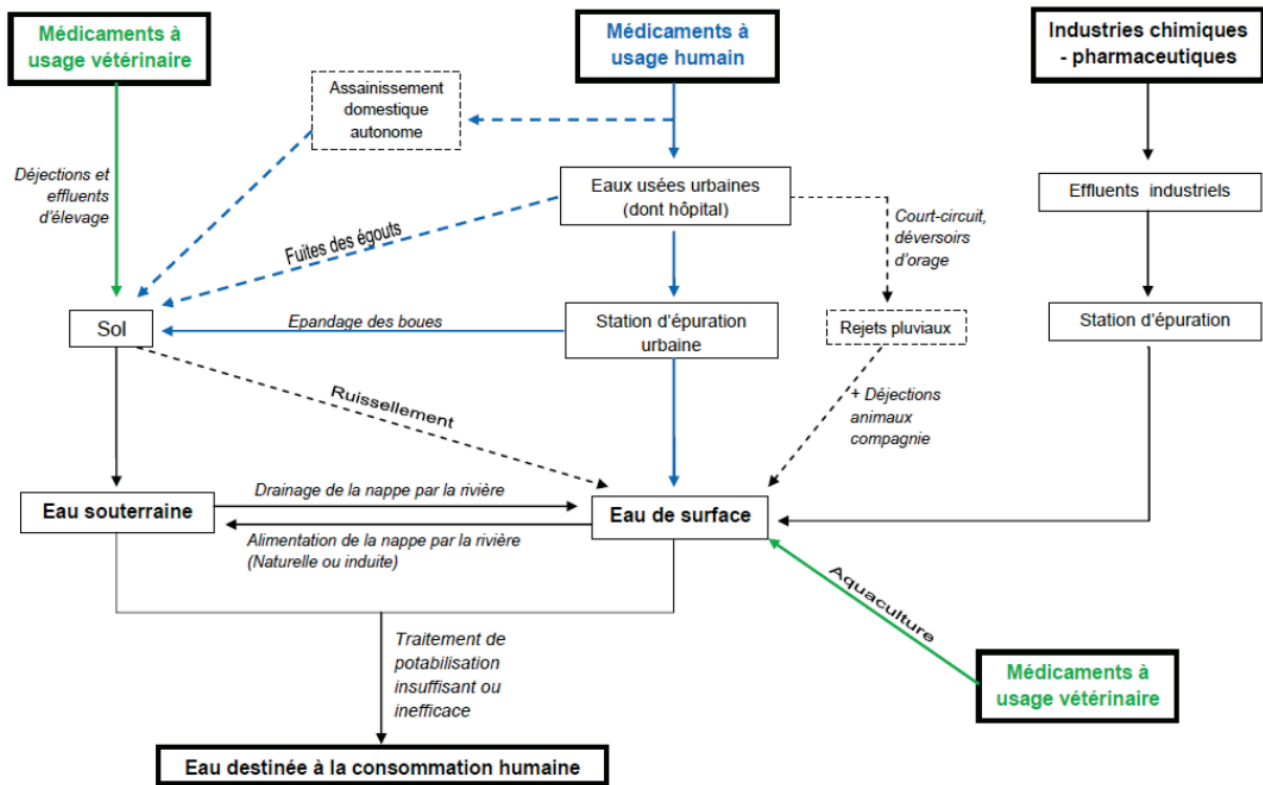


Figure 78, Schéma de transfert des médicaments dans l'eau

On constate qu'il existe 3 sources de contamination médicamenteuse des eaux : les médicaments à usage vétérinaires, ceux à usage humain et l'industrie pharmaceutique. Les médicaments vétérinaires se retrouvent dans le sol via les déjections animales. Ces déjections sont entraînées dans les eaux souterraines depuis le sol. Elles peuvent ensuite se retrouver dans les eaux de surfaces par un phénomène de drainage, ou dans l'eau destinée à la consommation humaine. Les médicaments à usage humain se retrouvent quant à eux dans les eaux usées, puis dans les stations d'épurations. Ces stations d'épurations ne permettant pas de décontaminer les eaux, les traces de médicaments se retrouvent dans les eaux de surface puis dans l'eau destinée à la consommation. Enfin, les eaux issues des industries pharmaceutiques se retrouvent via les effluents industriels dans les stations d'épuration, et peuvent ensuite être retrouvées dans les eaux destinées à la consommation.

b) Les effets des perturbateurs endocriniens sur la faune marine

Les médicaments sont donc présents à l'état de trace dans le milieu aquatique. Parmi ces médicaments, nous pouvons en retrouver un certain nombre appartenant à la catégorie des perturbateurs endocriniens (molécule mimant l'action d'une hormone et induisant un effet agoniste ou antagoniste à faible dose et à long terme).

L'effet de certaines de ces substances a été étudié chez certaines populations marines. Par exemple, le tributylétain utilisé comme peinture d'anti-salissure sur la coque des bateaux influence à de très faible taux (de l'ordre du nanogramme par litre) certains gastéropodes marins, en rendant stériles les femelles par augmentation de la testostérone et diminution de la progestérone. (56)

On observe également une forte présence d'intersexualité (présence d'ovocytes dans les tissus spermatiques mâles) chez les poissons exposés aux perturbateurs endocriniens. Ces phénomènes pourraient mettre en danger certaines populations marines.

VI.3. Les démarches de préservation du milieu

Il existe de plus en plus d'actions en faveur de la protection du milieu, à l'image des nombreuses associations voyant le jour ces dernières années (Bloom, Cetasea...). La protection du milieu prend une place croissante au sein des politiques et des actions françaises, avec par exemple la création d'un ministère consacré à l'écologie en 1971. Dans ce chapitre, nous décrirons certaines méthodes actuelles visant à préserver le milieu marin. Dans une première partie, l'impact de l'utilisation massive de crèmes solaires par l'Homme sur le milieu sera expliqué, avant d'aborder les solutions trouvées par les différents laboratoires. La deuxième partie sera consacrée à un thème d'actualité : l'utilisation de coproduits, dans un but de préservation et d'optimisation de l'utilisation des ressources marines. La dernière partie de ce chapitre sera consacré au plastique et à sa forte présence dans les océans du globe, ainsi qu'aux méthodes qui pourraient permettre une diminution de leur présence.

a) Les crèmes solaires

L'impact des crèmes solaires sur l'environnement n'est étudié que depuis la dernière décennie. C'est l'équipe de Roberto Danavero et all. (57) qui souligne pour la première fois l'impact négatif des protections solaires sur les coraux. 60% des récifs de coraux seraient menacés à la fois à cause de raisons naturelles et anthropiques, et le blanchiment massif des coraux est en augmentation depuis les 20 dernières années. Ce blanchiment est dû à la perte par les coraux des zooxanthelles symbiotiques (algues unicellulaires), qui peut être causé par un excès de rayonnement UV, une présence de bactérie pathogène et par la pollution.

Une forte corrélation a été démontrée entre la présence de crèmes solaires et le blanchiment des coraux dans cette étude, comme le montre la figure ci-dessous. L'ajout de crème solaire dans le

milieu, même en très faible quantités (de l'ordre du microlitre par litre) a induit un blanchiment systématique en 96 heures, après une forte libération de mucus par les coraux (composé de zooxanthelles et de tissus coralliens). La vitesse de ce blanchiment semble également plus rapide quand la température de l'eau est plus élevée. De plus, le blanchiment des coraux ne semble pas dépendant de la dose.

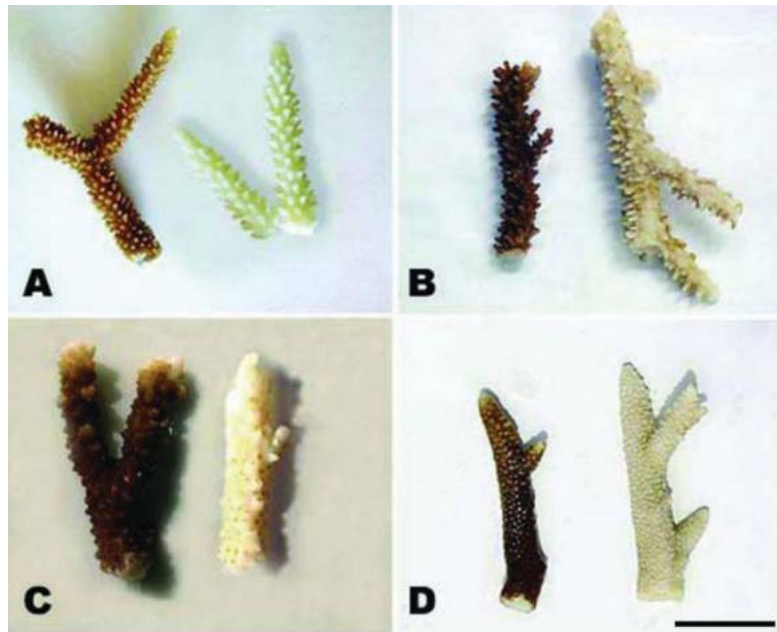


Figure 79, Impact of sunscreen addition on nubbins of *Acropora*. Untreated (brown) and treated (bleached) nubbins of (A) *Acropora cervicornis* (Caribbean Sea, Mexico); (B) *Acropora divaricata* (Celebes Sea, Indonesia); (C) *Acropora* sp. (Red Sea, Egypt); and (D) *Acropora intermedia* (Andaman Sea, Thailand). Images were taken within 62 hr of the start of sunscreen incubations. Scale bar = 2 cm.

Cette étude a plus particulièrement identifié les parabens, cinnamats, benzophénone et les dérivés du camphre comme responsables du blanchiment. La présence de crèmes solaires dans le milieu aquatique entraîne également une augmentation significative de la présence virale dans celui-ci. Cette présence a été observée en laboratoire, dans une eau exempte de présence virale. La présence virale et le blanchiment des coraux a aussi été observé après l'ajout de mitocyne C dans le milieu, un antibiotique déclenchant le cycle lytique des algues présentant une infection virale latente.

L'étude conclue que le blanchiment des populations de corail est induit par les écrans solaires qui déclenchent le cycle lytique des algues présentant des infections virales latentes.

En réponse à ces observations, de nombreuses marques de crèmes solaires ont changé leur formulation, dans un but de protection de l'environnement. C'est par exemple le cas de la marque Avène®, qui a mis en place le logo Skin Protect Ocean Respect (montré ci-dessous) qui montre son

engagement dans la protection du milieu. La marque travaille aussi en collaboration avec une association, la Surfrider Foundation Europe, qui promeut la protection du milieu marin.



Figure 80, Label de la marque Avène ®

Pour parvenir à protéger l'environnement, la marque Avène® a changé la formulation de ses crèmes solaires : moins de filtres (4), le plus d'ingrédients biodégradables possibles (dépourvus de silicone) ainsi que la minimalisation du nombre de molécules hydrosolubles (pouvant facilement être ingurgitées par les organismes marins).

Le laboratoire de Biarritz® agit également pour l'environnement, en bannissant de ses formulations tous les ingrédients à risque (parabens, silicone...) et en utilisant uniquement des ingrédients biodégradables (à base d'algues) et des emballages recyclables.

b) Utilisation de coproduits

Un coproduit correspond à une biomasse non commercialisable sans modification préalable. Elle s'oppose aux « déchets », produits non commercialisables qu'il faut détruire. Cependant, avec l'avancé de la science, il est de plus en plus possible d'utiliser toute la biomasse disponible, et donc de faire passer plusieurs « déchets » dans la catégorie des coproduits. Ainsi, le devenir de la biomasse peut évoluer avec les avancées technologiques et les besoins de l'Homme.

Les avantages de cette utilisation différente des biomasses sont multiples : ils permettent de ne pas utiliser d'énergie (et donc d'argent) pour dégrader les déchets, de moins polluer les milieux, et d'augmenter la rentabilité des produits utilisés.

Un exemple de valorisation des biomasses est l'utilisation d'hydrolysats. Il est possible d'obtenir à partir de parties non utilisées de biomasse plusieurs protéines d'intérêt pouvant contenir des peptides bioactifs. Les domaines d'application sont nombreux : alimentation infantile, diététique, cosmétique, produits pharmaceutiques... Par exemple, il est possible d'extraire un peptide de 5 acides aminés à partir des viscères de thon, ayant une activité sur l'enzyme de conversion de l'angiotensine, et donc une activité anti-hypertensive. De nombreux peptides antioxydants peuvent être extraits de peaux et de carcasse de maquereau...(58)

Le marché des coproduits pourrait donc grandement diminuer l'émission de déchet, mais aussi fournir de nouvelles molécules d'intérêt et peut être de nouveaux principes actifs.

c) Le plastique et la mer :

Les matières plastiques sont, depuis les années 1950, devenues des matières courantes. En 2012, ce sont 288 millions de tonnes de plastiques qui ont été fabriquées. (59) On estime à 80% la quantité de déchets marins imputable à l'activité humaine, soit l'équivalent de 5 à 13 millions de tonnes de plastiques reversées dans les océans en 2010. Ce plastique viendrait surtout de la négligence humaine, avec des déchets ménagers mal recyclés, abandonnés, qui finissent dans les égouts avant d'être emportés vers la mer. Une fois ce plastique en mer, il est entraîné par le courant dans les 5 gyres (tourbillons d'eau océanique formé d'un ensemble de courants marins) montrés sur la figure ci-dessous. Cette accumulation a valu à ces zones pleines de matières plastiques l'appellation de 7^{ème} continent (en photo ci-dessous), du fait de leurs grandes tailles (la plus grande zone représentant une étendue six fois plus grande que le France).

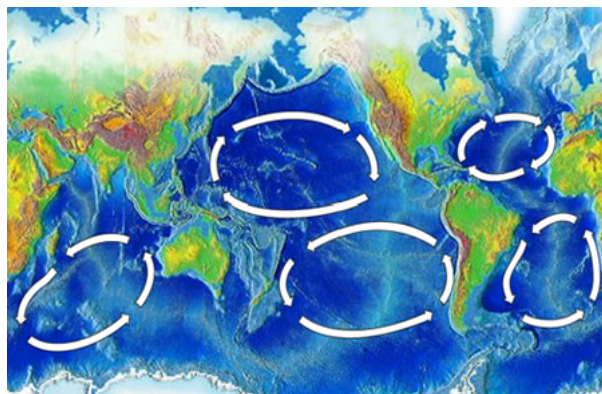


Figure 81, Carte des 5 grands gyres



Figure 82, Photo du « 7ème continent »

Les solutions à ce problème écologique peuvent être classées en deux volets : la dépollution des océans et la limitation de l'utilisation du plastique, pour éviter que le problème perdure.

Concernant la dépollution, de nombreuses expéditions sont mises en place avec de plus en plus de moyens utilisés. L'une des solutions pourrait également se situer au niveau des biotechnologies : certains microorganismes seraient en effet capables d'assimiler et de dégrader les produits toxiques via certains processus enzymatiques. La bactérie devient alors une usine, utilisant les polluants pour créer de l'énergie. Ce phénomène peut être effectué par plusieurs bactéries différentes, qui forment un consortium : c'est par exemple le cas de bactéries isolées dans l'Arctique qui sont capables de dégrader les hydrocarbures et leurs dérivés. Les composés toxiques sont alors bloqués dans les biopolymères synthétisés par ces bactéries, dont certains sont même biodégradables.

Concernant la limitation de l'utilisation de plastique, la solution pourrait elle aussi se trouver dans les bactéries. Il faudra 100 à 400 ans à un sac plastique dérivé de la pétrochimie pour se dégrader. Or, certaines bactéries sont capables de synthétiser des polyesters biodégradables à 100%. Cette capacité a été mise en évidence pour la première fois par Lemoigne à l'institut Pasteur en 1925, qui étudiait la bactérie *Bacillus megaterium*. Ces biopolymères, produits par de nombreuses bactéries (dont un certain nombre sont d'origines marine comme *Pyrococcus sp.*, *Vibrio sp.*) dans certaines conditions de stress particulières, sont très intéressants du fait de leur biodégradabilité. La principale limitation à une application industrielle de cette synthèse résultait en son coût élevé : plus de 100 euros par kilogramme il y a quelques années (contre cinquante centimes à deux euros le kilogramme pour la pétrochimie). Cette limite est de moins en moins évidente, puisqu'avec les progrès réalisés en matière de fermentation et d'extraction, le coût de production de biopolymères se situe aujourd'hui autour de trois euros le kilogramme. (17)

La solution à la pollution des océans pourrait se trouver dans ces mêmes océans.

VII. Conclusion

Nous avons donc mis en évidence un lien faible, mais existant entre la pharmacie et les océans. En effet, bien que les océans aient toujours été étudiés par les diverses civilisations, à l'image de l'Égypte et de ses remèdes tirés des eaux, ils ont toujours été mis en retrait par rapport aux remèdes terrestres. Cela s'explique par la complexité du milieu océanique, tant au niveau de sa composition que de son accessibilité, qui rend les recherches complexes à mettre en œuvre. Cependant, l'océan a permis la mise en avant et l'étude de certains mécanismes physiologiques ainsi que de certaines méthodes laboratoires qui semblaient impossible à étudier grâce aux connaissances tirées du milieu terrestre. De même, lors du siècle dernier, les avancées technologiques ont permis d'explorer plus en détail le milieu marin, et de comprendre plus précisément certaines espèces qui s'y trouvaient. La Pharmacie a su tirer avantage de ces études, en découvrant de nouvelles molécules innovantes, en particulier dans le domaine de maladies pour lesquelles l'arsenal thérapeutique était insuffisant (comme le cancer, la mucoviscidose etc.). Cependant, alors que le domaine de la recherche appliqué aux océans est en pleine expansion, nous constatons une détérioration rapide de ce milieu à cause des activités humaines. Il devient donc important pour la recherche de préserver ce milieu par tous les moyens disponibles. Ces moyens sont nombreux, comme nous avons pu le voir à travers quelques exemples présentés dans cette thèse : l'amélioration des systèmes dépuratifs pour le relargage des eaux dans le milieu naturel, l'utilisation de crèmes solaires non nuisibles à l'environnement et aux coraux, etc. Nous avons également évoqué certaines solutions que pourrait fournir la mer elle-même, avec l'utilisation possible de certaines bactéries marines pour dépolluer le milieu et éliminer certains déchets non biodégradables. Ainsi, les idées sont nombreuses, mais leur application concrète est complexe, tant pour des questions de coût que de faisabilité. Les bactéries marines sont-elles un moyen suffisant et applicable à la dépollution des océans ? Ou faudrait-il plutôt s'orienter vers des méthodes mécaniques à grande échelle, avec l'utilisation de filets et d'aspirateur géants pour ramasser les déchets des océans ?

VIII. Bibliographie

1. Larousse É. Définitions : océan - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [cité 4 févr 2018]. Disponible sur: <http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/oc%C3%A9an/55517>
2. CNRTL. OCÉAN : Etymologie de OCÉAN [Internet]. [cité 4 févr 2018]. Disponible sur: <http://www.cnrtl.fr/etymologie/oc%C3%A9an>
3. Océan et Mer [Internet]. [cité 4 févr 2018]. Disponible sur: <http://www.universalis-edu.com.docelec.u-bordeaux.fr/encyclopedie/ocean-et-mers-eaux-marines-proprietes/>
4. Grataloup C. L'invention des océans. Comment l'Europe a découpé et nommé le monde liquide — Géoconfluences [Internet]. 2015 [cité 25 févr 2018]. Disponible sur: <http://geoconfluences.ens-lyon.fr/informations-scientifiques/dossiers-thematiques/oceans-et-mondialisation/articles-scientifiques/l-invention-des-oceans>.
5. Introduction To Physical Oceanography.pdf [Internet]. [cité 7 févr 2018]. Disponible sur: http://netto.ufpel.edu.br/lib/exe/fetch.php?media=ocean_o_fis:introd_phys_oceanog_stewart.pdf
6. Vidal. VIDAL - Rhinopharyngite aiguë de l'enfant - Prise en charge [Internet]. [cité 12 févr 2018]. Disponible sur: https://www.vidal.fr/recommandations/1462/rhinopharyngite_aigue_de_l_enfant/prise_en_charge/
7. Larousse É. Définitions : thermocline - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [cité 14 févr 2018]. Disponible sur: <http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/thermocline/77779>
8. Institut des Sciences de l'Ingénieur de Toulon et du Var. Distribution des températures [Internet]. [cité 25 févr 2018]. Disponible sur: <http://lecalve.univ-tln.fr/ocean/fiches/fiche4B.htm>
9. Marianne Brassard, Éloïse Carpintero-Grenier, Farnaz Ghaenian, Andrée Hippolyte, Ariane Larouche & Julie Poirier. La circulation océanique [Internet]. L'hydrosphère de notre Terre. [cité 25 févr 2018]. Disponible sur: <http://hydrospherevilla.weebly.com/la-circulation-oceanique.html>
10. PÉRÈS J-M. Mouvements - OCÉAN ET MERS - Universalis.edu [Internet]. Universalis.edu. [cité 24 févr 2018]. Disponible sur: <http://www.universalis-edu.com.docelec.u-bordeaux.fr/encyclopedie/ocean-et-mers-eaux-marines-mouvements/>
11. Nations Unis. Convention sur la diversité biologique [Internet]. juin, 1992 p. 30. Disponible sur: <https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-fr.pdf>
12. INPN - La biodiversité - Patrimoine naturel - Définitions [Internet]. INPN. [cité 1 déc 2018]. Disponible sur: <https://inpn.mnhn.fr/informations/biodiversite/definition>
13. DORIS - Données d'Observations pour la Reconnaissance et l'Identification de la faune et la flore Subaquatique [Internet]. DORIS. [cité 1 déc 2018]. Disponible sur: <http://doris.ffessm.fr/>
14. Spang A, Saw JH, Jørgensen SL, Zaremba-Niedzwiedzka K, Martijn J, Lind AE, et al. Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. Nature. 6 mai

2015;521:173.

15. Les limites de la vie sur Terre une nouvelle fois repoussées... dans l'eau ! [Internet]. [cité 2 déc 2018]. Disponible sur: https://wwz.ifremer.fr/content/download/12050/file/CP_Pyrococcus_CH1.pdf
16. Zeng X, Birrien J-L, Fouquet Y, Cherkashov G, Jebbar M, Querellou J, et al. Pyrococcus CH1, an obligate piezophilic hyperthermophile: extending the upper pressure-temperature limits for life. *Isme J*. 19 mars 2009;3:873.
17. Jean Guézennec. Bactéries marines et biotechnologies. Quae. 2014. 175 p. (Carnet de science).
18. WoRMS - World Register of Marine Species [Internet]. [cité 26 nov 2018]. Disponible sur: <http://www.marinespecies.org/>
19. Mohamed-Benkada M. EVALUATION DU RISQUE FONGIQUE EN ZONES CONCHYLICOLES: SUBSTANCES TOXIQUES DE SOUCHES MARINES DU GENRE Trichoderma. Université de Nantes; 2006.
20. Le calmar | ari.info | ari.info [Internet]. AnimalResearch. [cité 27 nov 2018]. Disponible sur: <http://www.animalresearch.info/fr/concevoir-la-recherche/animaux-de-recherche/le-calmar/>
21. Juan Antonio Barcat. Bestiario biomédico: el ajolote. 2018;298-300.
22. IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species [Internet]. IUCN Red List of Threatened Species. [cité 19 nov 2018]. Disponible sur: <https://www.iucnredlist.org/fr>
23. Haas BJ, Whited JL. Advances in Decoding Axolotl Limb Regeneration. *Trends Genet*. août 2017;33(8):553-65.
24. H. M. Reiswig, G. O. Mackie. Studies on hexactinellid sponges. III. The taxonomic status of hexactinellida within the porifera. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 5 juill 1983;301(1107):419.
25. PHARMACOGNOSIE ET TRAITEMENTS GYNECOLOGIQUES EN EGYPTE ANCIENNE [Internet]. [cité 24 févr 2018]. Disponible sur: <http://www.laboratoireanthropologieanatomiqueetdepaleopathologiedelyon.fr/THESE%20MARIE%20CAROLINE%20%20RICHARD%20%202014.pdf>
26. Wong M. Contribution à l'Histoire de la Matière médicale végétale chinoise (suite). *J Agric Tradit Bot Appliquée*. 1970;17(5):200-26.
27. CRIBLAGE, pharmacochimie - Universalis.edu [Internet]. [cité 20 févr 2018]. Disponible sur: <http://www.universalis-edu.com.docelec.u-bordeaux.fr/encyclopedie/criblage-pharmacochimie/>
28. Recherche de molécules naturelles bioactives issues de la biodiversité marine de la zone Sud-Ouest de l'Océan Indien. [Internet]. [cité 20 févr 2018]. Disponible sur: https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01393381/file/2016LARE0020_EPichon.pdf
29. Yooseph S, Sutton G, Rusch DB, Halpern AL, Williamson SJ, Remington K, et al. The

- Sorcerer II Global Ocean Sampling Expedition: Expanding the Universe of Protein Families. PLOS Biol. 13 mars 2007;5(3):e16.
30. Monaco Explorations – Reconnecting Humanity with the Sea [Internet]. [cité 4 déc 2018]. Disponible sur: <https://monacoexplorations.org/>
 31. Définition statistique de la biotechnologie (mise à jour en 2005) - OCDE [Internet]. [cité 5 déc 2018]. Disponible sur: <http://www.oecd.org/fr/sti/tech-emergentes/definitionstatistiquedelabiotechnologiemiseajouren2005.htm>
 32. WoRMS. WoRMS - World Register of Marine Species - *Conus magus* Linnaeus, 1758 [Internet]. [cité 24 févr 2018]. Disponible sur: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=215429>
 33. Hermitte LCD. Venomous marine molluscs of the genus *conus*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1 juin 1946;39(6):485-512.
 34. Kohn AJ, Saunders PR, Wiener S. Preliminary Studies on the Venom of the Marine Snail *Conus**. Ann N Y Acad Sci. 1 nov 1960;90(3):706-25.
 35. Institute of Molecular Bioscience IMB, Brisbane, Australia. ConoServer [Internet]. ConoServer. [cité 10 mars 2018]. Disponible sur: <http://www.conoserver.org/index.php>
 36. 1-s2.0-S1995764514603424-main.pdf [Internet]. [cité 10 mars 2018]. Disponible sur: https://ac.els-cdn.com/S1995764514603424/1-s2.0-S1995764514603424-main.pdf?_tid=3260a1e8-63a0-4be7-af71-490d5cb6021b&acdnat=1520696216_22570667b8b159cf1293e0ce3205a371
 37. ct-5245_prialt_.pdf [Internet]. [cité 10 mars 2018]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2008-07/ct-5245_prialt_.pdf
 38. Anne Bay-Nouailhat, Wilfried Bay-Nouailhat. Mer et littoral - La biologie des Tuniciers - Les Ascidiacés (Ascidiacea) - Ascidies coloniales [Internet]. Mer et Littoral. [cité 6 févr 2019]. Disponible sur: <http://www.mer-littoral.org/32/ascidiacea-3.php>
 39. DORIS. *Ecteinascidia turbinata* | DORIS [Internet]. Données d'Observations pour la Reconnaissance et l'Identification de la faune et la flore Subaquatiques. [cité 20 mars 2018]. Disponible sur: <http://doris.ffessm.fr/Especes/Ecteinascidia-turbinata-Ascidie-de-mangrove-2411>
 40. Sean Nash. Mangrove Tunicates Up Close, (*Ecteinascidia turbinata*) | Flickr [Internet]. [cité 20 mars 2018]. Disponible sur: <https://www.flickr.com/photos/nashworld/4525673461/in/photostream/>
 41. Sections | All the power of the sea [Internet]. Pharma Mar. [cité 28 nov 2018]. Disponible sur: <http://www.allthepowerofthesea.com/sections>
 42. Cuevas C, Francesch A. Development of Yondelis® (trabectedin, ET-743). A semisynthetic process solves the supply problem. Nat Prod Rep. 2009;26(3):322.
 43. L'ADN et ses complexes [Internet]. Salle de presse | Inserm. 2010 [cité 10 févr 2019].

Disponible sur: <https://presse.inserm.fr/ladn-et-ses-complexes/15637/>

44. Ziani S. Etude du complexe de réparation par excision de nucléotides [Internet]. Université de Strasbourg; 2014. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01233255/document>
45. World Porifera Database - Species - Halichondria (Halichondria) okadai (Kadota, 1922) [Internet]. [cité 10 févr 2019]. Disponible sur: <http://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=165849#sources>
46. Yu MJ, Zheng W, Seletsky BM. From micrograms to grams: scale-up synthesis of eribulin mesylate. *Nat Prod Rep*. sept 2013;30(9):1158-64.
47. Jain S, Vahdat LT. Eribulin Mesylate. *Clin Cancer Res*. 1 nov 2011;17(21):6615-22.
48. VIDAL - HALAVEN 0,44 mg/ml sol inj - Synthèse [Internet]. [cité 10 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/Medicament/halaven-106376.htm>
49. SELICICLIB [Internet]. Cyclacel Pharmaceuticals; 2016 [cité 6 déc 2018]. Disponible sur: https://www.cyclacel.com/pdf/cyclacel_seliciclib_1608.pdf
50. Algotharm - Cosmétique marine | 1962 [Internet]. Algotharm. [cité 6 déc 2018]. Disponible sur: <https://www.algotharm.com/>
51. DELÉAGE J-P. EAU (notions de base). In *Encyclopædia Universalis*; [cité 7 déc 2018]. Disponible sur: <http://www.universalis-edu.com.docelec.u-bordeaux.fr/encyclopedia/eau-notions-de-base/>
52. OIEau. Le grand cycle de l'eau | Office International de l'Eau [Internet]. 2017 [cité 7 déc 2018]. Disponible sur: <https://www.oieau.fr/Mediatheque/illustrations/le-grand-cycle-de-leau>
53. Rapport mondial des Nations Unies sur la mise en valeur des ressources en eau 2015: l'eau dans un monde durable: faits et chiffres; 2015. :12.
54. OMS | Produits pharmaceutiques dans l'eau potable [Internet]. WHO. [cité 8 déc 2018]. Disponible sur: https://www.who.int/water_sanitation_health/emerging/info_sheet_pharmaceuticals/fr/
55. Laboratoire d'hydrologie de Nancy. Campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine. ANSES; 2011 p. 36.
56. Mouneyrac C. Les perturbateurs endocriniens en milieu marin. 2017;3.
57. Danovaro R, Bongiorno L, Corinaldesi C, Giovannelli D, Damiani E, Astolfi P, et al. Sunscreens cause coral bleaching by promoting viral infections. *Environ Health Perspect*. avr 2008;116(4):441-7.
58. Daniel Thomas, Yves Le Gal, Gilles Boeuf, Jean-Michel Kornprobst, Werner Muller, Marie-Lise Bourguet-Kondracki, et al. *Biofutur*. août 2009;1(301):25-48.
59. La pollution plastique en mer: le septième continent [Internet]. Encyclopédie de l'environnement. 2016 [cité 9 déc 2018]. Disponible sur: <https://www.encyclopedia-environnement.fr/>

environnement.org/eau/pollution-plastique-en-mer/

IX. Table des illustrations

Figure 1, Encyclopédie médiévale, Les propriétés de l'eau	8
Figure 2, Superficie relative des différents océans	10
Figure 3, Limite des océans	11
Figure 4, Tableau périodique des éléments	15
Figure 5, Laminaria digitata sur herbier.....	16
Figure 6, Maitotoxine.....	16
Figure 7, Cycle carbonique océanique, selon ocean-climate.org.....	17
Figure 8, Prise en charge de la rhinopharyngite aiguë	18
Figure 9, Températures à la surface des océans	19
Figure 10, Exemple de distribution verticale de températures (en °C) à l'ouest de l'océan Atlantique	20
Figure 11, Schéma de thermomètre minimum-maximum	20
Figure 12, Bathythermographe	21
Figure 13, Courants marins profonds.....	22
Figure 14, Photo prise à Gaztelungaxte, présentant une partie de la biodiversité marine	24
Figure 15, Arbre phylogénétique de la vie	25
Figure 16, Photo du robot Victor 6000, © Ifremer. Photo M. Bonnefoy.	27
Figure 17, Physalie (à gauche), Couronne d'épine (au centre) et Pieuvre commune (à droite).....	29
Figure 18, Ornithorynque (à gauche), Orque (au centre) et Poisson globe (à droite).....	29
Figure 19, Place des mollusques parmi les eucaryotes	32
Figure 20, Photos d'Alan Lloyd Hodgkin (gauche) et de Andrew Huxley (droite).....	32
Figure 21, Axolotl	34
Figure 22, Passage du stage aquatique au stade terrestre chez l'axolotl (21).....	35
Figure 23, Progression générale d'un membre amputé à un membre régénéré, avec focus sur les premières étapes (23)	36
Figure 24, Cycle de vie de l'axolotl et méthode d'interventions sur son génome (23)	37
Figure 25, Les différentes structures des éponges	38

Figure 26, Histologie de l'éponge (type asconoïde).....	39
Figure 27, Place des éponges dans le règne animal	40
Figure 28, Ancienne classification des Porifera, encore retrouvée dans certains documents	40
Figure 29, Classification actuelle des Porifera.....	41
Figure 30, Nombre d'espèces représentées par niche écologique	42
Figure 31, Nombre d'espèces découvertes (cumulées) depuis 1750	44
Figure 32, Évolution du nombre de publications scientifiques relatives aux travaux menés sur les métabolites bioactifs en fonction des organismes considérés (17)	44
Figure 33, Cauri	45
Figure 34, Poisson Fugu.....	46
Figure 35, Criblage cellulaire haut débit (29)	47
Figure 36, Cytotoxicité des 22 éponges les plus actives : inhibition de la croissance des cellules cancéreuses KB (28)	49
Figure 37, Principales éponges sélectionnées pour leur cytotoxicité sur la lignée cancéreuse KB (28)	49
Figure 38, Méthode de filtration	51
Figure 39, Chemin effectué par le Sorcerer II.....	51
Figure 40, Étapes de création d'une souchothèque	53
Figure 41, Création d'une chimiothèque	53
Figure 42, Exploitation d'une chimiothèque	54
Figure 43, Les différentes "couleurs" de biotechnologie	55
Figure 44, Conus magus.....	57
Figure 45, Dissection de Conus geographus.....	58
Figure 46, Jonction neuromusculaire normale	59
Figure 47, Mécanisme d'action du Prialt.....	61
Figure 48, Structure du Prialt.....	61
Figure 49, Schéma d'une ascidie, vue interne	63
Figure 50, Ecteinascidia turbinata, Herdman (1880) (40)	64

Figure 51, Yondelis et acide aminé utilisés pour sa synthèse (42).....	66
Figure 52, Sésamol.....	66
Figure 53, Liaison de la Trabectine avec le complexe ADN-XPG	67
Figure 54, Mécanisme d'action du complexe NER (43)	68
Figure 55, Structure chimique de l'Eribuline (1) et de l'Halichondrine B (2) (46)	70
Figure 56, Conversion d'un dérivé de L-arabinose en fragment C27-C35 (46).....	71
Figure 57, Réaction de couplage utilisée à l'origine dans la synthèse de l'Eribuline (46)	71
Figure 58, Mécanisme d'action de l'Eribuline (47)	72
Figure 59, Recommandation de diminution de doses d'Eribuline en fonction de ses effets indésirables (48).....	73
Figure 60, Roscovitine	74
Figure 61, Cycle cellulaire, avec.....	75
Figure 62, Phase d'essais de la Roscovitine en fonction de la pathologie (49).....	76
Figure 63, Déroulement d'une PCR.	78
Figure 64, Acide kaïnique	80
Figure 65, Photo d'Aequora aequora.....	80
Figure 66, Structure de l'aequorine	81
Figure 67, Structure de GFP	81
Figure 68, Savon du laboratoire Labiomer, aux extraits d'algues	82
Figure 69, Sérum et baume issus du laboratoire Algotharm	83
Figure 70, Logo d'Algotharm, mettant en avant l'origine de leurs produits (issus des algues).....	83
Figure 71, Grand cycle de l'eau, © OIEau, 2017	85
Figure 72, Temps de résidence de l'eau en fonction des réservoirs, d'après L'eau, Ghislain de Marsily, Dominos Flammarion, 1995	86
Figure 73, Pressions sur les milieux aquatiques, © OIEau, 2018	87
Figure 74, Evolution de l'accès à l'eau dans le monde, selon l'OMS, Unicef.....	88
Figure 75, Répartition de la population mondiale selon son accès à l'eau potable	88
Figure 76, Cycle domestique de l'eau, source : Agence de l'eau Artois-Picardie	89

Figure 77, Occurrence des différentes molécules quantifiées.....	93
Figure 78, Schéma de transfert des médicaments dans l'eau.....	94
Figure 79, Impact of sunscreen addition on nubbins of <i>Acropora</i> . Untreated (brown) and treated (bleached) nubbins of (A) <i>Acropora cervicornis</i> (Caribbean Sea, Mexico); (B) <i>Acropora divaricata</i> (Celebes Sea, Indonesia); (C) <i>Acropora</i> sp. (Red Sea, Egypt); and (D) <i>Acropora intermedia</i> (Andaman Sea, Thailand). Images were taken within 62 hr of the start of sunscreen incubations. Scale bar = 2 cm.....	96
Figure 80, Label de la marque Avène®	97
Figure 81, Carte des 5 grands gyres.....	98
Figure 82, Photo du « 7ème continent »	98

X. Table des tableaux

Tableau 1, Mers du monde et océans dont elles dépendent	12
Tableau 2, Proportion des éléments ioniques dans l'océan	14
Tableau 3, Différence entre eucaryotes et procaryotes	26
Tableau 4, Exemples d'organismes marins.....	28
Tableau 5, Caractéristiques des différentes éponges :.....	41
Tableau 6, Conotoxines.....	60
Tableau 7, Mécanisme d'action des CDKs (42).....	75
Tableau 8, Liste des molécules dosées et performances analytiques (55)	91
Tableau 9, Fréquence de détection et de quantification des différentes molécules dans les eaux destinées à la consommation.....	92
Tableau 10, Nombre de molécules présentes	93

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Titre : LE MILIEU MARIN ET LA PHARMACIE : Étude d'un milieu méconnu et fragile source d'innovations

Résumé : La pharmacie est depuis toujours tournée vers l'étude du milieu terrestre et des plantes qu'il recèle, délaissant en parti le milieu marin. Pourtant, celui-ci représente un fort potentiel d'innovations dans de nombreux domaines de la pharmacie. Afin de mieux cerner ce milieu marin à la fois passionnant et mystérieux, cette thèse s'appuiera sur une étude du milieu océanique en tant qu'entité physique et en tant qu'ensemble écologique complexe contenant des représentants de toutes les branches phylogénétiques. L'intérêt croissant de la science pour le milieu océanique concerne de nombreuses branches pharmaceutiques. Par exemple, des recherches s'appuient sur des modèles marins pour leurs études, certains laboratoires misent sur de nouvelles molécules innovantes d'origine marine alors que d'autres utilisent des réactifs d'origine marine. Afin de poursuivre l'étude du milieu océanique de manière plus approfondie, des méthodes et des outils de recherche et d'exploration des milieux de plus en plus extrêmes voient le jour. Ceux-ci permettent la recherche et l'étude de formes de vie possédants des mécanismes de survie particuliers dont les caractéristiques peuvent se révéler utiles à l'industrie pharmaceutique. Mais à ce jour, alors que l'océan est loin d'avoir révélé ses secrets qui pourraient être source de nombreuses innovations, le milieu marin est menacé par l'activité humaine. Ce sont d'énormes quantités de plastiques et de déchets divers qui sont rejetés chaque jour dans les océans, polluant et contaminant l'écosystème marin. Cette contamination du milieu aquatique est d'ailleurs en partie due à la pharmacie, avec l'évacuation de molécules actives dans les eaux après utilisation domestique et un traitement insuffisant de décontamination. Mais la pharmacie est également à l'origine de solutions mises en place pour tenter de limiter les dégâts comme par exemple les crèmes solaires biodégradables.

Mots clés : Pharmacologie marine ; Biodiversité ; Écologie marine ; Biotechnologies bleues ; Médicaments d'origine marine ; Biologie marine

Title : THE MARINE ENVIRONMENT AND PHARMACY : Study of an unknown and fragile environment source of innovation

Abstract : Pharmacy has always been focused on the study of the terrestrial environment and the plants growing there, partly ignoring the marine environment. However, it represents a strong potential for innovation in many areas of pharmacy. To better understand this fascinating and mysterious marine environment, this thesis will be based on a study of the ocean environment both as a physical entity and as a complex ecological structure where representatives of all phylogenetic branches can be found. This growing interest of science for the ocean is relevant for many fields in pharmacy. For example, there are studies based on marine models, some laboratories rely on new innovative molecules of marine origin, while others use reagents of marine origin. In order to thoroughly further study of the oceanic environment, methods and tools for the research and exploration of more and more extreme environments are emerging. They allow the research and study of life forms with specific survival mechanisms whose characteristics may be useful to the pharmaceutical industry. But so far, while the ocean is far from revealing the secrets that could be the source of many innovations, the marine environment is threatened by human activity. Every day, huge amounts of plastics and various human wastes are released into the oceans, polluting and contaminating the marine ecosystem. Pharmacy is in part responsible for contaminating the marine environment, in cause is the evacuation of active molecules in water after domestic use and insufficient treatment of decontamination. But pharmacy is also the initiator of solutions to try and limit the damage: for example, the biodegradable sunscreens.

Keywords : Marine pharmacology ; Biodiversity ; Marine ecology ; Blue biotechnologies ; Medicines of marine origin ; Marine biology
