

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la
Propriété Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
25 août 2016 (25.08.2016)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2016/131972 A1

(51) Classification internationale des brevets :
A61K 31/506 (2006.01) A61P 39/00 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/EP2016/053588

(22) Date de dépôt international :
19 février 2016 (19.02.2016)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
15 51488 20 février 2015 (20.02.2015) FR

(71) Déposants : INSTITUT DE RADIOPROTECTION ET
DE SURETE NUCLEAIRE [FR/FR]; 31 avenue de la
Division Leclerc, 92260 Fontenay aux Roses (FR). INSTI-
TUT GUSTAVE ROUSSY [FR/FR]; 39B rue Camille
Desmoulins, 94800 Villejuif (FR).

(72) Inventeurs : DEUTSCH, Eric; 2 rue des Tournelles,
75004 Paris (FR). STRUP-PERROT, Carine; 24 rue du
Professeur Bergonie, 94260 Fresnes (FR).

(74) Mandataires : LAVIALLE, Bruno et al.; c/o Cabinet
Boettcher, 16 rue Médéric, 75017 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre
de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title : USE OF DASATINIB FOR TREATING THE ACUTE AND LATE EFFECTS OF THE CLINICAL CONSEQUENCES OF RADIATION EXPOSURE

(54) Titre : UTILISATION DU DASATINIB POUR LE TRAITEMENT DES EFFETS AIGUS ET TARDIFS DES CONSEQUENCES CLINIQUES D'UNE IRRADIATION

(57) Abstract : The invention relates to the use of Dasatinib in the preparation of a drug for treating a mammal exposed to radiation, in particular abdominopelvic radiation exposure, for preventing, limiting, reducing and/or eliminating the early or late side effects of radiation, such as gastrointestinal syndromes.

(57) Abrégé : L'invention concerne l'utilisation de Dasatinib dans la préparation d'un médicament pour le traitement d'un mammifère exposé à une irradiation, notamment abdominopelvienne pour empêcher, limiter, réduire et/ou supprimer les effets secondaires radio-induits qu'ils soient précoces ou tardifs, tels que les syndromes gastro-intestinaux.



WO 2016/131972 A1

**Utilisation du Dasatinib pour le traitement des effets
aigus et tardifs des conséquences cliniques d'une
irradiation**

ARRIERE PLAN DE L'INVENTION

5 Le cancer est une maladie extrêmement répandue. On
estime l'incidence de cette pathologie à plus de 10 mil-
lions de malades à travers le monde et à environ 365 000
nouveaux cas par an en France. La radiothérapie reste une
thérapie incontournable pour la prise en charge de ces
10 pathologies et concerne environ 60% des cas. L'exposition
tissulaire aux rayonnements ionisants à des fins théra-
peutiques produit des effets non seulement sur la tumeur
mais peut aussi affecter les cellules et tissus sains en-
vironnants. Les effets produits sur les tissus sains
15 suite à une exposition aux rayonnements ionisants que
cette exposition soit accidentelle, ou volontaire et con-
trôlée lors d'une exposition à des fins thérapeutiques,
sont historiquement et schématiquement classés en fonc-
tion de la chronologie d'apparition des symptômes cli-
20 niques. Ainsi, on distingue les effets aigus quasi-
immédiats des effets tardifs intervenant au-delà de 6
mois après l'exposition.

Les effets aigus liés à une irradiation se mani-
festent notamment par des syndromes gastro-intestinaux
25 qui se traduisent par des diarrhées, de la déshydrata-
tion, des infections entéro-bactériennes et dans les cas
les plus sévères, un choc septique pouvant entraîner la
mort. Les entéropathies et notamment l'entérite aiguë qui
sont des manifestations du syndrome gastro-intestinal af-
fectent les sujets irradiés accidentellement avec des
30 doses moyennes à fortes et la plupart des patients trai-
tés par radiothérapie abdominopelvienne et tout particu-
lièrement les patients traités pour des tumeurs prosta-
tiques. Bien que moins fréquente, seuls 5 à 10 % des pa-
35 tients irradiés au niveau abdomino-pelvien à des doses
fractionnées comprises entre 45 et 55 Gy présentent des

complications tardives cinq années après la fin de leur radiothérapie [Rubin, P. and G. W. Casarett (1968). "Clinical radiation pathology as applied to curative radiotherapy." *Cancer* **22**(4): 767-778.], la toxicité tardive de l'irradiation a un impact clinique bien plus important, à cause de la chronicité, de la morbidité et mortalité associés aux symptômes. Les effets tardifs vont notamment se manifester par une fibrose radio-induite ou radique, séquelle commune des traitements de cancer par radiothérapie retrouvée dans une majorité de tissus sains (peau, poumon et foie) [Rodemann, H. P. and M. Bamberg (1995). "Cellular basis of radiation-induced fibrosis." *Radiother Oncol* **35**(2): 83-90.]. Cette fibrose tissulaire est le plus souvent caractérisée par une dysmotilité, une malabsorption, une perte de flexibilité et de fonctionnalité de la paroi intestinale qui peuvent conduire à des complications de type obstruction qui requière une intervention chirurgicale le plus souvent urgente.

Ainsi, la prise en compte des effets secondaires liés à l'exposition aux rayons ionisants, en particulier la prévention ou le traitement de ces effets secondaires est une problématique cruciale. A ce jour, il n'existe aucun traitement thérapeutique pharmacologique des entéropathies développées suite à une irradiation que l'entéropathie soit aiguë ou chronique.

Les seules solutions thérapeutiques existantes résident pour les entéropathies aiguës, dans le traitement des symptômes. Le traitement consiste en une simple supplémentation en eau et en électrolytes associée à une antibiothérapie. Pour les entéropathies chroniques de type fibrose, le traitement consiste en la résection chirurgicale de la partie d'intestin lésée. Ces opérations sont lourdes et compliquées et souvent risquées à cause de l'état général du patient, souvent affaibli, du développement d'adhérences péritonéales, du risque de rupture de

sutures, et des retards de cicatrisation, ce qui conduit à une forte mortalité post-opératoire.

En outre, la plupart des stratégies médicamenteuses testées à ce jour dans le traitement des complications intestinales des radiothérapies s'avèrent être assez décevantes contrairement à ce qui est observé en préclinique dans différents modèles animaux [Hauer-Jensen, M., J. Wang, et al. (2003). "Bowel injury: current and evolving management strategies." *Semin Radiat Oncol* **13**(3): 357-371.].

Le traitement par greffe de cellules souches donne des résultats prometteurs tant en recherche qu'en application clinique compassionnelle dans le traitement des rectites radiques sévères de grade III et IV, mais n'est pas à ce jour utilisable à grande échelle, compte tenu de leurs coûts, sur les patients traités par radiothérapie. De plus, l'effet des cellules souches est indéniables mais apparaît comme loin d'être total.

A ce jour, il n'existe donc aucun traitement préventif et/ou curatif des effets secondaires, notamment des entéropathies développées suite à une irradiation, simple à mettre en œuvre, peu risqué et efficace.

OBJET DE L'INVENTION

La présente invention a pour objet de proposer un traitement visant à atténuer voire à supprimer les effets secondaires consécutifs à une irradiation, en particulier, les effets secondaires de type entéropathies aiguës et chroniques.

RESUME DE L'INVENTION

Poursuivant cet objectif, les inventeurs ont constaté que le Dasatinib, molécule de la famille des inhibiteurs de tyrosine kinase, limite, réduit et/ou supprime les effets secondaires développés suite à une irradiation, qu'il s'agisse d'une irradiation accidentelle forte dose ou d'une irradiation thérapeutique abdomino-

pelvienne. L'invention concerne donc l'utilisation de Dasatinib dans la préparation d'un médicament pour le traitement d'un mammifère exposé à une irradiation pour empêcher, limiter, réduire et/ou supprimer les effets secondaires radio-induits, qu'ils soient précoces ou tardifs, tels que les manifestations du syndrome gastro-intestinal. En particulier, l'utilisation de Dasatinib dans la préparation d'un médicament pour le traitement d'un mammifère, notamment d'un être humain, exposé à une irradiation pour empêcher, limiter, réduire et/ou réduire drastiquement et/ou supprimer le développement d'entéropathies radio-induites aiguës ou chroniques et des symptômes associés.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

La présente invention concerne l'utilisation de Dasatinib dans la préparation d'un médicament pour le traitement d'un mammifère exposé à une irradiation pour empêcher, limiter, réduire et/ou supprimer les effets secondaires radio-induits, en particulier le syndrome gastro-intestinal.

L'irradiation peut-être volontaire à visée thérapeutique, dans le cas, par exemple, de traitement de cancers ou accidentelle. L'exposition accidentelle peut avoir lieu suite à une mauvaise manipulation d'appareil, à un surdosage ou suite à un accident radiologique.

L'exposition du tissu vivant à des rayonnements ionisants, induit une série d'altérations cellulaires et moléculaires complexes qui se traduisent quel que soit le site par des effets d'ordre cellulaire, structural et fonctionnel. Leur gravité est fonction d'un grand nombre de facteurs tels que la nature du rayonnement, la dose délivrée, le débit de dose, la récurrence de l'irradiation (dose unique ou fractionnée), la nature et l'étendue du champ irradié, la radiosensibilité individuelle. La manifestation clinique temporelle des lésions

radio-induites dépend en plus de la dose reçue de l'organisation structurale du tissu exposé, des caractéristiques radio-biologiques des cellules lésées (radio-sensibilité, capacité de réparation de l'ADN, taux de prolifération...).

L'exposition accidentelle à des doses moyennes à fortes peut conduire à des syndromes aigus d'irradiation susceptibles de causer la mort de l'irradié. On distingue classiquement quatre syndromes radio-induits : hémato-poiétique (dès 1 Gy), gastro-intestinal (dès 6-10 Gy), neurovasculaire (dès 20 Gy) et cutané (dès 2-3 Gy). Il faut distinguer ces expositions de celles mise en œuvre au cours des processus radio-thérapeutiques. La radiothérapie a pour objet de délivrer à la tumeur la dose maximale nécessaire au contrôle tumoral tout en préservant au maximum les tissus sains adjacents. L'optimisation des configurations d'irradiation, de la balistique, de l'imagerie médicale et des protocoles de traitement ont permis de réduire au maximum les effets secondaires inhérents à ce type de traitement cependant les doses élevées utilisées engendrent des phénomènes de toxicité aiguë et tardive. La toxicité aiguë est observée chez tous les patients et peut être très sévère et nécessiter chez certains patients une modulation du protocole d'irradiation mais elle n'est en général que transitoire et rétrocede à l'arrêt du traitement. La toxicité tardive est moins fréquente, on estime que 5 à 10 % des patients irradiés au niveau abdomino-pelvien à des doses comprises entre 45 et 55 Gy, présentent des complications tardives [Rubin 1968 déjà cité plus haut]. L'impact clinique de ces complications tardives est très important de par leur chronicité, leur progressivité et par la morbidité et la mortalité qui leur sont associées.

Ainsi, la présente invention a pour objet l'utilisation de Dasatinib dans la préparation d'un médi-

cament pour le traitement d'un mammifère, notamment d'un être humain, exposé à une irradiation pour empêcher, limiter, réduire, réduire drastiquement et/ou supprimer le développement d'entéropathies radio-induites aiguës ou chroniques et des symptômes associés.

Dans le cadre de la présente invention, les termes « irradiation », « irradié », « rayonnements ionisants » font référence à toute irradiation ou exposition à des rayonnements ionisants, qu'il s'agisse d'une irradiation accidentelle à moyenne ou forte dose sur tout ou partie du corps, ou qu'il s'agisse d'une irradiation abdomino-pelvienne à visée thérapeutique, déclenchant chez le sujet irradié des effets secondaires tels que des syndromes gastro-intestinaux.

On entend par « entéropathie » toute pathologie du tractus digestif chez un sujet exposé à des rayonnements ionisant ayant développé consécutivement à l'irradiation des effets secondaires tels que des syndromes gastro-intestinaux. Ces pathologies peuvent se développer immédiatement après l'irradiation. Elles sont alors qualifiées d'aiguës. Ces pathologies peuvent également se développer plusieurs mois voire années après l'irradiation. Elles seront alors qualifiées d'entéropathies chroniques ou tardives.

Les symptômes de l'entéropathie aiguë radio-induite (diarrhées, déshydratation importante, perte de poids, translocation bactérienne...) sont engendrés essentiellement par la désorganisation de la barrière intestinale due à l'irradiation. Selon la gravité des symptômes, la désorganisation de la barrière intestinale peut conduire à un syndrome létal. La mort du sujet irradié est provoquée par la conjonction de trois facteurs : la libération importante d'enzymes protéolytiques, la dénudation de la barrière épithéliale permet l'entrée de bactéries dans l'organisme et la survenue d'une septicémie, le déséqui-

libre de la balance hydrominérale qui induit des pertes massives d'eau et d'électrolytes responsables de la déshydratation de l'organisme au cours de la diarrhée radio-induite [Gunter-Smith, P.J.(1995) Gamma radiation affect active electrolyte transport by rabbit ileum : basal Na and Cl transport. Am J Physiol **250**(4Pt1) :G540-5.].

Chacun de ces trois facteurs pris indépendamment ne provoque pas la mort [Carr, K. E. (2001) Effects of radiation damage on intestinal morphology. Int Rev Cytol **208** : 1-119]. Ces symptômes peuvent aussi se manifester pour des doses d'irradiation infra-létales, sans que le sujet développe de syndrome gastro-intestinal, par exemple au cours d'une radiothérapie nécessitant une irradiation totale à une dose comprise entre 2 et 10 Gy [Feuvret, L. (1994). Value of granesitron in the prevention of digestive disorders in total body irradiation. Bull Cancer Radiother **81**(1): 41-4], ou dans le cadre de configurations partielles incluant tout ou partie du tractus digestif [Rubio, C.(1996) Dose-time dependent histological changes following irradiation of the small intestine of rats. Digestive Disease and Sciences **41**(2): 392-401].

Les inventeurs ont montré que l'utilisation du Dasatinib conformément à l'invention dans la préparation d'un médicament pour le traitement d'un mammifère, notamment d'un être humain, exposé à une irradiation permet d'empêcher, de limiter, de réduire, de réduire drastiquement et/ou de supprimer le développement d'entéropathies liées à une atteinte de l'intégrité de la paroi intestinale, en particulier les entéropathies aiguës.

En effet, les inventeurs ont montré que l'utilisation du Dasatinib conformément à l'invention permet d'obtenir un effet trophique de la muqueuse intestinale, notamment en favorisant le renouvellement cellulaire. L'épaisseur de la paroi intestinale est augmentée chez un sujet traité conformément à l'invention par rap-

port à un sujet non traité. Le traitement par le Dasatinib conformément à l'invention permet en outre d'observer chez les sujets traités un renforcement des jonctions entre les entérocytes et la forte diminution de l'hyperperméabilité radioinduite de la barrière intestinale, diminuant ainsi fortement le passage des bactéries du tube digestif dans le sang. Les sujets irradiés traités par le Dasatinib selon l'invention subissent une perte de poids beaucoup plus faible par rapport à des sujets irradiés non traités. Ainsi, le traitement par le Dasatinib a un effet thérapeutique sur les entéropathies aiguës.

Outre les effets du traitement par le Dasatinib sur les entéropathies aiguës et les symptômes associés, les inventeurs ont également constaté que l'utilisation du Dasatinib conformément à l'invention permet de limiter, de réduire et/ou de réduire drastiquement le développement d'entéropathies chroniques.

Comme précédemment indiqué, la présente invention a pour objet l'utilisation du Dasatinib dans la préparation d'un médicament pour le traitement d'un mammifère exposé à une irradiation pour maintenir et/ou restaurer l'intégrité de l'épithélium intestinal dudit mammifère irradié. L'utilisation selon l'invention a également pour objet de diminuer l'hyperperméabilité de l'épithélium intestinal du mammifère irradié par rapport à celui du mammifère irradié non traité. Le maintien et/ou la restauration de l'intégrité de l'épithélium intestinal tout comme la diminution de son hyperperméabilité sont obtenus par le traitement conforme à l'invention des entéropathies radio-induites que ces dernières soient aiguës ou chroniques.

Les inventeurs ont également montré que l'utilisation du Dasatinib conformément à l'invention avait de façon étonnante une action anti-fibrotique. Le processus fibrotique mis en place lors des entéropathies

chroniques évolue au cours de temps pour aboutir, s'il n'est pas interrompu, à une obstruction nécessitant une intervention chirurgicale en extrême urgence. Ce phénomène de fibrose développée suite à une irradiation, en particulier suite à une irradiation abdomino-pelvienne implique toutes les cellules et tous les compartiments du tissu digestif [Followill, D. S., D. Kester, et al. (1993). "Histological changes in mouse colon after single- and split-dose irradiation." *Radiat Res* **136**(2): 280-288.]. Il est caractérisé par une augmentation de la synthèse des constituants de la matrice extra cellulaire (MEC) (principalement des collagènes) et se traduit non seulement par une altération du remodelage matriciel dans laquelle les metalloprotéinases matricielles (MMP) et leurs inhibiteurs (TIMP) jouent un rôle important [Strup-Perrot, C., M. C. Vozenin-Brotons, et al. (2005). "Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor metalloproteinases increases in X-irradiated rat ileum despite the disappearance of CD8a T cells." *World J Gastroenterol* **11**(40): 6312-6321. Strup-Perrot, C., M. C. Vozenin-Brotons, et al. (2006). "Expression and activation of MMP -2, -3, -9, -14 are induced in rat colon after abdominal X-irradiation." *Scand J Gastroenterol* **41**(1): 60-70.; Strup-Perrot, C., D. Mathe, et al. (2004). "Global gene expression profiles reveal an increase in mRNA levels of collagens, MMPs, and TIMPs in late radiation enteritis." *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **287**(4): G875-885. #925; Antalis, T. M., T. Shea-Donohue, et al. (2007). "Mechanisms of disease: protease functions in intestinal mucosal pathobiology." *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* **4**(7): 393-402.] mais également par une altération de l'activité séquentielle des facteurs de croissance fibrogéniques tels que le TGF- β et le CTGF et des cytokines inflammatoires [Skwarchuk, M. W. and E. L. Travis (1998). "Changes in histology and fibrogenic cyto-

kines in irradiated colorectum of two murine strains." Int J Radiat Oncol Biol Phys **42**(1): 169-178.]. La quantité de composés extra-cellulaires tels que les collagènes est régulée en continu par l'équilibre entre la synthèse des collagènes et leur catabolisme. Le déséquilibre entre ces deux processus aboutit au développement d'une fibrose. Le remplacement des collagènes et des autres protéines de la matrice extra-cellulaire est contrôlé par les metalloprotéinases matricielles (MMP) et leurs inhibiteurs (TIMP). La résultante de la balance entre ces deux processus opposés (biosynthèse vs catabolisme) conduit à une augmentation nette ou à une diminution nette des collagènes. Les inventeurs ont montré que le Dasatinib agit sur la fibrose et sur son développement selon ces trois axes : la production de matériel matriciel, notamment de collagènes, des enzymes de dégradation de la matrice cellulaire (MMP) et de leurs inhibiteurs tissulaires (TIMP). Les inventeurs ont ainsi montré qu'une utilisation du Dasatinib selon l'invention et ce quelle que soit la durée du traitement du sujet irradié réduisait considérablement l'accumulation nette des composés matriciels, notamment des collagènes. L'utilisation du Dasatinib conforme à l'invention dans le traitement d'un sujet irradié (traitement préventif ou curatif du développement de la fibrose) diminue l'accumulation des composés matriciels. Le traitement conforme à l'invention diminue également l'expression des collagènes. Les inventeurs ont en outre montré que l'utilisation du Dasatinib conformément à l'invention augmente l'expression et l'activité des metalloprotéinases matricielles, diminue l'expression des TIMP mais aussi celle des cytokines pro-fibrogéniques telles que CTGF et TGF- β 1, sans doute via la modulation de l'inflammation radio-induite et ce par rapport à un sujet non irradié.

Les inventeurs proposent l'explication suivante aux effets de l'utilisation du Dasatinib selon l'invention : l'exposition à une irradiation provoque l'activation d'une voie de signalisation impliquant une glycoprotéine, la PrP^c, protéine du prion, qui dans sa forme altérée est responsable des encéphalopathies spongiformes. Les inventeurs ont préalablement montré que cette protéine essentiellement membranaire intervient dans la prolifération cellulaire et l'apoptose et qu'elle joue un rôle clef dans l'homéostasie tissulaire, plus spécifiquement dans le renouvellement de l'épithélium intestinal [Morel, E., S. Fouquet, et al. (2004). "The cellular prion protein PrP^c is expressed in human enterocytes in cell-cell junctional domains." J Biol Chem 279(2): 1499-1505 ; Morel, E., S. Fouquet, et al. (2008). "The cellular prion protein PrP(c) is involved in the proliferation of epithelial cells and in the distribution of junction-associated proteins." PLoS One 3(8): e3000]. Elle intervient de ce fait dans la régulation de la fonction de barrière qu'est l'épithélium intestinal. L'irradiation d'un sujet a pour conséquence d'augmenter la concentration nucléaire de la PrP^c, probablement par néosynthèse, ce qui a pour conséquence de modifier l'homéostasie de l'épithélium intestinal. Les inventeurs ont montré dans des expériences complémentaires sur des souris KO pour le gène codant pour la PrP^c que l'inhibition de l'expression de la PrP^c chez un sujet irradié a pour conséquence de favoriser la prolifération et le renouvellement cellulaire, d'augmenter l'épaisseur de l'épithélium intestinal, de préserver son imperméabilité et d'augmenter la survie du sujet par rapport à des sujets irradiés exprimant la PrP^c.

Par ailleurs, il a été montré que la PrP^c interagissait avec des tyrosines kinases de la famille SRC et que l'expression des SRC était induite par une irradiation [Kharbanda, S., Z. M. Yuan, et al. (1994). "Activa-

tion of Src-like p56/p53lyn tyrosine kinase by ionizing radiation." J Biol Chem 269(32): 20739-20743. Dittmann, K., C. Mayer, et al. (2009). "Radiation-induced lipid peroxidation activates src kinase and triggers nuclear EGFR transport." Radiother Oncol 92(3): 379-382].

L'utilisation du Dasatinib conformément à l'invention permet probablement d'inhiber la voie de signalisation impliquant la PrP^c via l'inhibition de la tyrosine kinase Src et de reproduire les effets obtenus chez les souris KO n'exprimant pas la PrP^c. Il est connu que le Dasatinib agit comme inhibiteur des tyrosines kinases de la famille Src à des concentrations subnanomolaires de l'ordre de 0,6 à 0,8 nM.

De manière évidente, l'homme du métier saura adapter le conditionnement et le dosage du Dasatinib au sujet à traiter. A titre d'exemple les posologies actuellement recommandées et pouvant être utilisées dans le cadre de la présente invention sont de 100 mg à 140 mg par jour pour un être humain adulte.

Le Dasatinib est actuellement commercialisé sous forme de comprimé pelliculé administré oralement. Dans le cadre de l'invention, le Dasatinib peut être administré par voie orale mais aussi par toute autre voie connue de l'homme du métier, comme par exemple par injection. L'homme du métier sera à même d'adapter la durée du traitement, les doses et la façon de les administrer au sujet traité et selon qu'il s'agit d'un traitement préventif ou d'un traitement curatif.

Les exemples ci-après permettent d'illustrer les effets du Dasatinib utilisé selon la présente invention.

EXEMPLES

Exemple 1 : Effet de l'utilisation du Datasinib pour le traitement des entéropathies.

Les analyses sont réalisées sur des souris adultes d'environ 30 g élevées en conditions normales de labora-

toire avec un accès libre à la nourriture et à l'eau.

Les doses d'irradiation appliquées sont de 8 Gy à raison de 0,62 Gy / min (Phillips, 250 MeV, 0,2-mm filtre Cu). Le Dasatinib est dilué dans du DMSO à 10% et administré per os avec une dose quotidienne de 1mg/kg, dès 2 jours avant l'irradiation. 2 jours et 4 jours après irradiation, la perméabilité intestinale est évaluée, des mesures morphométriques de l'intestin sont réalisées. La lipopolysascharidémie est déterminée 4 jours après irradiation.

1.1 Effet du Dasatinib sur l'épaisseur de la muqueuse intestinale

La figure 1 montre qu'une administration quotidienne per os à raison de 1mg/kg/jour de Dasatinib augmente l'épaisseur de la muqueuse intestinale. L'utilisation du traitement par le Dasatinib conformément à l'invention augmente l'épaisseur de la muqueuse intestinale. A D0 (c'est-à-dire avant irradiation), l'épaisseur de la muqueuse intestinale est de 289 µm pour les souris ayant reçu du Dasatinib contre 268 µm pour les souris témoins (non traitées). A D2 (c'est-à-dire 2 jours après irradiation), l'épaisseur de la muqueuse intestinale est de 300 µm pour les souris traitées au Dasatinib et 258 µm pour les souris témoins (non traitées au Dasatinib). A D4 (c'est-à-dire 4 jours après irradiation), l'épaisseur de la muqueuse intestinale est de 314 µm pour les souris traitées au Dasatinib et 253 µm pour les souris témoins (non traitées).

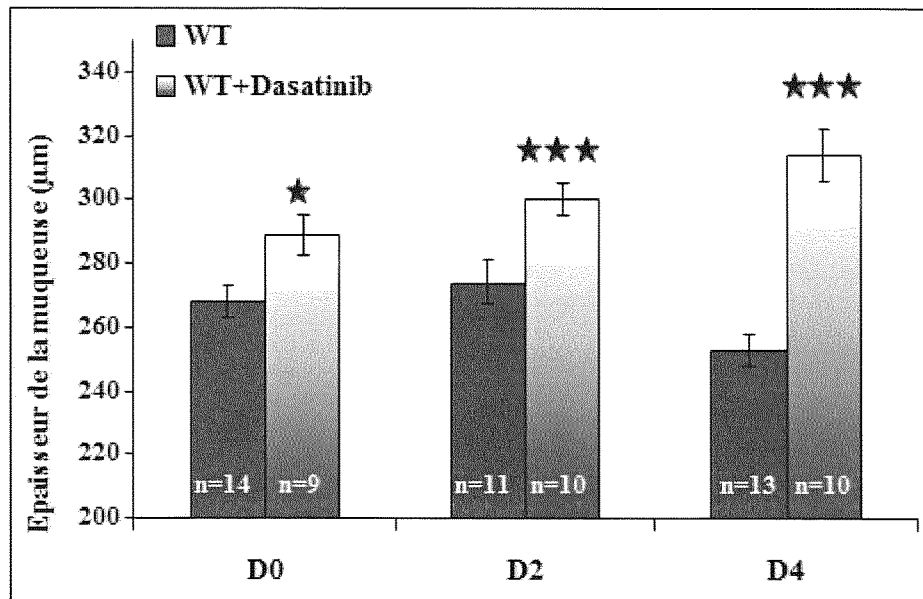


Figure 1 : Effet de l'administration du Dasatinib sur l'épaisseur de la muqueuse intestinale irradiée de souris

5

1.2 Effet du Dasatinib sur la perméabilité de l'intestin après exposition aux irradiations

La figure 2 montre que l'utilisation du Dasatinib conformément à l'invention réduit l'hyperperméabilité radio-induite de l'intestin des souris irradiées traitées par le Dasatinib (WT + Dasatinib en gris) par rapport aux souris irradiées non traitées (WT en noir). L'hyperperméabilité est mesurée en quantifiant le passage dans le sang, d'un traceur fluorescent (FD-4) auquel la barrière intestinale est imperméable dans les conditions physiologiques normales.

15

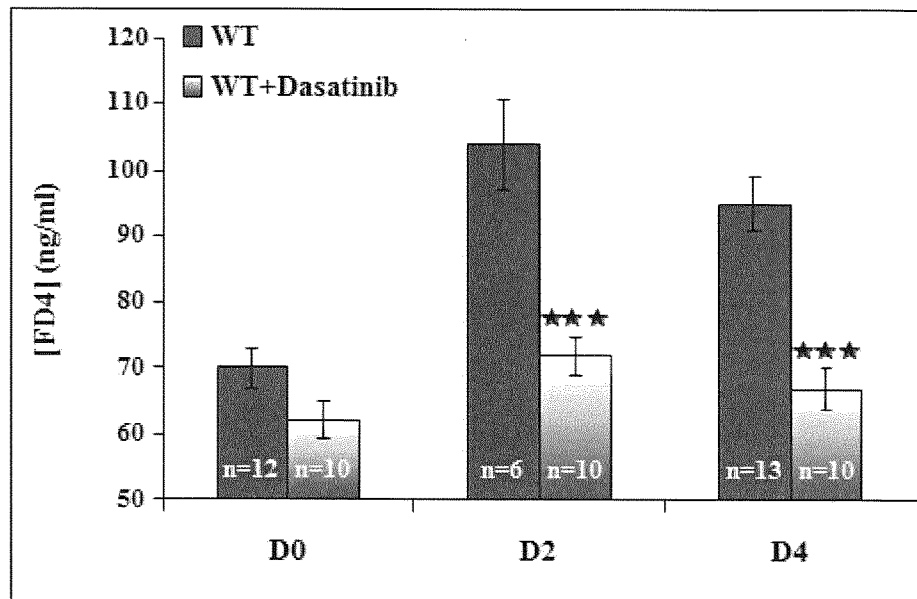


Figure 2 : Effet de l'administration du Dasatinib sur l'hyperperméabilité intestinale radio-induite.

1.3 Effet du Dasatinib sur la lipopolysaccharidémie.

La fonctionnalité de la barrière intestinale peut être évaluée en mesurant la lipopolysaccharidémie (taux de lipopolysaccharide bactérien dans le sang). Le taux de LPS a ici été déterminé dans un échantillon de plasma sanguin à l'aide du kit d'analyse « Limulus Amebocyte Ly-

sate chromogenic endpoint » (réf HIT302, Hycult Biotech, CliniSciences, Nanterre, France) utilisé conformément aux recommandations du fabricant.

La figure 3 montre que l'utilisation du Dasatinib conformément à l'invention réduit de façon drastique la concentration de LPS dans le plasma sanguin chez les souris irradiées traitées au Dasatinib (Wt + Dasatinib en gris) par rapport aux souris irradiées non traitées (Wt en noir) que ce soit avant irradiation (D0) ou 4 jours après (D4) .

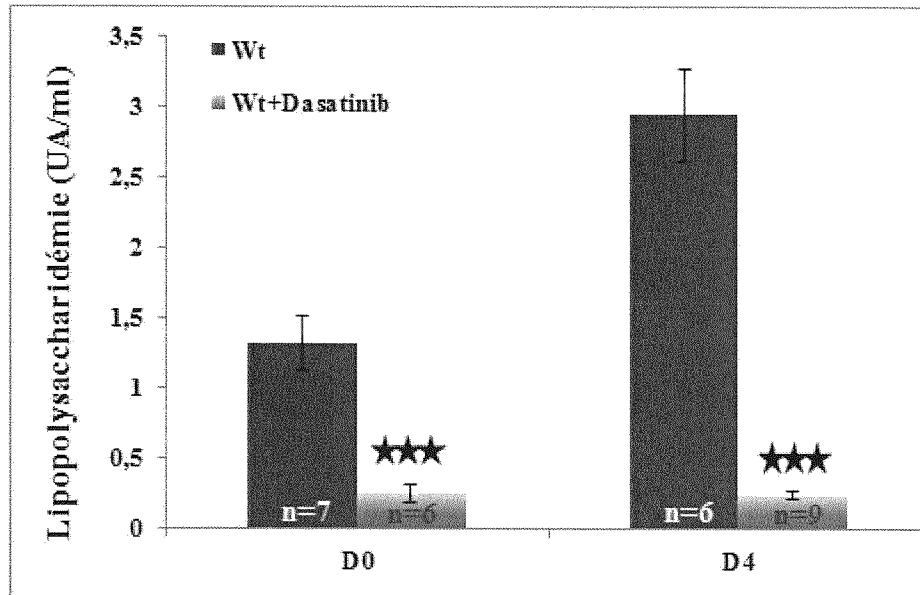


Figure 3 : Effet de l'administration du Dasatinib sur la lipopolysaccharidémie radio-induite.

5

1.4 Effet du Dasatinib sur la perte de poids.

Les souris irradiées traitées au Dasatinib (Wt + Dasatinib - trait plein) et les souris irradiées non traitées (Wt - trait pointillé) sont pesées quotidiennement.

10

La figure 4 montre que 4 jours après irradiation (D4) la perte de poids des souris irradiées traitées au Dasatinib est minime (perte de 8% par rapport à leur poids initial) par rapport aux souris irradiées non traitées qui accusent une perte de poids de près de 15 % par rapport à leur poids initial.

15

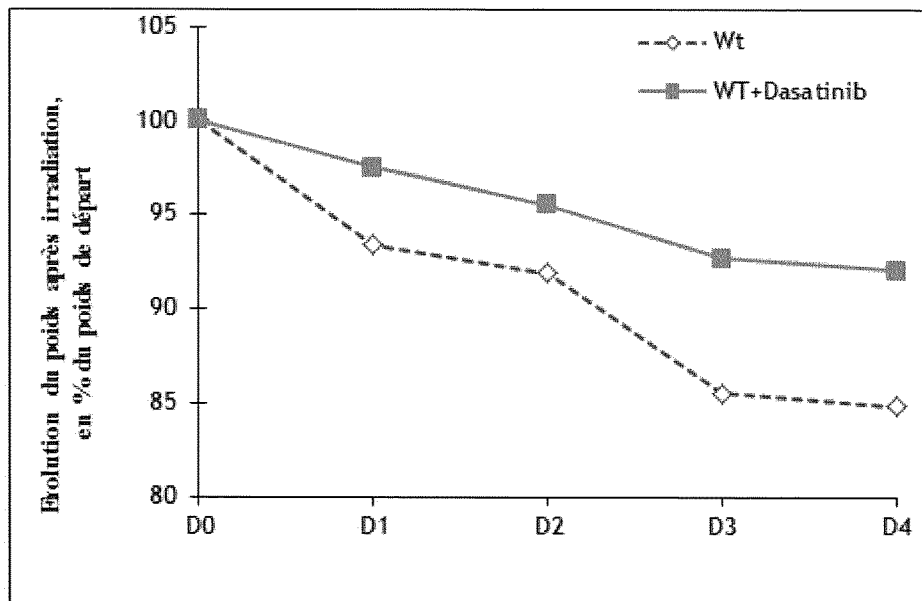


Figure 4 : Effet de l'administration du Dasatinib sur l'évolution du poids après irradiation.

5 Exemple 2 - Effet de l'utilisation du Dasatinib pour le traitement des fibroses.

Selon Sandler et al. [Sandler, N. G. (2003) Global gene expression profiles during acute pathogen-induced pulmonary inflammation reveal divergent roles of Th1 and Th2 responses in tissues repair. J. Immunol 171(7) :3655-67], la mise en place et le développement d'une fibrose est la résultante nette de l'équilibre dynamique existant entre la production des protéines matricielles (notamment les collagènes), des enzymes de dégradation de la matrice (MMP) et de leurs inhibiteurs tissulaires (TIMP). Fort de ces résultats, Sandler a mis au point un indice prenant en compte ces trois éléments. L'indice ayant pour valeur 1 est l'indice de référence, lorsque l'indice est inférieur à 1, l'équilibre est déplacé vers une dégradation du matériel matriciel (fibrolyse), si l'indice est supérieur à 1, l'équilibre est déplacé vers une accumulation de matériel matriciel (fibrogénèse). L'indice de réf-

rence 1 est affecté aux mesures obtenues pour les souris n'ayant subi aucune irradiation ni aucun traitement (groupe contrôle).

Les analyses sont réalisées sur des souris adultes d'environ 30g élevées en conditions normales de laboratoire avec un accès libre à la nourriture et à l'eau.

L'irradiation est faite sur une portion de l'intestin comme précédemment décrit par Milliat F et al. (Am J Pathol 2008). Ainsi, les souris sont anesthésiées et une anse intestinale de 3 cm de longueur est externalisée et exposée à une seule dose de rayons γ pour les souris irradiées. Après exposition aux rayonnements ionisants (ou non pour les souris témoins), l'anse intestinale est réinsérée dans la cavité abdominale qui est ensuite suturée.

La dose d'irradiation appliquée est de 19Gy.

Le Dasatinib est dilué dans du DMSO à 10% et administré à l'aide d'une mini-pompe osmotique (Alzet implantée sous la peau qui délivre une dose de 1,0 μ L par heure pendant 7 jours ou 0,15 μ L par heure pendant 42 jours).

Les effets du Dasatinib sont mesurés à un stade précoce, 3 et 7 jours (stade aigu) après irradiation et également à un stade tardif 42 jours (stade fibrose jeune - D42) ou 105 jours (stade fibrose avancée - D105) après irradiation avec soit un traitement préventif court au Dasatinib du jour de l'irradiation au 7^{ème} jour après irradiation (d0-d7), soit un traitement préventif long au Dasatinib du jour de l'irradiation au 42^{ème} ou 105^{ème} jour après irradiation (d0-d42, d0-d105), soit un traitement curatif long au Dasatinib du 42^{ème} jour au 105^{ème} jour après irradiation (d42-d105).

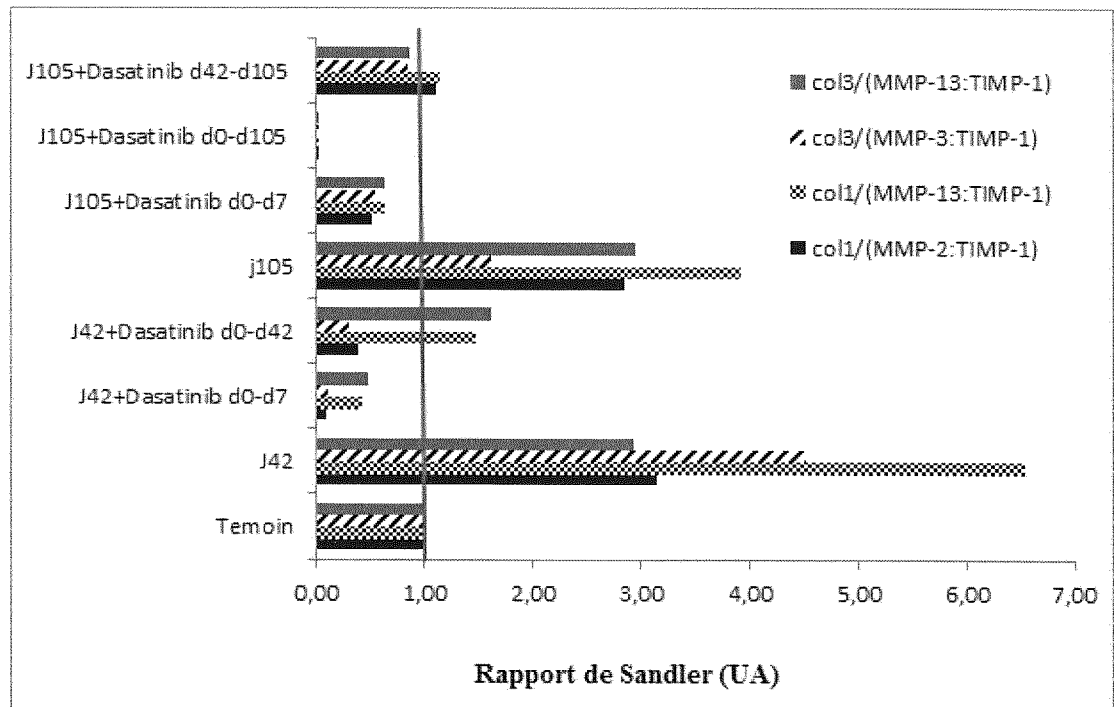


Figure 5 : Effets de l'administration du Dasatinib sur le processus fibrotique, donné par la représentation dite de Sandler.

A la lecture de la figure 5, on constate que le groupe de souris témoins (souris dont une anse intestinale est irradiée) le jour de l'irradiation présente un indice de 1 (barres « témoin »).

42 jours après irradiation, les souris n'ayant reçu aucun traitement (barres D42) présentent un indice très élevé compris entre 3,5 et 6,5 démontrant que le processus fibrogénique est en cours.

105 jours après irradiation, les souris n'ayant reçu aucun traitement (barres D 105) présentent un indice élevé compris entre 1,8 et 4,2 démontrant que le processus fibrogénique se poursuit même s'il se ralentit puisque la fibrose est installée.

Le traitement au Dasatinib (barres indiquant le

nombre de jours après irradiation (D42 ou D105) + Dasat précisant la période de traitement (d0-d7 ; d0-d42 ; d0-d105 ; d42-d105) qu'il soit préventif court, préventif long ou curatif permet d'obtenir un indice inférieur à 1 et de passer d'un processus fibrogénique à un processus fibrolytique. Il est ainsi clairement démontré que le Dasatinib permet d'empêcher, limiter, réduire ou réduire drastiquement la formation de fibrose développée suite à l'irradiation. Les traitements préventifs quel que soit leur durée sont très efficaces. Le traitement curatif long, même si l'efficacité semble moindre que les traitements préventifs, montre quand même un effet significatif sur la fibrose permettant de passer d'un processus fibrogénique (D42, D105) à un processus fibrolytique (D105+Dasat d42-d105).

Le tableau 1 ci-dessous présente les résultats des analyses histochimiques d'une section longitudinale de l'intestin colorée au PicroSirius (Llewellyn méthode modifiée de 1970) et examinée en microscopie photonique (microscope Zeiss Axiophot muni d'une caméra couleurs JVC KY-F75U). Les mesures d'accumulation des composés de la matrice extra-cellulaire sont réalisées à l'aide d'un logiciel d'analyse d'images (Histolab, Instruments Microvision, Evry, France). En outre, l'expression des métalloprotéinases matricielles (MMP) et leurs inhibiteurs (TIMP) est également mesurée de manière standard par isolement de leur ARN, reverse transcription et PCR en temps réel.

Le tableau 1 ci-dessous résume l'ensemble de ces résultats. Il apparaît clairement que le traitement par le Dasatinib diminue le dépôt net de collagènes après l'irradiation en diminuant l'expression des gènes impliqués dans la synthèse desdits collagènes, en favorisant l'activité de la MMP-2 et l'expression des gènes codant pour la MMP-7, en inhibant l'expression de TIMP-1 (forte-

ment augmentée par l'irradiation) et en réduisant fortement l'expression des cytokines pro-fibrogéniques telles que CTGF et TGF- β 1.

	Témoin	Irradié		Irradié + Dasatinib d0-d7		Irradié + Dasatinib d0-d42	
Picro Sirius (analyse densitométrique: UA/mm²)	0,098±0,013	0,236±0,014	<0,001	0,160±0,002	<0,001	0,170±0,005	0,003
Colla ARNm	1±0,20	8,05±2,59	0,008	0,62±0,14	0,017	0,64±0,15	0,01
Col3a ARNm	1±0,25	3,57±0,90	0,017	0,70±0,21	0,015	0,70±0,21	0,006
Colla/Col3a ARNm	1	2,25		0,89		0,91	
MMP-2 ARNm	1±0,19	3,20±1,21	0,094	1,27±0,35	0,206	0,96±0,31	0,116
Activité MMP-2 (analyse zymographique : 10⁶AU/mm²)	3,323±0,192	2,484±0,128	0,007	5,026±0,170	<0,001	2,968±0,121	0,023
MMP-9 ARNm	1±0,26	1,14±0,20	0,62	0,62±0,20	0,111	0,14±0,08	0,001
MMP-7 ARNm	1±0,46	0,72±0,17	0,579	18,13±3,46	<0,001	14,21±3,38	0,003
TIMP-1 ARNm	1±0,25	2,27±0,58	0,072	0,17±0,07	0,001	0,58±0,24	0,009
TIMP-1 (pg/ml)	690±47	813±31	0,181	524±26	<0,001	517±54	0,001
CTGF ARNm	1±0,25	20,12±2,32	<0,001	2,02±0,39	<0,001	4,99±0,82	<0,001
TGF- β ARNm	1±0,37	6,61±0,81	<0,001	0,30±0,13	<0,001	0,07±0,03	<0,001

5

Tableau 1 : Effets de l'administration du Dasatinib sur le processus fibrotique radio-induit : accumulation de matériel matriciel, production, dégradation par les MMP-TIMP, facteurs pro-fibrogeniques. Les valeurs indiquées sont la moyenne $\pm$ sem. Le degré de significativité (p) est indiqué pour la comparaison des groupes « irradié versus témoin » et « irradié traité versus irradié ».

Bien entendu, l'invention n'est pas limitée au mode de réalisation et aux exemples décrits mais englobe toute variante entrant dans le cadre de l'invention telle que définie par les revendications.

15

REVENDICATIONS

1. Utilisation de Dasatinib dans la préparation d'un médicament pour le traitement d'un mammifère exposé à une irradiation pour empêcher, limiter, réduire et/ou
5 supprimer le syndrome gastro-intestinal.

2. Utilisation de Dasatinib dans la préparation d'un médicament pour le traitement d'un mammifère exposé à une irradiation selon la revendication 1 pour empêcher, limiter, réduire et/ou supprimer le développement
10 d'entéropathies radio-induites et des symptômes associés.

3. Utilisation selon la revendication 2, dans laquelle les entéropathies traitées sont des entéropathies aiguës.

4. Utilisation selon la revendication 3, dans laquelle les entéropathies aiguës sont liées à une atteinte
15 de l'intégrité de l'épithélium intestinal.

5. Utilisation selon la revendication 2, dans laquelle les entéropathies traitées sont des entéropathies chroniques.

20 6. Utilisation selon la revendication 5, dans laquelle l'entéropathie chronique est une fibrose.

7. Utilisation selon les revendications 2 à 6 dans laquelle le traitement comprend le maintien de l'intégrité de l'épithélium intestinal du mammifère irra-
25 dié.

8. Utilisation selon les revendications 2 à 6 dans laquelle le traitement comprend la restauration de l'intégrité de l'épithélium intestinal du mammifère irra-
dié.

30 9. Utilisation selon les revendications 2 à 6 dans laquelle le traitement diminue l'hyperperméabilité de l'épithélium intestinal du mammifère irradié.

10. Utilisation selon les revendications 1, 2, 5 ou 6, dans laquelle le traitement comprend la diminution de
35 l'accumulation de composants matriciels.

11. Utilisation selon les revendications 1, 2, 5 ou 6, dans laquelle le traitement comprend la diminution de l'expression des collagènes.

12. Utilisation selon les revendications 1 à 8, dans laquelle le mammifère est un humain.

10

15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/053588

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/506 A61P1/04 A61P39/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SAAD HAMAMA ET AL: "Therapeutic management of intestinal fibrosis induced by radiation therapy: from molecular profiling to new intervention strategies et vice et versa", FIBROGENESIS & TISSUE REPAIR, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 5, no. Suppl 1, 6 June 2012 (2012-06-06), page S13, XP021096007, ISSN: 1755-1536, DOI: 10.1186/1755-1536-5-S1-S13 Stratégies pour traiter la fibrose induite par une radiothérapie: voir abregé la référence aux inhibiteurs de la tyrosine kinase et à l'imatinib à la page 3 ----- -/--	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 April 2016

Date of mailing of the international search report

22/04/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Veronese, Andrea

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/053588

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WIE STEN M ET AL: "Inhibiting tyrosine phosphorylation of protein kinase C[delta] (PKC[delta]) protects the salivary gland from radiation damage.", THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 11 APR 2014, vol. 289, no. 15, 11 April 2014 (2014-04-11), pages 10900-10908, XP002740489, ISSN: 1083-351X Desatinib et autres inhibiteurs de la tyrosine kinase, pour protéger la muqueuse orale et les glandes salivaires des dommages induits par une radiothérapie: voir résumé, figures 3, 4, la discussion et les conclusions à la page 10907 -----	1-12
Y	HORTON JASON A ET AL: "Inhibition of radiation-induced skin fibrosis with imatinib.", INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION BIOLOGY MAR 2013, vol. 89, no. 3, March 2013 (2013-03), pages 162-170, XP009184618, ISSN: 1362-3095 L'imatinib, un autre inhibiteur de la tyrosine kinase réduit la fibrose de la peau induite par une irradiation -----	1-12
Y	SULLIVAN JULIE M ET AL: "p21 protects "Super p53" mice from the radiation-induced gastrointestinal syndrome.", RADIATION RESEARCH MAR 2012, vol. 177, no. 3, March 2012 (2012-03), pages 307-310, XP009184610, ISSN: 1938-5404 L'inhibition de la kinase p21 protège des la syndrome gastro-intestinal -----	1-12
A	KIRSCH DAVID G ET AL: "p53 controls radiation-induced gastrointestinal syndrome in mice independent of apoptosis.", SCIENCE (NEW YORK, N.Y.) 29 JAN 2010, vol. 327, no. 5965, 29 January 2010 (2010-01-29), pages 593-596, XP002740490, ISSN: 1095-9203 the whole document -----	1-12

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2016/053588

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. A61K31/506 A61P1/04 A61P39/00 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) A61K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	SAAD HAMAMA ET AL: "Therapeutic management of intestinal fibrosis induced by radiation therapy: from molecular profiling to new intervention strategies et vice et versa", FIBROGENESIS & TISSUE REPAIR, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 5, no. Suppl 1, 6 juin 2012 (2012-06-06), page S13, XP021096007, ISSN: 1755-1536, DOI: 10.1186/1755-1536-5-S1-S13 Stratégies pour traiter la fibrose induite par une radiothérapie: voir abregé la référence aux inhibiteurs de la tyrosine kinase et à l'imatinib à la page 3 ----- -/-	1-12
☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents ☐ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "&" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
14 avril 2016	22/04/2016	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale		Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Veronese, Andrea

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WIE STEN M ET AL: "Inhibiting tyrosine phosphorylation of protein kinase C[delta] (PKC[delta]) protects the salivary gland from radiation damage.", THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 11 APR 2014, vol. 289, no. 15, 11 avril 2014 (2014-04-11), pages 10900-10908, XP002740489, ISSN: 1083-351X Desatinib et autres inhibiteurs de la tyrosine kinase, pour protéger la muqueuse orale et les glandes salivaires des dommages induits par une radiothérapie: voir résumé, figures 3, 4, la discussion et les conclusions à la page 10907 -----	1-12
Y	HORTON JASON A ET AL: "Inhibition of radiation-induced skin fibrosis with imatinib.", INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION BIOLOGY MAR 2013, vol. 89, no. 3, mars 2013 (2013-03), pages 162-170, XP009184618, ISSN: 1362-3095 L'imatinib, un autre inhibiteur de la tyrosine kinase réduit la fibrose de la peau induite par une irradiation -----	1-12
Y	SULLIVAN JULIE M ET AL: "p21 protects "Super p53" mice from the radiation-induced gastrointestinal syndrome.", RADIATION RESEARCH MAR 2012, vol. 177, no. 3, mars 2012 (2012-03), pages 307-310, XP009184610, ISSN: 1938-5404 L'inhibition de la kinase p21 protège des la syndrome gastro-intestinal -----	1-12
A	KIRSCH DAVID G ET AL: "p53 controls radiation-induced gastrointestinal syndrome in mice independent of apoptosis.", SCIENCE (NEW YORK, N.Y.) 29 JAN 2010, vol. 327, no. 5965, 29 janvier 2010 (2010-01-29), pages 593-596, XP002740490, ISSN: 1095-9203 le document en entier -----	1-12